



**HAL**  
open science

# Plasticité fonctionnelle des cellules NK induite par les facteurs cytokiniques : les rôles contrastés des Interleukines IL-33 et IL-35

Valentin Picant

► **To cite this version:**

Valentin Picant. Plasticité fonctionnelle des cellules NK induite par les facteurs cytokiniques : les rôles contrastés des Interleukines IL-33 et IL-35. Cancer. Université Claude Bernard - Lyon I, 2023. Français. NNT : 2023LYO10175 . tel-04702408

**HAL Id: tel-04702408**

**<https://theses.hal.science/tel-04702408v1>**

Submitted on 19 Sep 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE de DOCTORAT DE  
L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

**Ecole Doctorale N° 340  
Biologie Moléculaire Intégrative et Cellulaire**

**Discipline** : Immuno-Oncologie

Soutenue publiquement le 06/10/2023, par :  
**Valentin Picant**

---

**Plasticité fonctionnelle des cellules NK induite  
par les facteurs cytokiniques : les rôles  
contrastés des Interleukines IL-33 et IL-35**

---

Devant le jury composé de :

Saintigny Pierre	PU-PH, CRCL, Lyon	Président, Examineur
Caignard Anne	DR, IRSL, Paris	Rapporteuse
Golub Rachel	PR, Institut Pasteur, Paris	Rapporteuse
Guittard Geoffrey	CR, CRCM, Marseille	Examineur
Marabelle Aurélien	PU-PH, IGR, Paris	Examineur
Martinet Ludovic	DR, CRCT, Toulouse	Examineur
Bendriss-Vermare Nathalie	CR, CRCL, Lyon	Directrice de thèse

# Liste des publications

## Travaux principaux

**Valentin Picant**, Lara Revol-Bauz, Aurélien Voissière, Yamila Rocca, Dominique Pujol, Anaïs Eberhardt, Christophe Caux, Nathalie Bendriss-Vermare. **IL-33 activates NK cells in a context- and subset-dependent manner in health and tumors.** *Soumission prévue pour Décembre 2023.*

**Valentin Picant**, Lara Revol-Bauz, Laurie Tonon, Dominique Pujol, Emilie Picard, Céline Rodriguez, Cyril Degletagne, Christophe Caux, Nathalie Bendriss-Vermare. **Interleukin-35 impairs human NK cell effector functions by inducing an ILC1-like conversion.** *Soumission prévue pour Octobre 2023.*

## Autres contributions

Anaïs Eberhardt, **Valentin Picant**, Elena Blanc, Vincent Alcazer, Yamila Rocca, Maude Ardin, Aurélien Voissière, Fanny Onodi, Céline Rodriguez, Laurie Tonon, Benjamin Estavoyer, Lyvia Moudombi, Emily Charrier, Xi Wang, Ana Stojanovic, Tilman Rau, Olivier Tredan, Isabelle Treilleux, Marie-Cécile Michallet, Jenny Valladeau-Guilemond, Antoine Marçais, Thierry Walzer, Philippe Krebs, Adelheid Cerwenka, Margaux Hubert, Christophe Caux, Nathalie Bendriss-Vermare. **IL-33 drives polyfunctionality and antitumor activity of a unique ST2+ NK cell population.** *En révision favorable, Science Immunology.*

Irina Veith, Arianna Mencattini, **Valentin Picant**, Marco Serra, Marine Leclerc, Maria Colomba Comes, Fathia Mami-Chouaib, Jacques Camonis, Stéphanie Descroix, Hamasseh Shirvani, Fatima Mechta-Grigoriou, Gérard Zalcman, Maria Carla Parrini, Eugenio Martinelli. **Apoptosis mapping in space and time of 3D tumor ecosystems reveals transmissibility of cytotoxic cancer death.** *PLoS Comput Biol, 2021.*

Solenn Brosseau, Paula Abreu, Clémentine Bouchez, Lucie Charon, Yann Kieffer, Géraldine Gentric, **Valentin Picant**, Irina Veith, Jacques Camonis, Stéphanie Descroix, Fatima Mechta-Grigoriou, Maria Carla Parrini, Gerard Zalcman. **YAP/TEAD involvement in resistance to paclitaxel chemotherapy in lung cancer.** *Soumis, BMC biology.*

# Résumé

L'ensemble des caractéristiques des cellules Natural Killer (NK) est grandement régulé par les cytokines. Bien que les cellules NK aient été décrites comme des actrices clés de la surveillance des cancers via leurs habilités à tuer directement les cellules dangereuses et leur rôle de soutien envers d'autres populations immunitaires, ces cellules deviennent progressivement dysfonctionnelles au sein des tumeurs. Par conséquent, comprendre les mécanismes à l'origine de ces altérations et identifier les facteurs susceptibles de rétablir leurs aptitudes fonctionnelles sont deux stratégies prometteuses pour le développement de futures immunothérapies. Dans ce contexte, nous avons identifié la cytokine immunosuppressive Interleukine-35 (IL-35) et l'alarmine pro-inflammatoire IL-33 comme des régulateurs importants des deux processus biologiques mentionnés ci-dessus, respectivement.

Premièrement, nous avons démontré pour la première fois la contribution de l'IL-35 dans la perte des fonctions effectrices des NK humaines. Des expériences fonctionnelles et des analyses bioinformatiques ont révélé que cette cytokine altère profondément l'activation, la prolifération, les sécrétions de cytokines et la cytotoxicité des NK, tout en favorisant l'acquisition concomitante de fonctions pro-angiogéniques et immunosuppressives. Des approches d'immunophénotypage couplées à des analyses bioinformatiques ont permis de décrire une conversion des NK exposées à l'IL-35 en cellules ILC1-like tolérogènes présentant des fonctions d'immunosurveillance réduites.

Deuxièmement, des approches fonctionnelles et de profilage transcriptomique nous ont permis de mettre en évidence la capacité de l'IL-33 à augmenter significativement les fonctions antitumorales des NK lorsque combinée avec l'IL-12 ou l'IL-15, avec des différences fonctionnelles en fonction du combo cytokinique ou de la sous-population NK considérée. De façon intéressante, nous avons identifié l'induction de l'IL-33R sur les NK comme une nouvelle caractéristique du dialogue entre NK et cellules dendritiques conventionnelles (cDC). À l'aide de modèles tumoraux *in vivo*, nous avons décrit un rôle synergique entre l'IL-33 et des agonistes de TLR activant les DC pour limiter le développement de la tumeur, de façon dépendante aux NK. Nous avons observé une croissance tumorale plus élevée et une diminution des effets thérapeutiques décrit ci-dessus au sein d'un modèle *il33KO*, soulignant le rôle de l'IL-33 dans l'immunosurveillance anti-cancéreuse. Enfin, nous avons validé que l'IL-33 active fortement les NK isolées de tumeurs de patients.

Nos travaux identifient ainsi d'une part l'IL-35 comme un inducteur majeur de la perte de fonction antitumorale des NK, notamment par sa capacité à les convertir en cellules tolérogènes ILC1-like et d'autre part l'IL-33 comme un facteur qui pourrait être utilisé pour inverser le dysfonctionnement des NK intratumorales, suggérant le potentiel de ces deux molécules pour le développement de futures approches thérapeutiques.

# Abstract

Natural Killer (NK) cell development, survival, activation and functions are highly regulated by cytokine signals. While NK cells have been described as key players in cancer surveillance by directly killing dangerous cells and supporting antitumor functions of other immune cells, those cells get progressively dysfunctional in chronic diseases such as cancer or infections. Therefore, understanding the mechanisms driving these alterations and identifying factors that might reinvigorate their functional fitness appears to be two promising strategies to design future NK-centered immunotherapies. In that context, we identified the immunosuppressive cytokine Interleukin-35 (IL-35) and the pro-inflammatory alarmin IL-33 as important regulators of the two above mentioned biological processes, respectively.

First, we demonstrated for the first time the contribution of IL-35 in Human NK cell loss of effector functions. Functional experiments and bioinformatic analyses revealed that IL-35 exposures strikingly impair the activation, proliferation, cytokine secretion and cytotoxic ability of NK cells while promoting a concomitant acquisition of unexpected functions, such as the secretion of pro-angiogenic et immunosuppressive factors. While IL-35 had no impact on NK cell viability, we described its ability to convert NK into tolerogenic ILC1-like cells, with reduced immunosurveillance-related functions.

Second, we highlighted the ability of IL-33 to significantly increase antitumor functions of NK cells when combined with IL-12 or IL-15, although functional differences were observed depending of the cytokine combination or the NK cell subpopulation considered. Transcriptomic analysis further revealed that IL-33 effects are context- and NK cell subset-specific. Interestingly, we identified the induction of the IL-33R on NK cells as a new feature of the crosstalk between NK and conventional dendritic cells (cDC). Using *in vivo* tumor models, we reported that IL-33 synergizes with DC-activating TLR agonists in a NK-dependent manner to limit tumor development. Finally, we observed a higher tumor growth rate and a decreased antitumoral effects of TLR agonists in IL33KO mice, highlighting a role for IL-33 in cancer immune surveillance. Finally, we validated that IL-33 potently activates tumor-infiltrating NK cells isolated from cancer patients.

Our work identifies IL-35 as a major inductor of NK cell antitumor function loss, notably through its ability to convert them into tolerogenic ILC1-like cells while our results suggest that IL-33 might be used to reverse intratumor NK cell dysfunctionality, paving the way to a refinement of immunotherapies targeting innate cells.

# Remerciements

L'un des plus beaux aspects de cette aventure, au-delà même d'avoir eu l'opportunité de pouvoir nourrir quotidiennement ma curiosité et de me m'épanouir intellectuellement dans ce métier si passionnant, aura été l'immense chance de pouvoir rencontrer et travailler avec des personnes riches, intéressées, intéressantes, stimulées, stimulantes, du monde entier, qui m'ont tant appris et sans qui tout ça n'aurait jamais eu la même saveur. L'ensemble de ces remerciements ne pourront **jamais** retranscrire l'**immense gratitude**, aussi bien professionnelle que personnelle, que j'ai envers chacune des personnes avec qui j'ai eu la chance d'interagir au cours de ces 4 dernières années.

**Aux membres de mon jury de thèse et de mon comité de suivi de thèse.** J'adresse mes plus sincères remerciements aux membres de mon jury de thèse pour avoir accepté avec enthousiasme d'évaluer mon travail de doctorat. Mes rapportrices, **Dr Anne Caignard** et **Pr Rachel Golub**, pour leur intérêt, leur temps, leur retours constructifs et bienveillants ainsi que mes trois examinateurs le **Pr Aurélien Marabelle**, le **Dr Geoffrey Guittard** et tout particulièrement le **Dr Ludovic Martinet** qui aura suivi l'ensemble de mon parcours de doctorat en me conseillant avec bienveillance à chacun de mes comités de suivis de thèse. Enfin, je remercie chaleureusement le **Pr Pierre Saintigny** d'avoir accepté de présider ce jury. J'avoue avec excitation être impatient de pouvoir échanger avec vous tous en personne. Enfin, le **Dr Antoine Marçais**, membre immuable de mes comités de suivis de thèse, et que j'aurais continué à inviter s'il avait fallu en faire d'autre. Je te remercie pour ta participation à mes trois comités de suivis de thèse et de manière générale pour l'ensemble des interactions que nous avons pu avoir, véritables sources d'inspiration. Merci pour tes commentaires et conseils, toujours pertinents et enrobés d'une bienveillance naturelle.

**A mon chef de laboratoire Dr Christophe Caux et à ma directrice de thèse, Dr Nathalie Bendriss-Vermare.** Les mots me manquent pour vous exprimer ma gratitude. Je vous remercie tous les deux pour la confiance, le temps et le soutien que vous m'avez accordé au cours de ces 4 années, à tous les niveaux, de mon arrivée à Lyon pour le concours BMIC jusqu'aujourd'hui, quasi-fin de cette aventure. Merci à vous deux de m'avoir aidé à devenir un meilleur scientifique jour après jour, d'avoir su, chacun à votre façon, me passionner sur tant de sujets, et de m'avoir accordé une liberté rare dans la façon dont je souhaitais orienter (IL-33), voire même créer (IL-35), mes projets de recherches. **Christophe**, ton intégrité, ta passion, tes connaissances et ton dévouement à la Science et à ton équipe me fascinent. Merci pour le temps et l'énergie que tu dédies, bien volontiers, à ton équipe et aux projets de chacun. La porte de ton bureau m'a toujours été ouverte, et je te remercie encore pour avoir pris le temps de m'écouter et de me conseiller. Tout ça démontre qu'au-delà du scientifique hors du commun, tu fais preuve de qualités humaines exceptionnelles. **Nathalie**, tout a commencé sur une préparation des plus sportives pour le concours BMIC et se termine sur un effort tout aussi intense, si ce n'est plus, aussi bien pour moi que pour toi avec ce concours, que je suis sûr tu réussiras. Ta force de caractère et de travail mélangé à ton souhait de voir les gens s'épanouir dans ce qu'ils font m'ont toujours impressionné. Je te remercie toi aussi pour tes nombreuses qualités humaines ainsi que pour ta présence, ton implication et ta disponibilité aux différentes étapes, épreuves, bons et moins bons moments de ces 4 années, et je te souhaite le meilleur pour les grands et beaux challenges à venir : DR et CISTAR 2.0.

**A l'ensemble de mes caux-llègues.** Ici encore, les mots et le temps me manquent pour vous signifier l'immense gratitude, admiration et amitié que je vous porte. Chacun d'entre vous, à sa façon, permet à cette belle équipe d'être ce qu'elle est : un endroit où j'ai été heureux d'aller travailler chaque matin.

Premièrement, je remercie **l'ensemble des chefs de groupes**, vous aussi tout aussi différents et complémentaires. **Jenny**, ton énergie et cette capacité à entretenir ce parfait mélange entre humour et excellence scientifique. Avant même BMIC je t'étais déjà reconnaissant : merci de m'avoir sortie de la rue la veille du concours, et de m'avoir laissé faire des allers-retours dans ton jardin en répétant ma présentation ! Je te souhaite le meilleur pour les aventures qui t'attendent au cheney A ! **Marie-Cécile**, mais quel personnage ! Avec ce genre de force de la nature les neutrophiles ne pourront que se hisser dans le top citation monde ! **Christine**, je mérite chaque jour notre chance de t'avoir dans l'équipe depuis ce fameux moment où nous avons failli te perdre à la retraite du CRCL ! merci d'avoir su supporter mes requêtes tardives et arrivées soudaines dans votre bureau avec Nathalie. **Bertrand**, ce partenaire de nettoyage de cuisine et surtout ce véritable sniper aux remarques précises, chirurgicales et constructives, cela aurait toujours été un plaisir d'échanger avec toi, de science mais pas que ! **Margaux**, ce joli groupe avait bien besoin d'un petit rajeunissement, hehe ! Plus sérieusement, merci pour ces jolis moments de franches rigolades dans l'open space, j'espère que ce nouveau rôle te permettra de t'épanouir du mieux possible !

Je tiens, **de façon évidente**, à remercier **l'ensemble des membres de mon sous-groupe** pour leur aide, leur temps, leurs conseils au quotidien. **Anaïs** pour m'avoir accueilli et initié aux mystères de l'IL-33. **Aurélien** pour ton expertise évidente, ta disponibilité et ton envie permanente de vouloir aider, mais aussi parce que tu as ce quelque chose qui fait que travailler avec toi est un plaisir. Merci vieux loup. **Dominique**, première partenaire de bureau, merci pour toute ton aide, soutien et ta gentillesse si plaisante. Alors, il était bon ce kiwi à la moutarde ? **Clelia**, pour ta bienveillance et ta capacité si singulière, et confortable, d'aller droit au but. **Alexia** et **Benoit**, nos fantastiques médecins avec qui j'aurais aimé pouvoir interagir plus. Je vous souhaite à tout deux le meilleur, pour cette thèse qui commence (et aussi de tomber malade un peu moins souvent) pour l'un et pour cette nouvelle aventure au Cheney A pour l'autre. **Yamila**, ce véritable rayon de soleil ! Très heureux d'avoir pu te rencontrer, ton départ aura laissé un vide impossible à combler ! J'espère que l'aventure en Allemagne avec ta petite famille se passe pour le mieux. **Emilie**, premier membre des « postdoxxx », juste un bonheur d'avoir pu croiser ta route. Merci à toi, pour ton aide bien évidemment, mais par-dessus tout pour ton soutien. Merci pour ta gentillesse, ta douceur et ta bienveillance naturelle et spontanée, j'espère un jour avoir un dixième de tes qualités. Tu fais partie de ces personnes avec qui il est naturellement plaisant d'être, sans effort. Je te dois toujours des bières by the way. Et enfin, last but not least, **Lara** « clette » la gentillesse et la bonté incarnée, même si t'es perchée. Merci pour tout ce que tu es, je suis très heureux d'avoir eu la chance de pouvoir travailler avec toi, et te voir passer de ce stagiaire un peu inquiet à un véritable partenaire professionnel et personnel, un binôme d'escalade, une amie. Je t'ai transmis -en toute modestie- l'ensemble de ce que je pouvais, mais merci à toi pour ce que tu m'as apporté. Je te passe officiellement le flambeau du doctorant senior du NBV groupe, et te souhaite tout ce qu'il y a de meilleur pour la suite.

**A l'ensemble de nos ITA**, des personnes géniales qui font un travail exceptionnel. **Céline**, ces mots me paraissent futiles tant ils sont évidents, merci pour ta disponibilité quotidienne qui permettent « tout simplement » au laboratoire d'avancer dans de bonnes conditions et dans la bonne humeur selon l'équation : Problème + Céline = 4 solutions + un bon moment. Tu es tout simplement fantastique. **Lyvia** pour toute ton implication, ton énergie débordante/inspirante et éévidemment pour cette capacité à maintenir l'ordre quant aux pots d'arrivée/de départ/de naissance/de mariage/de lundi/de mardi... Ouiii je sais je dois faire mes pots de prix. **Justine B**, qui rentre certainement en concurrence

avec Justine C pour la compétition de l'être humain le plus tendre et bienveillant. Merci pour ta disponibilité, et si c'était à refaire, j'aimerais avoir l'opportunité de plus travailler avec toi ! **Pauline**, pour cette profonde gentillesse/empathie et ce dévouement inspirant pour que les choses aillent dans le bon sens. **Anne-Claire**, pour faire face aux galères d'EFS et pour ton rôle pour assurer le bon fonctionnement du laboratoire. Les deux « nouvelles arrivées » **Cassandra** et **Bérénice**, que je n'ai malheureusement, par la force des choses, pas eu la chance de découvrir autant que je le souhaiterais mais qui apportent déjà tant à la dynamique de cette équipe grâce à leurs qualités évidentes ! Enfin la team P31/LICL **Axelle**, ce binôme de choc pour le pick-up, **Christine**, **Uzma** et **Mathilde**, toutes toujours prêtes et volontaires pour aider !

**A la belle brochette de beaux gosses** que j'aimerais passer des heures à remercier et couvrir de louanges, car vous êtes tous des personnes plus belles et riches les unes que les autres. Vous êtes tous de véritables sources d'inspiration, ne changez rien ! **Antoine** « Pepito » ta bienveillance et tes valeurs, tu fais partie de ces gens qui rendent le monde qui les entoure plus beau. **Gabriel** « la Gabance » pour ta vivacité d'esprit, ta profondeur, ta culture et ton humour, que j'admire, t'es grand mec. **Alexis** pour ta personnalité et ta curiosité avec qui j'aurai adoré pouvoir rire et parler science. Je suis intimement persuadé que tu iras loin. **Monsieur Laoubi**, de philosophe à scientifique aguerri, d'acteur à chef de projet, de clown à personne à l'écoute, ce mec sait tout faire. Merci pour tous ces moments. **Charlotte**, la star, juste le sourire aux lèvres à la seconde où je te vois et merci pour ça ! Les autres membres de la 316 **Julia**, toujours prête à rendre service, et **Justine**, la personne la plus tendre que je connaisse. Courage pour cette dernière année ! **Pierre** le deuxième « postdocxxx », j'éprouve un bonheur sincère à chacune de nos discussions, que ce soit pour parler de questions de fond, ou au contraire pour faire des blagues qui ne feront jamais avancer la société. **Baptiste**, un grand gaillard au cœur tendre et réflexions profondes. J'espère que tu arriveras à croire en toi comme j'y crois (BiiiPapapalapa !). **Leo H**, ce mec calme qui cache un côté sombre si délicieux (BiiiPapapalapa !). **Martial**, welcome on board captain! Tout le meilleur pour cette thèse qui débute. La relève est plus qu'assurée ! **Ryotaro** pour ta gentillesse, ta politesse et ton envie d'échanger et d'apprendre infinies. J'espère que ton séjour en France t'apportera autant que possible. **Clémentine** et **Estelle**, pour ces moments passés ensemble et que j'aurais aimé plus nombreux !

**A la triplète de doctorant millésime 2019.** **Manuela** ensemble du début, à la fin ! De la préparation de BMIC, au bocal, à l'open-space, jusqu'à nos soutenances respectives, quel chemin ! A l'heure où j'écris ces mots, tu es en pleine préparation pour cette fameuse dernière ligne droite, tu vas tout déchirer, comme à BMIC ! **Candice**, qui aura quitté le nid la première, j'espère que tu t'épanouis dans cette nouvelle vie. Merci à vous deux pour les moments passés ensemble.

**Aux anciens doctorants qui ont continués leur route.** **Vincent** seul être humain qui aura réellement compris l'importance cruciale du Sherrington, **Pacome** et le fameux TR, **Anthony** et ta passion débordante, **Yasmine** fournisseuse officielle de cornes de gazelle, **Olivia** et sa pure gentillesse. Vous étiez les « vieux doctorants » à mon arrivée et je confesse assez volontiers l'admiration que je vous porte à tous et l'importance que vous avez eu à mes débuts. J'espère que tout se passe pour le mieux pour vous tous !

**Aux personnels de plateforme, sans qui rien de tout ça n'aurait été possible.** Aux personnels de la **plateforme de génomique** : **Sandrine**, **Jessie**, **Carole** et enfin **Cyril** que je souhaite remercier tous particulièrement pour nos rendez-vous dominicaux et bien trop matinaux, pour la joie de vivre et l'énergie que tu dégages et ton envie si flagrante de faire avancer les choses dans le bon sens. Chaque moment à interagir avec toi, pour la science ou pour la danse, sont de bons souvenirs. Aux personnels de la **plateforme de cytométrie** **Agathe**, **Priscillia** et **Thibault** pour leurs expertise implacable et leurs



personnalités hautes en couleur qui rendent chaque passage au Cheney 3B si sympathiques. Aux personnels de la **plateforme de bio-informatique Roxane, Anthony, Abud** et particulièrement **Laurie** pour leur disponibilité, leur expertise, et parfois leur patience et empathie face à nous autres néophytes. Et enfin, à **Maxime** et **Manon** sans qui **AniCan** ne serait pas ce qu'il est.

**A toutes ces personnes qui rendent le CRCL si plaisant. Ambroise**, le troisième membre de mon couple. Je te remercie pour qui tu es, ta vivacité d'esprit, ta pertinence, toujours un plaisir de parler avec toi, de sciences ou de faits qui n'intéressent que nous, à tel point qu'il faille imposer la règle des 10 secondes... **Yenkel** pour tous nos échanges, toujours enrichissants et de m'avoir fait confiance pour donner un cours, une très belle expérience que j'ai adorée. **Saïdi**, Salut salut ! Pour m'avoir offert des discussions scientifiques dans cette joie et bonne humeur qui te caractérisent. **Olivier**, ta pertinence sur tant de points, j'ai adoré apprendre de toi à chacune de nos discussions socio-politico-scientifico-economico-anthropologiques. L'ensemble de **l'équipe Mehlen**, qui s'est parfois apparentée à une équipe d'accueil. Et tant d'autres personnes qui ont participé à rendre cette aventure si enrichissante : **Celia, Lucas, Virginie, Paola, Thomas, Paul, Cristina, Aneta, Emma, Noémie, Camille, Yannick, Cécile, Céline, Pierre, Patrick, Anthony, Laurent, Sonia, Anne-Laure, Cyril, Claire, Sarah, Lison, Guilhem, Melissa, Simon, Verena, Erivan, Maeva, Kristina, Sarah, Mélanie, Elisa, Sylvia, Ossama, Clara, Clement, Lea, Delphine, Arthur, Emilie, Lucas, Ghita, Valentin, Rita, Ruxanda, Maude, Pierre, Marie & Pumpkin** (soutien psychologique +++).

**Aux personnes qui m'ont donné le goût de la recherche.** Je souhaite remercier le **Dr Sandrine Marchetti**, qui m'aura « tout simplement » fait découvrir la beauté de ce domaine ainsi que les **Dr Lazaro Emilio Aira Diaz, Dr Emma Rawlins, Dr Dawai Sun, Dr Sandro Alves** pour leur confiance, leurs enseignements, et l'impact que vous avez eu sur mon envie de faire de la recherche mon métier.

**A mes Caennais, ce noyau dur présent depuis toujours et pour toujours. Antoine, Baptiste, Marc-Antoine, Maeva, Alexandre, Solène, Emma, Marion, Manon, Mégane.** Vous êtes beaux, love.

**A ma famille, qui essaye encore de comprendre ce que je fais, mais sans qui rien de tout ça n'aurait été possible. Maman, papa**, je vous remercie du plus profond de mon cœur de m'avoir toujours soutenu. Maman, merci pour qui tu es, j'espère un jour avoir la moitié de ta bonté. Papa, le courage, la résilience et la force d'esprit dont tu fais preuve sont une véritable source d'admiration et d'inspiration. **Monique, Hubert, Pascal**, pour des raisons évidentes. Vous êtes des personnes magnifiques. **Anne-Françoise** et **Sylvain**, je me permets de vous mettre ici, j'espère que vous ne m'en tiendrez pas rigueur. Merci de m'avoir également accompagné sur toute cette aventure, notamment Sylvain pour ta relecture passionnée, et de m'avoir fait sentir comme un membre de votre famille. Vous avez aussi participé à ma propre construction.

**A Lisa.** A toi, qui aura été un pilier du début à la fin, et que je ne remercierai jamais assez. Merci d'avoir su composer avec mon implication quasi-extrémiste, d'avoir été là dans les beaux moments comme les plus durs et d'avoir réussi à me garder sur de bons rails pour rester, en bonne partie en tout cas, sain d'esprit. Tu m'as tant apporté et tout simplement fait grandir et devenir la personne que je suis, je t'en serai éternellement reconnaissant. Tu es la plus belle personne que je n'ai jamais rencontrée.

**Du fond du cœur, merci à tous.**

# Table des matières

<b>Liste des publications</b> .....	2
Travaux principaux .....	2
Autres contributions.....	2
<b>Résumé</b> .....	3
<b>Abstract</b> .....	4
<b>Remerciements</b> .....	5
<b>Liste des abréviations</b> .....	14
<b>Liste des figures et encadrés</b> .....	15
<b>PREAMBULE</b> – Le système immunitaire, une ligne de défense coordonnée et mobilisable à des fins thérapeutiques.....	16
<b>INTRODUCTION</b> .....	17
<b>Chapitre 1- Présentation des cellules Natural Killer</b> .....	18
<b>I. Présentation générale et repères historiques, 50 ans après la découverte des NK</b> .....	18
<b>II. Les NK, membres de la famille des cellules lymphoïdes innées (ILCs)</b> .....	20
1. Caractéristiques principales des ILCs.....	20
2. Emergence des NK.....	21
2.1. Ontogénie et trajectoires développementales .....	21
2.1.1. Chez l’homme.....	21
2.1.2. Chez la souris.....	22
2.2. Processus de maturation.....	23
2.2.1. Une maturation séquentielle .....	23
2.2.2. Les facteurs de transcription, chefs d’orchestre des processus de maturation des NK .....	24
2.2.3. Le cas des NK adaptatives dans le modèle de maturation.....	24
<b>III. Des cellules aux fonctions complémentaires</b> .....	26
1. Des cellules tueuses professionnelles .....	26
1.1. Cytotoxicité directe .....	26
1.1.1. Granules lytiques, synapse immunologique et molécules effectrices .....	26
1.1.2. Les ligands de récepteurs de mort .....	28
1.2. Des tueurs en série grâce à un processus de cytolyse dynamique .....	28
1.3. La cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) .....	30
2. Des cellules immunomodulatrices, sources de facteurs solubles médiateurs des réponses immunitaires .....	30
2.1. Initiation et amplification des réponses inflammatoires innées et adaptatives.....	30

2.1.1. Mobilisation de la réponse immunitaire .....	30
2.1.2. Maturation, polarisation et activation .....	31
2.1.3. Des rôles dans l'angiogenèse .....	31
2.2. Des cytokines aux rôles pléiotropes, parfois pathogéniques.....	32
3. La prolifération et survie .....	33
<b>Chapitre 2- Les NK, une régulation fonctionnelle fine, continue et dynamique .....</b>	<b>34</b>
<b>I. Régulations par engagement des récepteurs activateurs et inhibiteurs.....</b>	<b>34</b>
1. Récepteurs inhibiteurs .....	35
1.1. Modèle d'absence du soi et récepteurs inhibiteurs spécifiques du CMH-I .....	35
1.2. Récepteurs inhibiteurs non spécifiques du CMH-I.....	36
2. Récepteurs activateurs et modèles du soi induit et du non soi .....	37
2.1. Récepteurs activateurs spécifiques du CMH-I.....	37
2.2. Récepteurs activateurs non spécifiques du CMH-I .....	38
3. Les récepteurs « Toll-like » de l'immunité innée .....	40
4. Les molécules d'adhérence et intégrines .....	40
<b>II. Les facteurs cytokiniques, des acteurs majeurs pour la biologie des NK .....</b>	<b>41</b>
1. Les cytokines activatrices, un large ensemble participant aux fonctions pro-inflammatoires des NK.....	41
1.1. Les cytokines pro-inflammatoires de la famille $\gamma c$ : .....	41
1.2. La famille de l'IL-12, un groupe aux rôles ambivalents .....	43
1.3. Les amplificateurs de la famille de l'IL-1 .....	44
1.4. Les IFNs de type I et III.....	47
1.5. Synergies, complémentarités et compensations inter-signaux pour assurer l'activation des NK.....	49
2. Les cytokines immunosuppressives, de l'inhibition à la polarisation fonctionnelle .....	50
2.1. Un écosystème régulateur composé de nombreux agents.....	50
2.2. Le cas du TGF $\beta$ , figure de proue des cytokines immunosuppressives .....	51
<b>III. L'empreinte tissulaire des populations résidentes .....</b>	<b>52</b>
1. Localisation tissulaire des NK .....	52
2. Les NK résidents, des populations aux caractéristiques dépendantes des tissus .....	53
<b>IV. L'implication du métabolisme .....</b>	<b>54</b>
<b>V. Caractéristiques intrinsèques et plasticité des NK, sources d'hétérogénéité.....</b>	<b>55</b>
1. L'importance de l'éducation.....	55
2. Lien entre maturation et fonctionnalité, la dichotomie CD56 <sup>Bright</sup> et CD56 <sup>Dim</sup> .....	56
3. L'impact à long terme des stimulations passées.....	59
3.1. Les NK, des lymphocytes innés doués de mémoire .....	59

3.1.1. Les populations NK adaptatives .....	59
3.1.2. Les populations « memory-like », une autre forme de mémoire immunitaire .....	61
3.2. Des cellules sujettes à l'épuisement (exhaustion) ?.....	62
4. Le concept émergent de la transdifférenciation des NK en ILC1-like .....	63
<b>VI. Le cas du dialogue bidirectionnel entre NK et DCs, un axe majeur pour les réponses immunitaires</b> .....	66
<b>Chapitre 3- La relation dynamique entre cellules tumorales et NK dans le développement des cancers</b> .....	70
<b>I. Concept et mise en évidence de l'immunosurveillance médiée par les NK</b> .....	71
<b>II. Processus d'échappement à l'immunosurveillance médiée par les NK</b> .....	74
1. Mécanismes de résistance des cellules tumorales face aux activités des NK.....	74
2. Des altérations profondes et coordonnées de l'ensemble du microenvironnement tumoral .....	76
<b>III. Intérêt clinique et ciblage thérapeutique</b> .....	80
1. Ciblage direct des NK.....	80
1.1. Les immunothérapies basées sur l'utilisation d'anticorps orientés contre les récepteurs activateurs ou inhibiteurs.....	80
1.1.1. Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire négatifs .....	80
1.1.2. Les agonistes de récepteurs activateurs et catalyseurs du processus de cytotoxicité.....	82
1.2. Les immunothérapies basées sur les cytokines.....	83
1.3. Transferts adoptifs des NK .....	85
1.3.1. Les CIML et ML : .....	85
1.3.2. Les NK génétiquement modifiées :.....	86
2. Ciblage indirect des NK et combinaisons thérapeutiques.....	86
2.1. Modulation du microenvironnement et des populations DC accessoires .....	86
2.2. Implication des NK dans l'efficacité de thérapies conventionnelles.....	87
<b>Chapitre 4- Régulateurs cytokiniques des NK, une liste d'acteurs qui s'allonge</b> .....	89
<b>I. L'interleukine-33 (IL-33), signal d'alarme pour le système immunitaire</b> .....	89
1. L'IL-33, une alarmine nucléaire à l'expression finement régulée .....	91
1.1. Structure génique et protéique.....	91
1.2. Sources cellulaires et régulations.....	91
1.2.1. Une expression régulée .....	91
1.2.2. Absence de peptide signal et libération non conventionnelle.....	92
1.2.3. Modifications post-traductionnelles et bioactivité de l'IL-33 .....	93
1.3. L'expression du récepteur ST2 .....	95
2. Dualité de l'IL-33 dans la régulation de l'immunosurveillance tumorale .....	96

2.1. Expression d'IL-33 dans les tumeurs .....	96
2.2. Des fonctions pro- et anti-tumorales de l'IL-33 .....	96
2.2.1. Des fonctions pro-tumorales.....	97
2.2.1.a. Impact direct sur les cellules tumorales .....	97
2.2.1.b. Rôles dans la mise en place d'un microenvironnement immunosuppresseur....	97
2.2.2. Un acteur à part entière de l'immunosurveillance anti-tumorale .....	98
3. L'IL-33, un candidat pour des stratégies thérapeutiques anti-tumorales ? .....	101
<b>II. L'Interleukine-35 (IL-35), un puissant agent immunosuppresseur .....</b>	<b>102</b>
1. Structure, récepteurs et voies de signalisation .....	103
2. Sources cellulaires et contexte d'expression de l'IL-35.....	103
3. Fonctions biologiques et retombées physiopathologiques de l'IL-35.....	104
3.1. Emergence d'un nouvel agent immunosuppresseur .....	105
3.2. Implication de l'IL-35 dans de nombreux contextes physiopathologiques.....	106
3.2.1. Cancers et infections : Les rôles délétères de l'IL-35 .....	106
3.2.2. Maladies auto-immunes et grossesse : Les rôles nécessaires de l'IL-35 .....	109
4. L'IL-35 en tant qu'agent thérapeutique ?.....	110
<b>RESULTATS .....</b>	<b>111</b>
<b>Partie 1 : L'IL-33, puissant activateur des fonctions anti-tumorales des NK .....</b>	<b>113</b>
<b>ARTICLE 1: IL-33 drives polyfunctionality and antitumor activity of a unique ST2+ NK cell population .....</b>	<b>113</b>
-Contexte, hypothèse et objectifs : .....	113
-Article scientifique .....	114
<b>ARTICLE 2: IL-33 activates NK cells in a context- and subset-dependent manner in health and tumors .....</b>	<b>185</b>
-Contexte, hypothèse et objectifs : .....	185
-Résultats.....	187
<b>Partie 2 : Identification de l'IL-35 comme un nouvel inhibiteur des NK humaines.....</b>	<b>201</b>
<b>ARTICLE 3: Interleukin-35 impairs human NK cell effector functions by inducing an ILC1-like conversion .....</b>	<b>201</b>
-Contexte, hypothèse et objectifs : .....	201
-Article scientifique .....	202
<b>DISCUSSION et PERSPECTIVES .....</b>	<b>243</b>
<b>Partie 1 : L'IL-33, puissant activateur des fonctions anti-tumorales des NK .....</b>	<b>246</b>
<b>I. L'expression induite et transitoire du récepteur ST2 .....</b>	<b>246</b>
1. Une longue liste de facteurs inducteurs inattendus .....	247
2. Un nouvel aspect du crosstalk NK/cDC .....	248
2.1. Précision des acteurs cellulaires impliqués dans l'émergence des NK ST2+ .....	248

2.2. Rôle de l'IL-15 dans l'émergence des NK ST2+ <i>in vivo</i> .....	250
2.3. La mise en place d'un cercle vertueux ?.....	251
<b>II. Les effets positifs de l'IL-33 sont dépendants du contexte d'activation cytokinique et de la sous-population de NK .....</b>	<b>251</b>
1. L'importance de la synergie IL-15/IL-33 .....	251
2. Caractérisation des spécificités d'action de l'IL-33 sur les populations de NK par approche transcriptomique.....	252
3. IL-12+IL-15+IL-33, une combinaison gagnante ?.....	255
3.1. Un nouvel inducteur de NK CIML (CIML-33) .....	256
3.2. De possibles effets délétères ?.....	256
<b>III. L'IL-33, acteur important de l'immunité anti-tumorale ? .....</b>	<b>259</b>
1. Rôles de l'IL-33 exogène <i>in vivo</i> .....	259
2. Importance de l'IL-33 endogène dans l'immunosurveillance médiée par les NK ? .....	260
3. NK ST2+ et IL-33, nouvelle approche thérapeutique ?.....	263
<b>Partie 2 : Identification de l'IL-35 comme un nouvel inhibiteur des NK humaines.....</b>	<b>264</b>
<b>I. Une première description cohérente avec la littérature.....</b>	<b>264</b>
<b>II. Une méconnaissance des récepteurs et voies de signalisations impliqués .....</b>	<b>264</b>
<b>III. L'IL-35, plus qu'un inhibiteur, un polarisateur des fonctions NK .....</b>	<b>266</b>
1. Vers des cellules aux propriétés régulatrices .....	266
2. Implication du TGFβ dans les effets observés .....	267
3. La conversion NK-ILC1-like, un rôle physiopathologique probablement sous-estimé .....	268
4. Les ILC1-like, un ensemble de cellules hétérogène ? .....	270
5. L'impact à long-terme de la conversion en ILC1-like.....	270
<b>Conclusions .....</b>	<b>271</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>273</b>

# Liste des abréviations

## **ADCC :**

Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity

**AML :** Acute Myeloid Leukemia

**ARN :** Acide RiboNucléique

**BCR :** B Cell Receptor

**CAFs :** Cancer-Associated Fibroblasts

**CAR- :** Chimeric Antigen Receptor-

**CBD :** Chromatin Binding Domain

**CD :** Cluster de différenciation

**CIML :** Cytokine-Induced Memory-Like

**CLEC :** C-type Lectin

**CILP :** Common Innate Lymphoïd Progenitor

**CLP :** Common Lymphoïd Progenitor

**CMH-I :** Complexe Majeur  
d'Histocompatibilité-1

**CMV :** Cytomegalovirus

**CPAg :** Cellules Présentatrices de l'Antigène

**DCs :** Dendritic cells

**DCIS :** Ductal Carcinoma In Situ

**DNAM-1 :**

**EMA :** European Medicines Agency

**FACS :** Fluorescent-Activated Cell Sorting

**Fas-L :** Fas Ligand

**Fc :** Fragment constant

**FcR :** Récepteur au fragment constant

**FDA :** Food and Drug Administration

**FLT3L :** Flt3-Ligand

**FT :** Facteur de transcription

**GM-CSF :** Granulocyte-Macrophages  
Colony-Stimulating Factor

**GvHD :** Graft-versus-Host Disease

**Gzm :** Granzyme

**HBV :** Hepatitis B Virus

**HCV :** Hepatitis C Virus

**HCMV :** Human Cytomegalovirus

**HEV :** High Endothelial Venules

**HIV :** Human Immunodeficiency Virus

**HLA :** Human Leukocyte Antigen

**HSC :** Hematopoietic Stem Cell

**IBC :** Invasive Breast Cancer

**ICB :** inhibiteurs de points de contrôle  
immunitaires

**IF :** Immunofluorescence

**IFN :** Interféron

**Ig :** Immunoglobuline

**IHC :** Immuno-Histochimie

**IL :** Interleukine

**ILCs :** Innate Lymphoid Cells

**ITAM :** Immunoreceptor Tyrosine-based  
Activation Motif

**ITIM :** Immunoreceptor Tyrosine-based  
Activation Motif

**KIR :** Immunoreceptor Tyrosine-based  
Activation Motif

**KO :** Knock-out

**LB :** Lymphocyte B

**LPS :** Lipopolysaccharide

**LT :** Lymphocytes T

**LTi :** Lymphoid Tissue inducer

**M-CSF :** Macrophages Colony-Stimulating  
Factor

**MDSC :** Cellules myéloïdes suppressives

**MMPs :** Matrix Metalloprotéinases

**NCRs :** Natural Cytotoxicity Receptors

**NK :** Natural Killer cells

**NKG2 :**

**NKT :** Natural Killer T cells

**PBMC :** Peripheral Blood Mononuclear Cells

**pDC :** Cellule Dendritique plasmacytoïde

**PGE2 :** Prostaglandine E2

**Poly I:C :** Polyinosinic:polycytidylic acid

**RNAseq :** RNA sequencing

**SI :** Système Immunitaire

**ST2 :** Suppression of tumorigenicity 2

**TCR :** T Cell Receptor

**TGFβ :** Tumor Growth Factor β

**Th :** T helper

**TLR :** Toll-Like Receptors

**TME :** Tumor Microenvironnement

**Treg :** Regulatory T cells

**Tγδ :** T Gamma Delta

**WT :** Wild-T

# Liste des figures et encadrés

**Figure 1** : Evolution du nombre de publications traitant de cellules NK depuis 1975

**Figure 2** : Développement et maturation des ILCs chez l'Homme

**Figure 3** : La cytotoxicité des NK, un cycle à étapes successives

**Figure 4** : Modèles de régulation des NK par interactions ligands/récepteurs face aux cellules cibles

**Figure 5** : Les cytokines sont des acteurs majeurs dans la biologie des NK

**Figure 6** : Origine cellulaire des cytokines régulant les NK

**Figure 7** : La dichotomie phénotypique et fonctionnelle des CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup>

**Figure 8** : Plasticité fonctionnelle des NK

**Figure 9** : Principales interactions du dialogue bilatéral NK/DC

**Figure 10** : Représentation prototypique du modèle d'immunosurveillance médié par les NK

**Figure 11** : L'environnement tumoral altère les caractéristiques des NK et induit leur dysfonction

**Figure 12** : Stratégies thérapeutiques anti-tumorales ciblant directement et indirectement les NK

**Figure 13** : Structure, expression, libération et régulation de l'IL-33

**Figure 14** : Rôles anti- et pro-tumoraux de l'IL-33 en contexte de cancer

**Figure 15** : L'IL-35 est un puissant agent immunosuppresseur

**Figure 16** : Modèle du rôle des IL-33 et IL-35 dans la régulation de la réponse immunitaire en contexte tumoral

**Encadré 1** : Le concept de l'immunité adaptative

**Encadré 2** : Les processus de transdifférenciation inter-ILCs

**Encadré 3** : Présentation et généralités de la biologie des DCs

**Encadré 4** : La tumorigenèse, un processus multifactoriel

**Encadré 5** : L'IL-33, membre de la famille des IL-1s

**Encadré 6** : L'IL-35, membre immunosuppresseur de la famille de l'IL-12



## PREAMBULE – Le système immunitaire, une ligne de défense coordonnée et mobilisable à des fins thérapeutiques

Le corps humain est une horlogerie exceptionnelle d'une évidente complexité, composée d'un nombre vertigineux d'acteurs agissant tous en quinconce pour assurer une **homéostasie dynamique en constante adaptation**. Les organismes complexes, comme ceux des mammifères, peuvent être considérés par strates : l'organisme, les systèmes, les organes individuels, les tissus, les cellules et les agents moléculaires. Bien qu'**intimement interconnectées**, à chaque échelle s'offre un nouveau monde d'acteurs agissant et interagissant tous de concert pour assurer l'**intégrité de l'ensemble** en particulier lorsque cette dernière se trouve menacée.

Parmi les acteurs précédemment cités, il y en a un, le **système immunitaire**, qui a pour fonction principale d'assurer la **protection de l'organisme en détectant et éliminant les pathogènes**. Il est possible de distinguer les pathogènes extérieurs, liés à l'environnement, tels que les virus, bactéries, parasites, champignons, allergènes ou substances toxiques, des pathogènes intrinsèques à l'organisme lui-même tels que l'émergence de cellules dites stressées, cancéreuses, ou aux comportements anormaux.

Pour répondre à ces différentes menaces, le système immunitaire est constitué de nombreuses populations cellulaires, chacune avec des **rôles complexes, spécifiques, complémentaires, et en constante adaptation**, afin de pouvoir assurer leurs fonctions de manière **coordonnée dans l'espace et le temps**. Classiquement, et bien que cette frontière historique soit de plus en plus nuancée à mesure que nos connaissances avancent, les cellules immunitaires peuvent être considérées en deux catégories selon leurs fonctionnements intrinsèques : les **cellules immunitaires innées et adaptatives**. Les cellules innées, dont les acteurs principaux sont les **neutrophiles, éosinophiles, monocytes/macrophages, cellules dendritiques et cellules lymphoïdes innées (ILC)**, sont définies comme telles par leur aptitude à reconnaître **rapidement, efficacement et de façon aspécifique une infinité de menaces**, dès la première rencontre avec le pathogène considéré, faisant d'elles la **première ligne de défense** de l'organisme. A l'inverse, les cellules immunitaires dites adaptatives, dont les représentants majeurs sont les **lymphocytes T et B**, se caractérisent par une **capacité d'entraînement** et de genèse de cellules dites « **mémoires** » face aux pathogènes rencontrés, offrant une réponse de **plus en plus rapide et efficace** face à des menaces **spécifiques**.

Notre compréhension de ce système s'affine, permettant en quelques dizaines d'années une description fondamentale d'un écosystème immunitaire complexe et l'élaboration de stratégies thérapeutiques anti-cancéreuses révolutionnaires, appelées **immunothérapies** et désormais utilisées classiquement en clinique. Néanmoins, de nombreux **cancers restent encore incurables** et la **majorité des patients ne répond pas à ces immunothérapies**, démontrant la nécessité de continuer les investigations pour identifier les **stratégies optimales** afin de cibler le système immunitaire.

Ainsi, nos travaux s'ancrent dans cette dynamique, avec un intérêt tout particulier pour une population immunitaire aux potentiels thérapeutiques prometteurs : **les lymphocytes Natural Killer (NK)**.

# INTRODUCTION

# Chapitre 1- Présentation des cellules Natural Killer

## I. Présentation générale et repères historiques, 50 ans après la découverte des NK

Jusqu'en 1970, seuls les lymphocytes de l'immunité adaptative étaient connus et étaient perçus comme maîtres de cérémonie des réponses immunitaires (Kaufmann, 2019), malgré une incompréhension des mécanismes mis en place pour reconnaître et éliminer les cellules dangereuses. Face à ce constat, différents groupes de recherche, dont ceux des Dr R.Kiessling/Dr K.Kärre (Suède) et du Dr H.Roderick (Etats-Unis), ont cherché à mieux décrire les processus biologiques sous-jacents à la cytotoxicité des lymphocytes T (LT). Sérendipité au rendez-vous et talent d'observation mis à l'œuvre, ces groupes de recherche observèrent un niveau anormalement élevé de mortalité des cellules tumorales co-cultivées avec des lymphocytes isolés de rate de souris, en l'absence de tout entraînement préalable. Cette observation, initialement classifiée de « bruit de fond dérangeant », s'avèrera être en réalité une avancée majeure pour l'immunologie.

Après plusieurs années d'études, en **1975**, ces groupes de recherche isolèrent et décriront indépendamment une nouvelle population lymphocytaire capable de **cytotoxicité rapide, naturelle et spontanée** envers des cellules dangereuses, à l'opposé des réponses immunitaires observées *in vitro* jusqu'à lors. Ils qualifieront cette population de **lymphocytes « Natural Killer »**. En **1978**, cette observation sera étendue aux cellules infectées par des virus, démontrant le rôle majeur de ces « NK » dans les défenses de l'organisme et ouvrant la voie d'un nouveau domaine de l'immunologie (Kiessling, Klein, & Wigzell, 1975; Kiessling, Klein, Pross, et al., 1975).

Au cours des années qui suivirent, l'intérêt grandissant autour de cette population permit de comprendre les stratégies mises en place par ces cellules pour **percevoir leur environnement** et reconnaître leurs cibles. Dès les années 80, la description des premiers **KIRs** (Killer cell Immunoglobulin-like Receptors) (Moretta et al., 1996, 1997; Wagtmann et al., 1995) et de **l'importance des interactions ligands/récepteurs** pour la biologie des NK permirent l'émergence de deux hypothèses, d'abord considérées comme contradictoires, mais qui s'avèreront être complémentaires. D'une part, **la théorie du « non soi »**, selon laquelle les NK seraient sensibles à l'expression de protéines membranaires inconnues, induites par des pathogènes, et d'autre part, **la théorie de la « perte du soi »** d'après laquelle une cellule pourrait être perçue comme étrangère, et donc dangereuse, suite à la perte de marqueurs lui permettant d'attester son appartenance à l'organisme (Ljunggren & Kärre, 1990). Cette deuxième hypothèse, popularisée par une métaphore faisant un lien entre les méthodes de détection des NK et des sous-marins suédois, qui n'apprennent pas à reconnaître les caractéristiques de toutes les entités hostiles mais à identifier l'absence de celles propres aux entités alliées, sera démontrée 5 ans plus tard (1985-1986), par l'identification de la **protéine prototypique des marqueurs du soi, le CMH de classe I**. Depuis, de nombreuses équipes ont permis d'élargir le spectre des molécules permettant aux NK de percevoir leur environnement, notamment avec la description des premières molécules **NCR** (Natural Cytotoxicity Receptors) (Moretta et al., 2001) et **CLRs** (C-type Lectin Receptors) (Moretta et al., 2001).

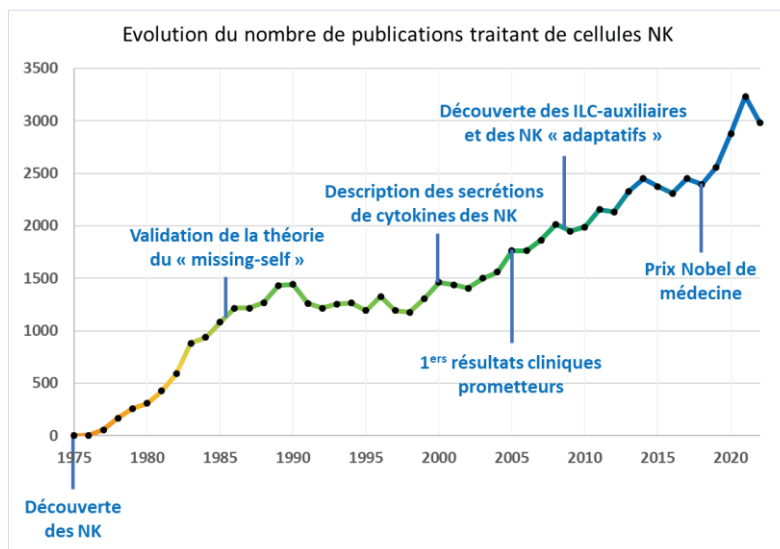
Une autre avancée majeure dans la compréhension des cellules NK et de leur rôle pivot dans la mise en place des réponses immunitaires globales et efficaces, y compris adaptatives, se fit au début des années 2000, avec la mise en évidence de la **capacité des cellules NK à produire des cytokines pro-inflammatoires**, permettant d'**interagir et de réguler d'autres populations immunitaires** telles que les cellules dendritiques (DCs) et les LT (Ferlazzo et al., 2002; Gerosa et al., 2002; Piccioli et al., 2002).

Bien que différentes sous-populations de lymphocytes NK furent observées dès les années 90, avec la description des deux sous-populations historiques **CD56<sup>Dim</sup>** et **CD56<sup>Bright</sup>** chez l'Homme, deux nouvelles

découvertes majeures en 2008 et 2009 permirent de mieux appréhender la complexité de la biologie des cellules NK : la découverte des **Cellules Lymphoïdes Innées (ILC) auxiliaires ILC1, ILC2, ILC3**, formant la famille des « ILCs » (Spits et al., 2013; Vivier et al., 2018) et la découverte de **caractéristiques « adaptatives » des cellules NK** (Sun et al., 2009; Vivier et al., 2011), notamment suite à des infections virales (Muntasell et al., 2013). Depuis, les récentes avancées technologiques permettant l'étude d'un grand nombre de caractéristiques génomiques, transcriptomiques, épigénétiques et phénotypiques simultanées, à l'échelle de la cellule unique, ont mis en évidence une hétérogénéité/diversité et même plasticité cellulaire inattendue (Freud et al., 2017).

Ces résultats, couplés à l'observation que les individus sans NK présentent une espérance de vie diminuée en cas d'infections virales, ont mené à l'initiation d'**essais cliniques** exploitant les propriétés des NK dès les années 2000. Malgré des premiers résultats décevants et un désintérêt progressif envers ces stratégies, un premier résultat prometteur dans le cadre de transferts adoptifs de NK chez des patients atteints de pathologies hématologiques fut observé en 2005 (Ruggeri et al., 2002). Ce seront les résultats cliniques spectaculaires menant à l'agrément par la FDA des premiers « inhibiteurs de points de contrôle immunitaires » ciblant CTLA-4 (ICB, Ipilimumab, 2011) et PD-1 (Nivolumab, 2014), découverts respectivement par James Allison et Tasuku Honjo ayant conjointement reçu le **prix Nobel de Physiologie/Médecine 2018**, qui permettront de remettre sur le devant de la scène les immunothérapies et de ressusciter l'intérêt académique et industriel pour le domaine, y compris pour les approches ciblant les NK (André et al., 2018; Guilleroy et al., 2016).

C'est grâce à l'ensemble de ces chercheurs et de leurs équipes que ces notions et concepts démontrant l'intérêt des ILCs, aussi bien d'un point de vue fondamental que clinique, ont été mis en évidence. Désormais, je suis heureux que mon travail de thèse puisse apporter sa pierre à cet édifice.



**Figure 1** : Evolution du nombre de publications traitant de cellules NK depuis 1975. Source : Pubmed

## II. Les NK, membres de la famille des cellules lymphoïdes innées (ILCs)

Les récents progrès technologiques permettant des études multiparamétriques à l'échelle de la cellule unique, doublés des études de « lineage tracing », ont mis en évidence des **marqueurs spécifiques** permettant de délimiter les sous-populations d'ILCs et d'identifier leurs **différences fonctionnelles**, démontrant leurs **rôles spécifiques et complémentaires** dans de multiples contextes physiopathologiques. Ainsi, les ILCs matures sont catégorisées sur la base de l'expression **1) de facteurs de transcription, 2) de marqueurs phénotypiques et 3) de cytokines spécifiques** permettant de distinguer les **NK**, les **cellules LTI** et enfin les **ILC auxiliaires**, elles-mêmes subdivisées en 3 sous-catégories avec les ILCs de **type 1, type 2** et enfin **type 3** (ILC1, ILC2, ILC3, respectivement) (Colonna, 2018; Vivier et al., 2018).

### 1. Caractéristiques principales des ILCs

Les ILCs ont pour rôle de **protéger l'organisme contre les pathogènes** et de **réguler l'inflammation tissulaire** pour en **assurer l'homéostasie**. Au vu de l'ensemble de leurs caractéristiques, une **symétrie intéressante** apparaît entre les différentes sous-populations auxiliaires de LT et les ILCs, chaque sous-population innée trouvant son homologue adaptatif (Guia & Narni-Mancinelli, 2020; Spits & Di Santo, 2011). Néanmoins, ces dernières s'en distinguent par l'**absence d'expression de récepteurs de l'antigène** issus de recombinaison VDJ (i.e. les BCR ou TCR), tout en étant capables de répondre fortement et immédiatement aux pathogènes et modifications de leur environnement, indépendamment de toute phase d'activation antigénique et d'expansion clonale (Vivier et al., 2018; Weizman et al., 2017). Les ILCs agissent ainsi en véritables **sentinelles** assurant la **première défense active** de l'organisme avant la mise en place des réponses adaptatives (Abt et al., 2015; Hammer et al., 2018; Weizman et al., 2017).

Bien que les mécanismes sous-jacents à l'activation des NK, que nous détaillerons plus tard, soient mieux décrits (Caligiuri, 2008; Vivier et al., 2004) que celui des ILC auxiliaires, certains mécanismes peuvent être généralisables à l'ensemble des ILCs. Ces cellules seront ainsi fortement régulées par les **signaux de stress, d'inflammation** ou de **danger** (tels que des cytokines, hormones, métabolites, produits microbiens, neuropeptides etc...) présents dans leur environnement (Colonna, 2018; Robinette et al., 2018). Néanmoins, le spectre de récepteurs exprimés varie selon la sous-population considérée, impliquant une **réactivité spécifique** (Eberl et al., 2015; Klose & Artis, 2016).

Ainsi, le **groupe des ILC1**, composé des **NK** et **ILC1 auxiliaires**, est activé par l'**IL-12, -15** et **-18**, et est caractérisé par sa capacité à sécréter de façon massive les cytokines **pro-inflammatoires IFN- $\gamma$**  (Interféron  $\gamma$ ) et **TNF- $\alpha$**  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ), ainsi que par sa dépendance fonctionnelle au facteur de transcription **Tbet** (Bai et al., 2021; Fuchs et al., 2013; Weizman et al., 2017). En complément, l'émergence et la fonctionnalité des NK, **hautement cytotoxiques**, dépend de l'expression conjointe du facteur de transcription **Eomesodermin (Eomes)**. Ces caractéristiques désignent les NK et les ILC1 comme étant les homologues innés des LT CD8+ et T auxiliaires Th1, respectivement, et leur permettent d'assurer les **défenses anti-cancéreuses** et contre les **pathogènes intracellulaires** (Guia & Narni-Mancinelli, 2020; Weizman et al., 2017).

L'émergence des **ILC2** quant à elle dépend du facteur de transcription **GATA3**. Ces cellules sont réactives aux signaux inflammatoires tels que l'**IL-25, -33** (Mjösberg et al., 2011; Monticelli et al., 2015) et la **TLSP** (Lymphopoïétine thymique stromale), et sécrètent en réponse les cytokines **IL-4, -5, -9, -13** et l'**Amphireguline (AREG)** (Vivier et al., 2018). Ces caractéristiques sont partagées avec les lymphocytes Th2 pour assurer des rôles de protection contre les infections par des **helminthes** ou

encore pour contrebalancer les processus inflammatoires au cours des **réponses allergiques** et ainsi assurer la **réparation tissulaire** (Colonna, 2018; Guia & Narni-Mancinelli, 2020; Rauber et al., 2017).

Enfin, les **LTi** et les **ILC3** sont caractérisées par l'expression du facteur de transcription **ROR $\gamma$ t** et sont particulièrement sensibles aux stimulations par les cytokines **IL-1 $\beta$** , **-18** et **-23** (L. Zhou et al., 2019). Ces cellules, une fois activées, secrètent de l'**IL-17**, **-22**, du **GM-CSF**, de l'**IFN $\gamma$**  et du **TNF $\alpha$**  (Colonna, 2018; Vivier et al., 2018; Zhou & Sonnenberg, 2020), comme leurs homologues Th17 et Th22. Récemment, elles ont également été identifiées comme une source importante d'**IL-2** (L. Zhou et al., 2019). Les ILC3 sont ainsi impliquées dans les processus de défense contre les **pathogènes extracellulaires** et **fongiques**, tandis que les LTi sont impliqués dans l'**organogenèse des tissus lymphoïdes** lors du développement, notamment au cours des stades fœtaux (Guia & Narni-Mancinelli, 2020; Kobayashi et al., 2019). A l'âge adulte, les **LTi** sont considérées comme une **sous-population d'ILC3** (Zhong et al., 2018).

Au cours de nos travaux, je me suis intéressé aux **cellules NK et aux facteurs cytokiniques régulant leur identité, leurs activités et leurs fonctions**. Nous nous concentrerons donc plus largement sur ces cellules pour la suite de cette introduction.

## 2. Emergence des NK

Malgré de nombreuses similitudes conservées dans les trajectoires développementales et processus de maturation des ILCs chez l'homme et la souris, des différences majeures ont également été observées. Bien que nos travaux soient principalement réalisés à partir d'échantillons humains, nous aborderons des concepts et notions initialement décrits chez la souris et présenterons des résultats nécessitant la compréhension actuelle des deux modèles.

### 2.1. Ontogénie et trajectoires développementales

Comme les autres leucocytes, le développement des NK se traduit par une **série successive d'étapes de différenciation** entraînant progressivement une restriction vers le lignage NK, puis de **maturation** permettant l'**acquisition de caractéristiques fonctionnelles**. Ces étapes sont contrôlées par des **signaux environnementaux**, tels que des cytokines, influençant l'expression de facteur de transcription, que nous ne décrirons pas en détail ici. Chez l'homme comme chez la souris, l'ensemble des cellules immunitaires se différencie à partir des **souches hématopoïétiques** (HSC, « Hematopoietic Stem Cells ») capables d'autorenouvellement. Les HSC, présentes dans le foie fœtal lors de l'embryogenèse, migreront dans la moelle osseuse avant la naissance et pour toute la vie de l'individu (Kondo et al., 1997; Mikkola & Orkin, 2006; Seita & Weissman, 2010). Ces dernières pourront ainsi s'y différencier en **progéniteurs myéloïdes** (CMP) et **lymphoïdes communs** (CLP), à l'origine de l'ensemble des cellules myéloïdes et lymphoïdes, respectivement.

#### 2.1.1. Chez l'homme

Le **CLP**, de phénotype **Lin-CD34+CD45RA+CD10+CD117-**, peut emprunter trois voies de différenciation différentes selon le stimulus cytokinique reçu : le lignage T/NKT, le lignage B ou enfin le lignage des ILCs (Blom & Spits, 2006; Kohn et al., 2012). Ces cellules sont capables de migrer et se différencier au sein de **sites extramédullaires** (Freud et al., 2014) vers le premier progéniteur d'ILCs

décrit : le progéniteur amygdalien précoce, l'ETP1 (« Early Tonsillar Precursor 1 », **stade S1**). Ce dernier, reconnu par la **perte du CD45RA**, est principalement observé au sein d'**organes lymphoïdes secondaires** (OLS) (i.e. : Amygdales, ganglions lymphatiques, rate) et se différencie en **ETP2 (stade S2A)**, avec la **perte du CD10** et l'**acquisition concomitante du CD117** (Freud et al., 2006; Scoville et al., 2019). *In vitro*, les ETP semblent toujours capables de se différencier en LT et DC (Freud et al., 2006). La surexpression du **récepteur à l'IL-33 (ST2)** traduira l'état de **CILP** (« Common Innate Lymphoid Progenitor », **stade S2B**), le progéniteur d'ILCs le plus précoce décrit à ce jour (Scoville et al., 2016). Par la suite, de ce stade émerge le dernier progéniteur trans-ILC décrit, l'**ILCP** (« Innate Lymphoid Cells Progenitor »), observé grâce à l'acquisition du phénotype **Lin-CD34-CD117+ST2+CD7+CD127+**. Ce progéniteur est présent dans le **foie foetal** mais également chez l'adulte, aussi bien dans la **moelle osseuse** que dans la **circulation** et les **tissus périphériques** (Lim et al., 2017). Trois sous-populations d'ILCP ont été décrites : les **ILCP NKp46+** capables de se différencier en **ILC3/LTi** avec l'implication du facteur de transcription **RORyt** (Luci et al., 2009; Sanos et al., 2009), les cellules **CD56-KLRG1+** se différenciant majoritairement en **ILC2** (dépendante des facteurs de transcription **GATA3** et **RORa** (Vivier et al., 2018)) et enfin la population **CD56+** (également appelée **rILCP, stade S3**) (Chen et al., 2018). Ce dernier progéniteur aura ainsi le potentiel de se différencier en **ILC1** et **ILC3**, avec l'induction des facteurs de transcription **Tbet** ou **RORyt** respectivement, ou enfin vers le **lignage NK (stade S4A)** avec l'induction des facteurs de transcription **Tbet, Eomes et Notch** (Lopes et al., 2023; Vivier et al., 2018). Enfin, ce stade S4A, observé grâce à l'acquisition du marqueur **CD94** et la perte progressive d'expression du marqueur **ST2** et **CD117** (Nalin et al., 2020), se différencie en **NK fonctionnelles** qui poursuivront leur maturation, décrite ci-dessous en **figure 2**.

### 2.1.2. Chez la souris

Comme chez l'homme, le **CLP** murin se distingue par l'absence de marqueurs de lignage. Il est ainsi identifié par l'acquisition du **CD127** et le phénotype **Lin-CD127+CD135+CD117lowSca-1low** (Karsunky et al., 2008). Ce dernier, capable de générer des lymphocytes B (LB), peut également se différencier en **αLP** (« α Lymphoid Progenitor ») **Lin-CD127+CD135+/-α4β7+CXCR6+/-**, sous l'influence des facteurs de transcription **Nfil3** et **Tox** (Scoville et al., 2019). Au sein de ces cellules, seule la population **CD135-CXCR6+** est spécifiquement orientée vers les lignages ILCs, et peut atteindre, sous l'action du facteur de transcription **Tcf1**, le stade de **sEILP** (« specified Early ILC progenitor ») **CD127-** (Chen et al., 2016; Harly et al., 2019). Le sEILP, capable de générer des cellules myéloïdes, peut également s'orienter vers le premier progéniteur étant strictement restreint à la genèse d'ILCs, le **cEILP** (« Committed EILP ») puis en **progéniteur lymphoïde inné commun CILP** (« Common Innate Lymphoid Progenitor ») **Lin-CD127+CD135lowCD117+α4β7+CD244+CD27+NK1.1+**. Ainsi, ce dernier qui pourra à son tour s'engager dans une voie de différenciation restreinte aux NK et devenir le **progéniteur R-NKP** (« refined NK Progenitor ») **Lin-2B4+CD27+CD122+CD7+NK1.1-NKp46-Tbet+Eomeslow**, ou s'orienter vers le stade de **progéniteur commun des ILCs auxiliaires CHILP** (« Common Helper-like ILC progenitor ») **Lin-CD127+CD135-CD117+CD244+α4β7+CD25-ST2-Tcf7+Id2+Nfil3+** (Constantinides et al., 2014; Lopes et al., 2023; Xu et al., 2019). Il existe deux sous-populations de CHILP, différenciées sur la base de leurs expressions des facteurs de transcription **GATA3** et **PLZF**. Les CHILP exprimant faiblement ces facteurs de transcription se différencient en **LTi**, tandis qu'une forte expression mène à l'émergence du dernier progéniteur **trans-ILC décrit**, l'**ILCP** (« ILC Committed Precursors ») **Lin-CD127+CD117+CD244+α4β7+PD1+IL25R+** (Xu et al., 2019; Yu et al., 2016; Zhong et al., 2020). Un progéniteur commun aux NK et ILC1, découlant des ILCP, a récemment été proposé, appelé « **ace-NKP** » (Rodriguez-Rodriguez et al., 2022). Ces cellules ace-NKP sont caractérisées par l'expression des récepteurs **NKG2A/C/E** (Lin-CD127+CD25-NKG2A/C/E+) et correspondent au seul progéniteur capable

de donner exclusivement naissance à des NK et ILC1 décrit à l'heure actuelle. De plus, les progéniteurs **ILCP** peuvent se différencier en précurseurs engagés dans leurs lignages de manière définitive, à savoir les **R-NKP**, **ILC1P**, **ILC2P**, **ILC3P**. Ces derniers se différencieront ainsi en **NK**, **ILC1**, **ILC2** et **ILC3**, sous l'influence des facteurs de transcription **Eomes+Tbet**, **Tbet +/- Hobit**, **Gata3+Bcl11b+Rora** et enfin **Rorc**, respectivement (Constantinides et al., 2014; Friedrich et al., 2021; Xu et al., 2019).

## 2.2. Processus de maturation

Chez l'homme comme chez la souris, la maturation des NK est un processus complexe et progressif observé au sein de tissus extra-médullaires (**Figure 2**). Cette maturation peut être monitorée via le suivi de **modifications phénotypiques** et est associée à des **différences fonctionnelles** qui seront discutées plus tard dans ce manuscrit. Malgré des différences majeures entre l'homme et la souris, les liens entre maturation, profils épigénétiques et transcriptomiques, localisations anatomiques et capacités fonctionnelles semblent globalement converger entre les deux espèces.

### 2.2.1. Une maturation séquentielle

Chez l'homme, différentes études suggèrent un modèle linéaire de maturation des NK. En effet, le **stade S4A**, sous les effets du facteur de transcription Notch, mature vers le **stade 4B NKp80+** (Freud et al., 2016; Nalin et al., 2020), correspondant aux NK dites **CD56<sup>Bright</sup>**. Différentes observations cliniques et expérimentales suggèrent que ces cellules sont à l'origine des NK **CD56<sup>Dim</sup> précoces (stade S5)** qui présentent une expression plus faible du CD56 et acquièrent **CD16a** (FcγRIIIA) (Collins et al., 2019; Huntington et al., 2009; Mace et al., 2013; Yu et al., 2010). En accord avec ce modèle, des intermédiaires de différenciation exprimant **CD62L** (L-selectine) (Juelke et al., 2010) et **CD94** (Yu et al., 2010) ont été identifiés. Par la suite, ces cellules évoluent progressivement vers un stade de maturation tardif, dit **terminalement différencié** ou **stade S6**, mis en évidence par une perte du récepteur **CD94/NKG2A** et l'acquisition concomitante et progressive de récepteurs **KIRs** (Killer-cell Immunoglobulin-like receptors) ainsi que des marqueurs **CD57** et **NKG2C** (Collins et al., 2019; Dogra et al., 2020; Freud et al., 2016; Scoville et al., 2017). Par ailleurs, les NK **CD56<sup>Bright</sup>** et les **CD56<sup>Dim</sup>** présentent de nombreuses différences dans leur spectre d'expression de **récepteurs aux chimiokines** et de **molécules d'adhésion**, influençant à la fois leurs **capacités migratoires intrinsèques** et leurs **localisations anatomiques**. Ces différences, que nous détaillerons plus loin, permettent la localisation préférentielle des NK **CD56<sup>Bright</sup>** au sein des **OLS** et aux NK **CD56<sup>Dim</sup>** de rejoindre la **circulation** (Dogra et al., 2020; Poli et al., 2009; Yu et al., 2013). Ainsi, les **NK circulantes**, principale population étudiée au cours de nos travaux, sont composées à ~90-95% de cellules **CD56<sup>Dim</sup>** contre ~5-10% de **CD56<sup>Bright</sup>** (**Figures 2 et 7**).

Chez la souris, les **R-NKP**, orientés vers le lignage NK, évoluent en **NK immatures (iNK)** qui migrent en **périphérie** pour poursuivre leur maturation (Chiossone et al., 2009; Grégoire et al., 2007; Jenne et al., 2009). Cette transition de progéniteur à cellule NK différenciée s'accompagne de modifications phénotypiques, telles que l'acquisition des marqueurs **NKp46** et **NK1.1**. La première étape majeure menant à la genèse de **NK matures et fonctionnelles**, s'initie avec l'expression du marqueur **CD49b** (DX5) et **Ly49** (Constantinides et al., 2015; Fathman et al., 2011). Par la suite, différentes évidences démontrent une maturation progressive des NK, mesurable par les niveaux d'expression des marqueurs **CD27** et **CD11b**, avec le modèle linéaire suivant : **CD11blowCD27high**, **CD11bhighCD27high**, jusqu'au stade **terminalement mature** **CD11bhighCD27low** (Chiossone et al., 2009; Hayakawa & Smyth, 2006).



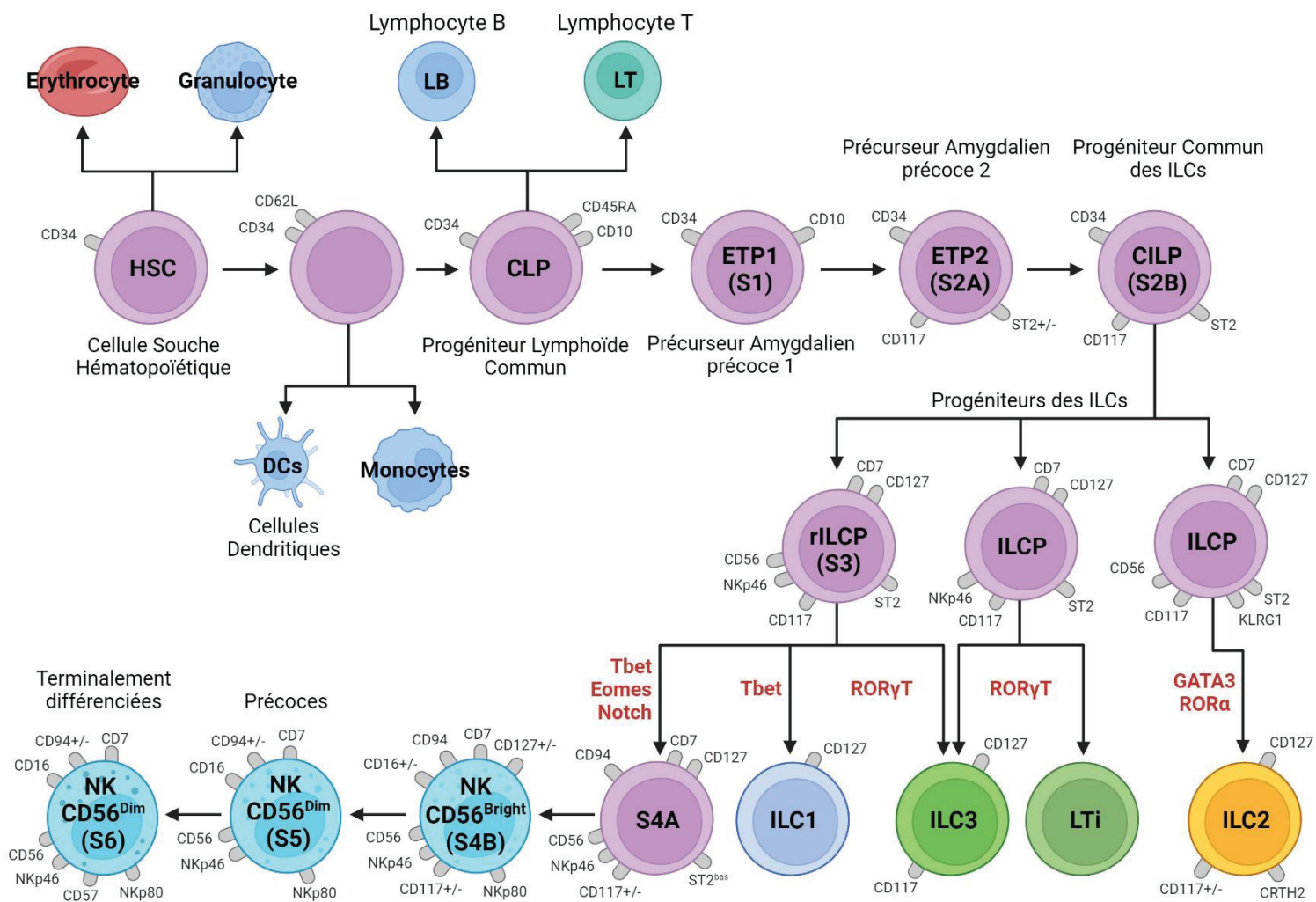
De plus, au sein des deux espèces, le modèle actuel d'« **ILC-poiese** » propose une migration des progéniteurs d'ILC vers les tissus périphériques. Il a récemment été démontré que ces **progéniteurs extra-médullaires résidents** représentent un **réservoir local** pour la génération d'ILCs matures (NK/ILC1/ILC3) *in situ* sous l'influence de signaux locaux spécifiques (Bai et al., 2021; Kokkinou et al., 2022; Lim et al., 2017; Zeis et al., 2020). Dans le cas des ILC1 murines, une étape supplémentaire de maturation menant à l'émergence d'une population d'**ILC1 aux propriétés cytotoxiques** a pu être observée dans le foie, les glandes salivaires, les reins et les intestins (Friedrich et al., 2021).

### 2.2.2. Les facteurs de transcription, chefs d'orchestre des processus de maturation des NK

Tout au long de cette maturation progressive, différents **facteurs de transcriptions** jouent un rôle prépondérant dans son bon déroulement et assurent le fonctionnement des cellules NK. **RUNX2** est exprimé spécifiquement dans les NK **CD56<sup>Bright</sup>** puis drastiquement perdu dès l'émergence du stade **CD56<sup>Dim</sup>**, tandis que d'autres facteurs fortement exprimés verront leur expression progressivement diminuer à mesure de la maturation, tels que **TCF7**, **BACH2**, **LEF1** et **Eomes** (Collins et al., 2019; Holmes et al., 2021; Rückert et al., 2022; Townsend et al., 2004). En ce sens, la perte d'expression de **TCF7** est nécessaire à la maturation terminale des NK (Jeevan-Raj et al., 2017). À l'inverse le facteur de transcription **Bcl11b** n'est pas exprimé au sein de la population **CD56<sup>Bright</sup>** mais est acquis puis de plus en plus exprimé au cours des stades de maturation (Holmes et al., 2021). **ZEB2**, **BLIMP1** (PRDM1), **MAF**, **Nfil3** et **Tbet** (Collins et al., 2019; Rückert et al., 2022; Townsend et al., 2004) seront également surexprimés progressivement au cours de la maturation des NK. En ce sens, **ZEB2**, **BLIMP1** et **Bcl11b** sont des **répresseurs actifs des caractéristiques CD56<sup>Bright</sup>** au sein des **CD56<sup>Dim</sup>** (Collins et al., 2019; Holmes et al., 2021) (**Figure 7**). Chez la souris, ce ratio d'expression entre Tbet et Eomes, tout comme la diminution progressive d'expression de TCF7, sont également essentiels au bon déroulement du processus de maturation (Townsend et al., 2004; Wagner et al., 2020; Yang et al., 2020).

### 2.2.3. Le cas des NK adaptatives dans le modèle de maturation

Différents travaux suggèrent que les populations **NK adaptatives**, émergeant suite à des **infections virales** par CMV et que nous détaillerons plus tardivement, pourraient être considérées comme un stade de **maturation terminal parallèle** (Yu et al., 2013). En ce sens, ces cellules expriment très fortement les marqueurs **CD57** et **NKG2C** chez l'homme (Foley et al., 2012; Lopez-Vergès et al., 2011), et sont **Ly49H+Ly6C+CD43+KLRG1+CD27<sup>low</sup>** chez la souris (Sun et al., 2009).



**Figure 2 : Développement et maturation des ILCs chez l'Homme.**

Le développement précoce des cellules NK se fait dans la moelle osseuse à partir des progéniteurs lymphoïdes communs (CLP), eux-mêmes issus des cellules souches hématopoïétiques (HSC). Ces progéniteurs subissent ensuite des étapes successives de différenciation, aboutissant au développement des ILCs chez l'Homme.

### III. Des cellules aux fonctions complémentaires

Après activation, les NK assurent une réponse immunitaire optimale à travers différentes fonctions : (i) une **cytotoxicité directe rapide** et (ii) une **sécrétion massive et éclectique de cytokines**, ayant un rôle direct sur les cellules cibles mais également indirect en régulant l'attraction, la survie et les activités d'autres populations cellulaires, en particulier immunitaires.

#### 1. Des cellules tueuses professionnelles

Chez l'homme comme chez la souris, les cellules NK sont douées de cytotoxicité, via l'**induction de morts cellulaires programmées**, des cellules jugées étrangères ou dangereuses. De façon intéressante, les NK peuvent faire intervenir différents processus complémentaires pour assurer la lyse de leurs cellules cibles, tels que l'**exocytose de granules lytiques** ainsi que l'expression de **ligands de récepteurs de morts** (Figure 3).

#### 1.1. Cytotoxicité directe

##### 1.1.1. Granules lytiques, synapse immunologique et molécules effectrices

En accord avec leur rôle de sentinelles assurant la première ligne de défense de l'organisme, les NK humaines expriment **constitutivement** de nombreuses molécules effectrices assurant le processus de cytolyse, au sein de lysosomes cytoplasmiques préformés appelés **granules lytiques** (Lettau et al., 2007). Ces molécules étant hautement réactives, leur **exocytose** est **finement régulée** (Figure 3) (MacE et al., 2014; Topham & Hewitt, 2009). Ainsi, suite à une première **étape d'adhésion** de la NK médiée par l'engagement de l'intégrine **LFA-1** (CD11a, CD18) par son ligand ICAM-1 (CD54) exprimé à la surface de la cellule cible, se forme une **synapse immunologique complexe et dynamique** (Barber et al., 2004; Bryceson et al., 2005; MacE et al., 2014). Dans ce contexte, les interactions de multiples couples ligands/récepteurs exprimés à la surface des deux cellules, que nous détaillerons par la suite (page 34), conditionnent l'induction des fonctions cytotoxiques des NK. Dans le cas d'une activation, un remodelage actif du cytosquelette NK permet la tractation de ces granules jusqu'à cette synapse et la formation des **zones SMAC** (« supramolecular activation cluster ») (Orange, 2008). La fusion des membranes des granules avec la membrane plasmique permet la sécrétion des molécules effectrices, à savoir la **perforine**, les **granzymes** (Gzm) **A, B, H, K, M** et la **granulysine** (MacE et al., 2014; Orange, 2008; Trapani, 2001). De façon intéressante, l'expression de **GzmM** semble restreinte aux NK (Anthony et al., 2010; Smyth et al., 1995). Par ailleurs, d'autres Gzms, que nous ne détaillerons pas ici, ont été décrites chez la souris.

Ainsi, une fois libérées, les molécules de **perforine** se polymérisent et s'intègrent spécifiquement dans les **membranes plasmiques et endosomales** de la cellule cible pour y former des **pores** et permettre la formation de **canaux d'entrée** pour les Gzms (Law et al., 2010; Pipkin & Lieberman, 2007). En complément, le récepteur membranaire du **mannose-6-phosphate** permet une **entrée active par endocytose des Gzms** phosphorylées, qui seront libérées par l'action de la **perforine intracellulaire** (Motyka et al., 2000). Une fois au sein du cytosol de la cellule cible, ces sérines-protéases clivent leurs substrats et induisent l'activation de voies de signalisation menant à l'induction de **morts cellulaires programmées** (MacE et al., 2014; Topham & Hewitt, 2009; Trapani, 2001). Les différents travaux étudiant les déficiences en perforines, chez l'homme comme chez la souris, démontrent l'importance

de cette molécule pour assurer ces processus cytotoxiques (Kägi et al., 1994; Voskoboinik et al., 2006). En parallèle, les déficiences spécifiques en certaines Gzms semblent moins impactantes, suggérant une potentielle **redondance** entre les différents granzymes (Feehan et al., 2022; Smyth et al., 2003; Voskoboinik et al., 2006). Il semble important de notifier que les effets du GzmB sont bien mieux décrits que ceux des autres membres, bien que ces derniers soient également impliqués dans les réponses immunitaires au travers de processus complémentaires (Anthony et al., 2010; Bouwman et al., 2021; Sayers et al., 2001; Souza-Fonseca-Guimaraes et al., 2016; Zhong et al., 2011). Ainsi, le **GzmB** induit l'apoptose en clivant directement la **caspase effectrice 3** mais également indirectement, via le clivage de molécules en amont telles que la **pro-caspases initiatrice 8**. En parallèle, le **ciblage de la mitochondrie** occupe une place majeure dans les effets du GzmB. En effet, ce dernier peut induire la **dépolarisation mitochondriale** (Thomas et al., 2001) mais également cliver les **facteurs pro-apoptotique BID et ses substrats** (tels qu'ICAD, « inhibitor of caspase-activated DNase ») induisant des réactions en chaînes menant au relargage cytoplasmique du **cytochrome c mitochondrial**, et *in fine* à l'activation de la caspase 3 et à l'apoptose (Estella et al., 2006; Goping et al., 2003; Sutton et al., 2000). Le **GzmA** agit également, bien qu'à moindre mesure, via l'activation des caspases (Trapani, 2001) et le clivage de complexes mitochondriaux (Martinvalet et al., 2008). La **granulysine** quant à elle mène à la mort de cellules cibles en induisant des **flux ioniques léthaux** (Okada et al., 2003; Walch et al., 2014), mais participe également aux réponses immunitaires contre les bactéries intracellulaires en **altérant profondément leur intégrité membranaire** (Krensky & Clayberger, 2009) et en permettant la délivrance des **Gzms A et B** directement au sein de ces pathogènes (Walch et al., 2014).

Cependant, une surexpression des molécules anti-apoptotiques de la famille Bcl-2 inhibe totalement les effets de la GzmB et de la granulysine, démontrant l'importance des perturbations mitochondriales pour induire la mort cellulaire par ces molécules (Goping et al., 2003; Kaspar et al., 2001; Sutton et al., 1997). Les agents Bcl-2 étant fréquemment surexprimés par les cellules cancéreuses (Juin et al., 2013) et infectées (Kvansakul et al., 2017) pour assurer leur survie, des **mécanismes complémentaires sont mis en place par les NK pour assurer leurs fonctions cytotoxiques**. Ainsi, il a été récemment décrit que les NK sont capables de tuer le pathogène *Pseudomonas aeruginosa* extracellulaire via l'action du **GzmB**, mais également du **GzmH** (Feehan et al., 2022). Par ailleurs, les **Gzms M et K** seraient également à l'origine de l'induction de morts cellulaires indépendantes des caspases, avec des effets inchangés face à la surexpression des Bcl-2 (Kelly et al., 2004; Zhao et al., 2006). De plus, le **GzmA** est également impliqué dans l'induction de la **pyroptose**, une mort cellulaire hautement inflammatoire, via sa capacité à cliver et activer la **gasdermine B** (Zhou et al., 2020).

Il est intéressant de notifier que les différents Gzms présentent également des rôles **non cytotoxiques, mais participant néanmoins à l'immunosurveillance**. Parallèlement, le **GzmH** joue un rôle dans le clivage de certaines protéines essentielles aux fonctions virales, telles que l'inhibition de **GzmB** (Romero et al., 2009; Tang et al., 2012) là où les **Gzms M et K** inhibent la réplication du cytomégalo virus et virus de la grippe, respectivement (Jenkins et al., 2008; Pao et al., 2005; Van Domselaar et al., 2013; Zhong et al., 2011). De plus, les **Gzms A, K et M** participent à l'induction de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires régulant des réponses immunitaires (Anthony et al., 2010; De Poot & Bovenschen, 2014; Metkar et al., 2008). La présence extracellulaire de ces Gzms reste mal comprise à ce jour et pourrait suggérer i) un rôle actif de molécules résiduelles provenant des synapses immunologiques et/ou ii) une dégranulation active de ces molécules indépendante de ces synapses immunologiques.

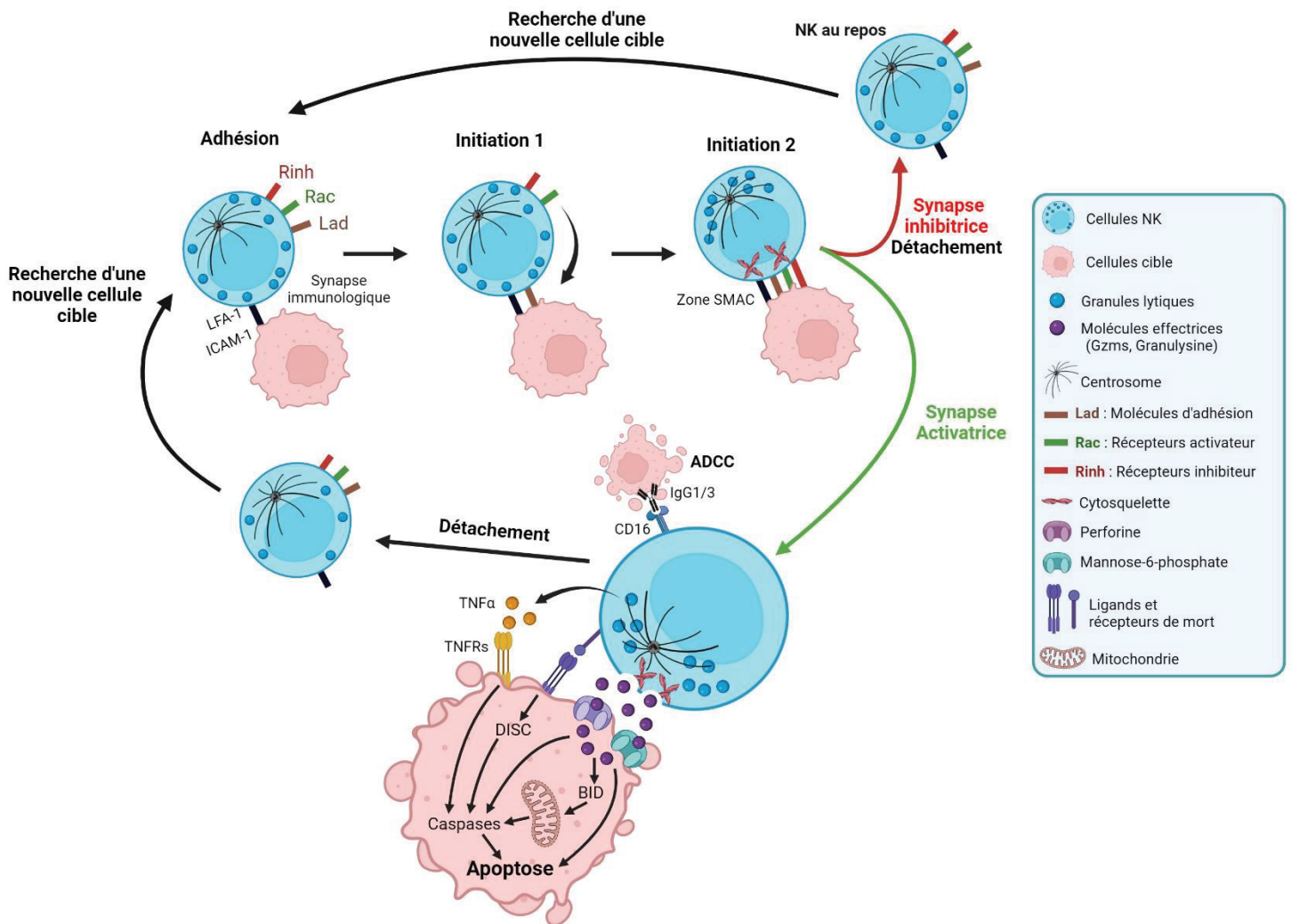
### 1.1.2. Les ligands de récepteurs de mort

En complément, les NK sont également capables d'induire la mort cellulaire grâce à l'expression de **ligands de « récepteurs de morts »**, induisant les voies de **signalisation extrinsèques de l'apoptose** après liaison de leurs récepteurs exprimés par les cellules cibles. Les ligands prépondérants sont **TRAIL** (« TNF-related apoptosis-inducing ligand », Apo2L, CD253) et **FasL** (Gonzalvez & Ashkenazi, 2010; Rossin et al., 2019), deux protéines transmembranaires de la famille des TNF. Après activation par stimulations cytokiniques ou engagement de récepteurs activateurs, **TRAIL est induit** tandis que **FasL sera surexprimé et mobilisé à la membrane** (i.e. par IL-2, IL-15 (Kayagaki et al., 1999), IL-12, IFN $\gamma$ /IFN-I (Smyth et al., 2001; Stegmann et al., 2010) et CD16, 2BA, LFA-1 (Chua et al., 2004)). L'engagement par ces ligands de leurs récepteurs respectifs, **TRAIL-R1/R2** (DR4/DR5) et **Fas** (APO-1, CD95) (Bodmer et al., 2002), entraîne le recrutement de protéines intracellulaires et la formation du **complexe DISC**, menant *in fine* à l'**activation de caspases** et à l'**apoptose** (Rossin et al., 2019). TRAIL et FasL ont ainsi été rapportés comme des acteurs importants de l'immunosurveillance médiée par les NK aussi bien dans des contextes tumoraux (Screpanti et al., 2001; Takeda et al., 2001), que viraux (Stegmann et al., 2010). Néanmoins, la description relativement récente de la forte expression de TRAIL par ILC1 pourrait suggérer un besoin de reconsidération de certains résultats, notamment obtenus à partir de cellules NK1.1+NKp46+ hépatiques, afin d'évaluer l'implication respective des NK et ILC1.

Enfin, les cellules NK sécrètent des **facteurs solubles ligands de récepteurs de morts**, tels que les **TNF $\alpha$**  et **TNF $\beta$** . Ces derniers, qui ont l'avantage majeur de pouvoir agir sur des cellules cibles à distance des NK, induiront des signalisations similaires menant à l'**apoptose** (Micheau & Tschopp, 2003; Ross & Caligiuri, 1997). De façon intéressante, ces effets sont optimisés par d'autres cytokines sécrétées par les NK, telles que l'**IFN $\gamma$**  (Woznicki et al., 2021). Nous détaillerons les fonctions sécrétrices des cellules NK plus amplement dans le **prochain paragraphe**.

## 1.2. Des tueurs en série grâce à un processus de cytolyse dynamique

Ces différents mécanismes pour induire la mort cellulaire sont **complémentaires**, non seulement puisqu'ils permettent de cibler des voies de signalisations différentes afin de contourner d'éventuelles résistances, mais également puisqu'ils permettent de maximiser le nombre de cibles que chaque NK peut lyser. Cette capacité de « **serial-killing** », se traduit par la capacité des NK à réaliser plusieurs fois le cycle : reconnaissance/formation d'une synapse immunologique/lyse de la cellule cible/détachement (Anft et al., 2020; Orange, 2008). Ainsi, différentes études de « cell tracing » ont pu mettre en évidence que **les mécanismes d'exocytose de granules lytiques et d'engagement des récepteurs de mort interviennent de façon séquentielle**. Lors des premiers contacts avec les cellules cibles, ces dernières sont lysées rapidement, quasi systématiquement grâce aux relargages des **molécules solubles effectrices perforines/granzymes**. Ces contacts induisent deux processus parallèles : (i) la diminution du stock limité de granules intracytoplasmiques et (ii) l'activation des cellules NK, menant à l'induction de l'expression des ligands de récepteurs de morts à leur surface. Ces deux paramètres concomitants entraînent ainsi la **commutation progressive du mécanisme cytotoxique** prépondérant mis en jeu, vers des lyses dépendantes de la voie des **récepteurs de mort** (Prager et al., 2019). Cela démontre l'importance de prendre en compte ces deux approches cytotoxiques, puisqu'elles sont nécessairement amenées à entrer toutes deux en jeu pour permettre une immunosurveillance optimale (**Figure 3**).



**Figure 3 : La cytotoxicité des NK, un cycle à étapes successives.**

L'adhésion d'une NK à sa cellule cible via l'interaction LFA-1/ICAM-1, conduit à la formation d'une synapse immunologique et à la réorganisation d'un réseau d'actine au sein des NK, permettant le regroupement de récepteurs régulateurs à cette synapse (zone SMAC). En cas d'activation, la polarisation du centrosome permet l'exocytose des granules lytiques et donc le relargage des molécules effectrices (i.e. Gzms, granulysine, perforine) au sein de la synapse. Ainsi, les pores formés dans la membrane de la cellule cible par la perforine permettent l'entrée des Gzms, activant les voies dépendantes et indépendantes des caspases. Parallèlement, les récepteurs de mort FasL et TRAIL participent également à l'activation des caspases. L'ensemble de ces processus mène à l'apoptose de la cellule cible. Enfin, l'ADCC repose sur l'interaction entre le récepteur CD16 sur les NK et le fragment constant des anticorps fixés à la surface d'une cellule opsonisée ou recouverte d'anticorps thérapeutiques. Cette interaction déclenche la lyse de la cellule cible via les mécanismes décrits ci-dessus.

### 1.3. La cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC)

Lors du processus d'**opsonisation**, les immunoglobulines de type G (IgG) produites par des LB/plasmocytes se fixent à l'antigène cible exprimé par des cellules perçues comme dangereuses (Ng et al., 2023). L'expression du récepteur activateur **CD16a (FcγRIIIA)** par les NK CD56<sup>Dim</sup> permet à ces dernières de se lier au **fragment constant (Fc)** de ces IgG, créant ainsi un **contact physique** entre la NK et la cellule marquée par l'anticorps. Cette interaction, couplée à l'engagement du CD16a, induit l'activation des NK et de leur **fonction cytotoxique dépendante des anticorps (ADCC)** (Pinto et al., 2022; Vivier et al., 1991). Cette aptitude est également particulièrement importante dans le cas de traitement par **anticorps thérapeutiques**.

## 2. Des cellules immunomodulatrices, sources de facteurs solubles médiateurs des réponses immunitaires

En complément et toujours en accord avec leur **rôle de sentinelles** activables indépendamment de la présentation antigénique, les NK représentent l'une des **premières sources locales de facteurs solubles** en réponse aux pathogènes, dès les phases les plus précoces des réponses immunitaires (Fauriat et al., 2010). Ces facteurs solubles ont des **effets directs** sur les cellules cibles et permettent également de réguler l'**attraction, l'activation, la survie et la prolifération** d'autres cellules effectrices, permettant des **réponses immunitaires globales, efficaces et adaptées** aux besoins immédiats de l'environnement (Demaria et al., 2019; Wolf et al., 2022). Ainsi, selon le contexte, les NK peuvent sécréter un large spectre de cytokines et chimiokines avec des rôles divers, complémentaires, voir opposés, telles que l'**IFNγ, TNFα, CCL3 (MIP-1α), CCL4 (MIP-1β), CCL5 (RANTES), XCL1 (lymphotactine), XCL2, M-CSF** (« Macrophage Colony-Stimulating Factor », CSF1), **GM-CSF** (« Granulocyte-M-CSF », CSF2), **Flt3L**, les interleukines **IL-5, -6, -8 (CXCL8), -10, -13, -22, -26, -32, -36γ, VEGF-A, VEGF-C, PDGF-AB** ou encore le **TGFβ1**. De façon intéressante, les ARNm de différentes cytokines, telles que l'**IFNγ, le TNFα, CCL3, CCL4, CCL5, XCL1, XCL2, Flt3L** et **IL-32** sont observés à l'état basal dans les NK humains et augmentent drastiquement suite à leur activation, permettant la **sécrétion rapide** et dans certains cas massive de ces cytokines (Demaria et al., 2019; Wolf et al., 2022). Au cours de ce travail, nous avons étudié d'une part l'impact de ces cytokines sur la biologie des NK et d'autre part la régulation de leurs sécrétions par ces dernières.

## 2.1. Initiation et amplification des réponses inflammatoires innées et adaptatives

L'**IFNγ** et le **TNFα** régulent directement les cellules dangereuses via des effets anti-prolifératifs, anti-métaboliques et pro-apoptotiques (Bouker et al., 2005; Ross & Caligiuri, 1997; Woznicki et al., 2021), mais assurent également l'initiation, le maintien et l'amplification des réponses innées et adaptatives, comme présenté ci-dessous.

### 2.1.1. Mobilisation de la réponse immunitaire

Les NK sont impliquées à plusieurs niveaux dans le recrutement et l'activation de nombreuses populations immunitaires effectrices. En effet, ces cellules participent à l'activation des cellules endothéliales et stimulent leurs capacités d'interaction avec les cellules immunitaires, notamment via les effets de l'**IFNγ** et du **TNFα** (Liao, 2013; Munro et al., 1989). En complément, les sécrétions des chimiokines telles que **CCL3** (Bluman et al., 1996), **CCL4** et **CCL5, XCL1/2** (Böttcher et al., 2018), **M-CSF**,

**GM-CSF** (Fehniger et al., 1999; Louis et al., 2020) et **Flt3L** assurent l'**attraction** et l'**activation** de cellules immunitaires (Böttcher et al., 2018; Dorner et al., 2002; Loetscher et al., 1996). Enfin, la sécrétion des cytokines **IL-26** et **IL-32** participe également à la création d'environnements hautement inflammatoires, notamment via l'induction de sécrétions de cytokines pro-inflammatoires (Heinhuis et al., 2011; Kim et al., 2005; Meller et al., 2015; Miot et al., 2015).

### 2.1.2. Maturation, polarisation et activation

L'**IFN $\gamma$**  et le **TNF $\alpha$** , agissent en synergie à plusieurs niveaux, notamment en permettant la maturation et l'activation des cellules présentatrices d'antigènes (CPAg). Ainsi, ces cytokines stimulent la **phagocytose des macrophages** et leur **polarisation vers le phénotype M1/Pro-inflammatoire** (Shapouri-Moghaddam et al., 2018), tout en induisant la **maturation et les activités de sécrétion des DCs** (Vitale et al., 2005; Walzer et al., 2005). En complément, les **M-CSF**, **GM-CSF** (Cuturi et al., 1989; Ushach & Zlotnik, 2016) et **Flt3L** (Barry et al., 2018; Maraskovsky et al., 1996), participent à la **survie des cellules myéloïdes** et stimulent leur **différenciation, prolifération** et niveau d'**activation**. L'**IL-26** quant à elle, interagit avec l'ADN extracellulaire libéré par les cellules mortes, permettant l'engagement des récepteurs Toll-Like 9 (**TLRs**) (Meller et al., 2015; Poli et al., 2017). L'**IFN $\gamma$**  assure un premier impact sur les réponses adaptatives en induisant la surexpression des CMH-I et -II et des molécules de co-stimulation par ces cellules (Ikeda et al., 2002) tout en stimulant, en synergie avec le **TNF $\alpha$** , la **présentation croisée de l'antigène** par les DCs (Deauvieau et al., 2015). Parallèlement, l'**IFN $\gamma$**  agit directement sur les lymphocytes adaptatifs en induisant la polarisation des LT CD4<sup>+</sup> en Th1, eux même producteurs d'IFN $\gamma$  (Martín-Fontecha et al., 2004; Morandi et al., 2006). En complément, l'**IL-32** stimule les activités cytolytiques des lymphocytes effecteurs (Kim et al., 2005; Park et al., 2012). Sur un autre versant adaptatif, la sécrétion d'**IFN $\gamma$**  régule les **réponses humorales** en participant à la **maturation des LB** (Zumaquero et al., 2019) tout en orientant la **commutation isotypique** de la chaîne lourde des anticorps sécrétés, vers l'isotype IgG2a (Huang et al., 1993; Snapper & Paul, 1987). L'**IFN $\gamma$**  augmente également l'**immunogénicité des cellules tumorales** via différentes voies (i) en induisant des molécules de CMH-I/-II, (ii) en augmentant leur expression de molécules nécessaires à la création de synapses immunologiques et enfin (iii) en stimulant leurs sécrétions de chimiokines telles que CXCL9, permettant *in fine* leur élimination par les lymphocytes cytotoxiques (Ikeda et al., 2002; Tshering et al., 2023; Wang et al., 2012). Pour optimiser l'ensemble de ce processus d'immunosurveillance, l'**IFN $\gamma$**  et le **TNF $\alpha$**  limitent également l'**émergence** et les **fonctions des populations immunosuppressives** innées (ILC2 (Moro et al., 2016)) et adaptatives (LTh2 (Paludan, 1998) et LT régulateurs (LTreg) (Cao et al., 2009; Nie et al., 2013)).

### 2.1.3. Des rôles dans l'angiogenèse

Il a été démontré que l'**IFN $\gamma$**  inhibe le processus d'angiogenèse (Hayakawa et al., 2002; Sun et al., 2014). Néanmoins, les NK de l'utérus (uNK), en particulier de l'endomètre (NK déciduales, dNK (Koopman et al., 2003)) et du placenta sont en interaction étroite avec les trophoblastes et sont impliquées dans les processus nécessaires à l'homéostasie de ces environnements (i.e. angiogenèse et immunotolérance), notamment via la sécrétion de cytokines telles que le **VEGF-A**, **VEGF-C** (Kalkunte et al., 2009), **PDGF-AB** (Gao et al., 2017) et l'**IL-8** (Hanna et al., 2006; Montaldo et al., 2012; Vacca et al., 2008). Dans d'autres contextes, les NK participent également aux réponses hypoxiques via la production de **facteurs pro-angiogéniques** (Hawke et al., 2020). De plus, ces facteurs peuvent œuvrer en coopération avec l'**IFN $\gamma$** , le **TNF $\alpha$**  et les **cytokines de chimioattraction** pour favoriser une infiltration leucocytaire locale optimale (Krebs et al., 2022; Sasso et al., 2021). Dans cette logique, la **chimiokine**



**CCL5** a récemment été associée à des fonctions pro-angiogéniques, notamment via son oligomérisation et interaction avec des glycosaminoglycanes (GAGs) (Aldinucci et al., 2020; Suffee et al., 2017; Wang et al., 2015).

## 2.2. Des cytokines aux rôles pléiotropes, parfois pathogéniques

Néanmoins, le système immunitaire est naturellement programmé pour être en constante auto-régulation afin d'éviter toute réponse inflammatoire excessive qui pourrait provoquer des dommages tissulaires et/ou s'avérer être préjudiciable pour l'organisme. En accord avec cela, des études récentes ont mis en évidence des actions inattendues de certaines cytokines pro-inflammatoires en cas d'**expositions prolongées**. Il apparaît ainsi que, malgré des rôles essentiels à la mise en place de réponses immunitaires rapides, les **sécrétions soutenues et prolongées** d'**IFN $\gamma$** , de **TNF $\alpha$**  et d'**IL-32** participent à la mise en place de **boucles de rétrocontrôle négatif**, via la mise en place de réponses immunosuppressives (Ohmatsu et al., 2017; Pierini et al., 2016; Zaragoza et al., 2016), que nous décrivons plus en détail dans le **chapitre 3**. En complément, une littérature émergente identifie l'**IFN $\gamma$** , dans ces mêmes contextes, comme un inducteur de l'**hétérogénéité clonale**, de la **plasticité phénotypique et fonctionnelle** et de la **faible immunogénicité** des cellules tumorales au travers de mécanismes que nous décrivons également en **chapitre 3** (Abiko et al., 2015; Mazet et al., 2023; Takeda et al., 2017; Tshering et al., 2023).

De plus, dans certains contextes pathologiques, les NK peuvent eux-mêmes devenir une source de **facteurs immunosuppresseurs** impliqués dans l'atténuation de l'inflammation et la réparation des tissus, tels que l'**IL-5** (Takatsu, 2011; Walker et al., 1998), l'**IL-13** (Cooper et al., 2001; Hoshino et al., 1999) ou encore l'**IL-22** (Kumar et al., 2012). Néanmoins, ces travaux ayant été menés avant la découverte des ILC2 et ILC3, l'implication de ces cellules dans ces processus reste à être évaluée, bien que la sécrétion d'**IL-22** par des cellules NCR+NK1.1+CD127-ROR $\gamma$ t ait été confirmée (Kumar et al., 2012). De surcroît, la mise en évidence de NK producteurs d'**IL-10** (Cooper et al., 2001; Jiang et al., 2018; Perona-Wright et al., 2009) et de **TGF $\beta$ 1** (Jiang et al., 2018; Ramírez-Ramírez et al., 2019), laisse émerger la notion de « NK régulateurs », par homologie aux LTreg et LBreg, malgré l'absence d'expression de FOXP3. Ces cytokines inhibent l'ensemble des populations effectrices d'une part, et participant à l'induction, l'activation et la prolifération de cellules immunosuppressives et pro-tumorales d'autre part (i.e. Treg, Breg, DC tolérogéniques, MDSC, Macrophages M2, Cancer-Associated Fibroblasts) (Cao et al., 2010; Esebanmen & Langridge, 2017; M. O. Li et al., 2006; Yoon et al., 2021). Enfin, le TGF $\beta$ 1 est un inducteur majeur du **processus de transition épithélio-mésenchymateuse** (EMT) (Xu et al., 2009). Dans le cas des NK, bien que les effets autocrines de l'**IL-10** restent sujets à débat, le **TGF $\beta$ 1** inhibe fortement leurs fonctions effectrices et induit leur conversion en ILC1-like, un processus que nous aborderons en détail en **page 63** (Gao et al., 2017; Hawke, Mitchell, et al., 2020). Néanmoins, les descriptions de NK productrices de TGF $\beta$ 1 et des raisons menant à leur émergence sont peu nombreuses, limitées et parfois indirectes.

Enfin, dans ces contextes pathologiques, les propriétés pro-angiogéniques des NK, médiées par le **VEGF-A**, **VEGF-C** (Kalkunte et al., 2009), **PDGF-AB** (Gao et al., 2017), l'**IL-8** (Hanna et al., 2006; Montaldo et al., 2012; Poznanski et al., 2017; Vacca et al., 2008), **CCL5** (Aldinucci et al., 2020; Suffee et al., 2017) ou encore le **TGF $\beta$ 1** (Pepper, 1997), peuvent être détournées sous l'action de l'hypoxie et/ou du TGF $\beta$ 1 lui-même (Gao et al., 2017; Hawke, Whitford, et al., 2020), en faveur de la progression de la pathologie. Parallèlement, le **VEGF-A** inhibe la maturation des DCs (Gabrilovich et al., 1996) et assure le maintien

des activités des LTreg (B. Li et al., 2006; Terme et al., 2013), tandis que l'**IL-8** et le **VEGF-C** participent à l'inhibition des NK (Lee et al., 2014; Wu et al., 2019).

Comme nous le verrons dans un paragraphe suivant, certains de ces facteurs sont sécrétés préférentiellement, voire spécifiquement, par certaines sous-populations de NK (**Figure 7**) ou suite à des stimulations spécifiques. Différentes études démontrent également des cinétiques et amplitudes de sécrétions différentes, dépendantes du contexte (Fauriat et al., 2010; Fehniger et al., 1999). A titre d'exemple, les sécrétions de CCL3/CCL4 sont extrêmement précoces suite à l'activation des NK (quelques minutes), tandis que les sécrétions de TNF $\alpha$  et à plus forte raison d'IFN $\gamma$ , apparaissent plus tardivement (quelques heures) (Fauriat et al., 2010). Ainsi, au travers de leur **large arsenal de cytokines et chimiokines sécrétées**, les NK participent activement et de façon finement régulée au **remodelage profond de leur environnement** afin de l'adapter selon les besoins immédiats. Il apparaît cela dit que la majorité de ces facteurs solubles sont **pléiotropes** avec des effets parfois opposés, suggérant l'importance de considérer l'ensemble des acteurs coexistant au sein d'un environnement.

### *3. La prolifération et survie*

**A l'état basal** et en l'absence de signaux extérieurs, les **NK ne prolifèrent pas et ont une survie limitée** dans le temps. Bien que ne pouvant être considérée comme une fonction effectrice, la prolifération de ces cellules n'en reste pas moins une **fonction cellulaire induite et régulée**, via des processus que nous décrivons par la suite, jouant un rôle majeur dans leurs capacités à assurer leurs rôles effecteurs.

## Chapitre 2- Les NK, une régulation fonctionnelle fine, continue et dynamique

Les facteurs régulant l'état de fonctionnalité et d'activation des NK sont nombreux et divers. Il est ainsi possible de distinguer les **facteurs intrinsèques à la cellule** et les **signaux environnementaux immédiats**, que nous détaillerons dans cette section. Les facteurs intrinsèques, liés à la cellule elle-même, tels que son **éducation**, son **stade de maturation**, ses **activations passées** ou son **état métabolique**, conditionnent son potentiel fonctionnel. Les signaux environnementaux immédiats, **activateurs** et **inhibiteurs**, quant à eux influencent constamment et de façon dynamique l'état d'activation des NK à la suite d'un processus d'intégration complexe. Ces signaux environnementaux peuvent être catégorisés en trois groupes majeurs : **1) les ligands de récepteurs activateurs et inhibiteurs des NK**, **2) les cytokines et chimiokines** et **3) les paramètres physico-chimiques de l'environnement**. Chaque signal indépendant fait ainsi pencher la balance vers l'activation ou l'inhibition de ces cellules et mènera, ou non, à la **reconnaissance et lyse des cellules dangereuses** (i.e. infectées ou transformées/cancéreuses) (Caligiuri, 2008; Vivier et al., 2004), à la **sécrétion de cytokines** et/ou à la **prolifération**. Au cours de l'homéostasie, les signaux inhibiteurs dominent, permettant d'éviter tout impact délétère des NK envers les cellules du soi. Ces processus d'activation s'appliquent à l'ensemble des sous-populations NK. A noter qu'il existe certaines sensibilités spécifiques des différentes populations NK face à certains de ces signaux, selon leurs spécificités intrinsèques tels que leur **spectre de ligands/récepteurs** exprimés (Baume et al., 1992). Au cours de cette partie, nous nous concentrerons essentiellement sur les signaux et facteurs observés chez l'homme et n'aborderons que très peu les spécificités propres à la souris.

### I. Régulations par engagement des récepteurs activateurs et inhibiteurs

Les NK sont en constante interaction avec les cellules environnantes et sondent continuellement leur **potentiel pathogénique** via un large spectre de **récepteurs activateurs** et **inhibiteurs**. Trois modèles complémentaires décrivent l'importance des interactions ligands/récepteurs et de la **balance signalétique globale** qui en résulte dans l'état d'activation des NK. L'ensemble de ces modèles se base sur le niveau d'expression des ligands à la surface des cellules environnantes aux NK. Ainsi, le modèle d'**absence du soi** (« missing-self ») est observé lors de la perte d'expression de protéine du soi (Ljunggren & Kärre, 1990), celui du **soi induit** (« induced-self ») lors de l'expression anormale de molécules du soi par des cellules stressées (Raulet & Guerra, 2009) et enfin le **non-soi** (« non-self ») lors de l'induction de ligands étrangers, du non-soi, lors d'infections ou de greffes allogéniques (**Figures 4 et 8**).

La majorité de ces récepteurs sont classés en deux superfamilles, à savoir les **Ig-like** (« Immunoglobulines-like ») et les **récepteurs à Lectine de type C (CLR, « C-type Lectine-like Receptor »)**. La première regroupe les récepteurs **KIRs** (« Killer-cell Immunoglobuline Receptors »), **LIR-1** de la famille des **LIRs** (« Leucocyte Immunoglobulin-like ») et les **NCRs** (« Natural Cytotoxicity Receptors »). La deuxième superfamille est composée des récepteurs de type **NKG2**, de **NKR-P1A**, **NKp65** et **NKp80**. Ce sont les **voies de signalisations** induites par l'engagement de ces récepteurs qui conditionnent si ces derniers mènent à l'activation ou l'inhibition de la cellule. Les **récepteurs activateurs** se caractérisent ainsi par leur association avec des protéines intracellulaires (i.e. **DAP12**, **CD3ζ** ou **FcRγ**) à **motifs ITAM** (« Immunoreceptor Tyrosine-based activation Motifs ») riches en résidus tyrosine (Moretta et al., 2001; Wolf et al., 2022). Néanmoins, au sein de ces récepteurs, **NKG2D** présente la particularité d'impliquer **DAP10**, indépendamment de motifs ITAM mais au

fonctionnement similaire, bien qu'une isoforme murine issue d'un épissage alternatif ait pu être démontrée comme s'associant à **DAP12** (Gilfillan et al., 2002; Raulet, 2003). La liaison de ces récepteurs mène à la phosphorylation des résidus tyrosine de ces protéines intracellulaires, permettant le recrutement et l'activation de kinases, les plus classiques étant **Syk** et **ZAP70**. Ces protéines activent ensuite des voies de la **phosphoinositide-3 kinase (PI3K)** et/ou de la **phospholipase C gamma (PLC $\gamma$ )**, et *in fine* la voie de signalisation des **MAPK** (« Mitogen-Activated Protein Kinase ») (Dahlvang et al., 2023). Ces voies sont interconnectées, néanmoins, la voie PI3K est essentiellement associée à l'induction des fonctions de **sécrétions cytokiniques** et de la **survie cellulaire** tandis que la voie PLC $\gamma$  est hautement impliquée dans la régulation des **influx intracytoplasmiques calciques** indispensables aux fonctions effectrices des NK (i.e. **dégranulation**, **sécrétion cytokiniques**) (Li et al., 2022; Zhou et al., 2018). Les **récepteurs inhibiteurs**, quant à eux, bien qu'induisant des résultats diamétralement opposés, présentent un fonctionnement conceptuellement similaire. Ces derniers comportent des **motifs ITIM** (« Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif »), dont les résidus tyrosines sont phosphorylés suite à l'engagement du récepteur. Ces modifications structurelles permettent ainsi le recrutement et l'activation des tyrosines phosphatases **SHP-1** et **SHP-2** (Long, 2008), des inhibiteurs majeurs des voies de signalisation activatrices décrites ci-dessus. Par ailleurs, **DNAM-1** (« DNAX accessory molécule-1 », CD226) et **TIGIT** contiennent un **motif ITT** (« Immunoreceptor Tail Tyrosine »), basé sur les mêmes principes de fonctionnement que les ITAMs/ITIMs (Liu et al., 2013; Zhang et al., 2015).

De plus, comme nous le verrons au sein de cette partie, de nombreux autres récepteurs activateurs et inhibiteurs régulent les fonctions des NK, via des signalisations diverses, tels que les **récepteurs de co-stimulation** et de l'**immunité innée** ou encore les **molécules d'adhérence**.

## 1. Récepteurs inhibiteurs

### 1.1. Modèle d'absence du soi et récepteurs inhibiteurs spécifiques du CMH-I

Chez les mammifères, le **complexe CMH-I** est exprimé à la surface de toutes les cellules nucléées de l'organisme (Kulski et al., 2002). Ce complexe est associé à un peptide antigénique reconnu par les LT CD8+ et permet leur activation. Face à cette pression de sélection, les cellules pathogéniques tendent à diminuer fortement, jusqu'à perdre, l'expression de ce complexe (Fangazio et al., 2021; McGranahan et al., 2017). Néanmoins, étant le **marqueur du soi prototypique**, ce complexe constitue un puissant inhibiteur des NK. L'absence du CMH-I modifie ainsi fortement la balance signalétique intracellulaire des NK, résultant en l'activation de leurs fonctions (Ljunggren & Kärre, 1990). Ce cas de figure correspond au **modèle d'absence du soi** (**Figure 4**). Les NK expriment constitutivement plusieurs récepteurs inhibiteurs spécifiques aux complexes **CMH-I** (Wolf et al., 2022), bien que leur expression puisse être modulée.

Les **récepteurs glycoprotéiques KIRs** sont uniquement présents chez l'homme (mais au fonctionnement similaire à celui des récepteurs murins **Ly49**). Cette famille de récepteurs est complexe, hautement polymorphique et composée de membres inhibiteurs et activateurs (Campbell & Purdy, 2011). Nous détaillerons cette dernière catégorie dans un prochain paragraphe (**page 37**). Les membres inhibiteurs sont identifiés sous la nomenclature **KIRxDLy**, « x » représentant le nombre de domaines Ig-like extracellulaires, « L » faisant référence au domaine intracytoplasmique inhibiteur et enfin où « y » correspond au gène codant de la protéine (Middleton & Gonzelez, 2010). Il est ainsi possible de distinguer les récepteurs **KIR2DL1**, **KIR2DL2/3**, **KIR2DL4**, **KIR2DL5**, **KIR3DL1**, **KIR3DL3** et

**KIR3DL2**. Ces récepteurs sont spécifiques des molécules du CMH-I, à savoir les complexes **HLA-A, -B et -C**, propres à chaque individu (Middleton & Gonzelez, 2010). De façon intéressante, les cellules NK d'un même donneur expriment individuellement un spectre de KIRs différent et présentent donc un certain degré de disparité dans leurs processus de reconnaissance et d'activation.

En contexte homéostasique, **LIR-1** (LILRB1, ILT2, CD85j) reconnaît le domaine  **$\alpha 3$**  d'un large spectre de molécules du CMH-I, malgré une interaction préférentielle avec **HLA-G** (Chapman et al., 1999; Gamliel et al., 2018). De plus, ce récepteur est fortement engagé par la protéine **UL18**, homologue du CMH-I (Beck & Barrell, 1988), induite par infection CMV (Chapman et al., 1999; Prod'homme et al., 2007).

**NKG2A** (CD159a), et son isoforme (issue d'un épissage alternatif) **NKG2B** (CD159b), représentent des récepteurs inhibiteurs hétérodimériques complexés avec **CD94** (Brooks et al., 1997). Ces complexes interagissent spécifiquement avec les molécules dites non conventionnelles du CMH-I telles que **HLA-E** chez l'homme (Borrego et al., 1998; Braud et al., 1998) et **Qa-1b** chez la souris (Vance et al., 1998). L'engagement de NKG2A outrepassé les signaux activateurs individuels, inhibant les différentes fonctions des NK, notamment leur cytotoxicité (Bryceson et al., 2009; Houchins et al., 1997).

## 1.2. Récepteurs inhibiteurs non spécifiques du CMH-I

En complément, les NK expriment un spectre de récepteurs inhibiteurs reconnaissant d'autres ligands, **indépendants du CMH-I**, exprimés par les cellules cibles.

Les **récepteurs inhibiteurs NKR-P1** et **KLRG1** appartiennent à la famille des récepteurs à lectines de type G. Il existe plusieurs récepteurs NKR-P1 chez la souris, le plus décrit étant **NKR-P1B**, là où seul **NKR-P1A (CD161)** est exprimé chez l'homme. Ces récepteurs interagissent avec **Clr-b** et **LLT1**, respectivement (Balaji et al., 2018; Bláha et al., 2022), tandis que **KLRG1** participe à l'inhibition des cellules NK lors d'interaction avec les **cadhérines-E, -N et -R** (Ito et al., 2006). De manière similaire, les récepteurs **Siglec-3** (CD33), **-7** (CD328) et **-9** (CD329), induisent des signalisations inhibitrices au sein des NK suite à l'interaction avec l'**acide sialique** (Belisle et al., 2010; Hernández-Caselles et al., 2006), tout comme **LAIR-1** lors d'interaction avec le **collagène** (Horn et al., 2022; Lebbink et al., 2006).

Par ailleurs, différents **récepteurs co-inhibiteurs ne présentant pas de motif ITIMs**, tels que le couple **PD-1/PD-L1, CD96, TIGIT, CD112R, TIM-3** et **LAG-3** ont suscité un vif intérêt clinique au cours de ces dernières années. Ainsi, les binômes **CD96/TIGIT** et **TIGIT/CD112R** partagent les ligands **PVR** (Poliovirus Receptor, CD155) et **nectine-2** (CD112), mais **CD96** et **TIGIT** reconnaissent également des ligands spécifiques tels que la **nectine-1** (CD111) ou encore les **nectine-3** (CD113) et **-4**, respectivement (Chiang & Mellman, 2022). En plus des voies de signalisation inhibitrices induites lors de leur engagement, ces trois récepteurs présentent la particularité d'entrer en compétition avec le **récepteur activateur DNAM-1** pour la liaison des ligands **PVR** et **nectine-2** (Chiang & Mellman, 2022). Néanmoins, les **affinités** des couples **TIGIT/PVR, CD96/PVR** et **nectine-2/CD112R** sont plus fortes que celle impliquant **DNAM-1** (Dougall et al., 2017). De nombreux ligands de **TIM-3** ont pu être mis en évidence. Ainsi, TIM-3 interagit avec **Ceacam-1** et la molécule soluble **Galectine-9**, tous deux surexprimés par les cellules tumorales (Huang et al., 2015; Zhu et al., 2005), la **phosphatidyl-sérine** (PtdSer) exprimée par les cellules apoptotiques (Cao et al., 2007; Nakayama et al., 2009), et enfin l'**alarmine** HMGB1 libérée en cas de stress cellulaire (Chiba et al., 2012; Triebel et al., 1990). **LAG-3** (« Lymphocyte Activation Gene 3 ») présente une forte homologie structurelle avec la molécule CD4 et interagit de ce fait avec

les molécules du **CMH-II** avec une forte affinité (Huard et al., 1995). De plus, ce dernier reconnaît la **LSECTine** (« Liver sinusoidal endothelial cell lectin », CLEC4G) et la **FGL-1** (« Fibrinogen-like protein 1 »), exprimées par les cellules du foie et les cellules tumorales, mais aussi la **Galectine-3** et l'**α-synucléine** (Kouo et al., 2015; Mao et al., 2016; Wang et al., 2019; Xu et al., 2014). Le couple **PD-1/PD-L1** est également d'intérêt pour la régulation des activités NK puisque (i) ces deux molécules ont été décrites à la surface des NK et (ii) leur interaction permet la transduction d'une signalisation négative au sein des deux cellules impliquées (Hsu et al., 2018; Pesce et al., 2017; Trefny et al., 2020; Zhou et al., 2019). L'expression de **PD-1** par les NK est cependant sujet à controverse (Judge et al., 2020), car elle semble hautement dépendante du contexte et des réactifs utilisés (Del Zotto et al., 2020). De façon intéressante, l'émergence de NK PD1+ pourrait être due à des processus de **trogocytose** (Hasim et al., 2022). **PD-L1** quant à lui, est **fortement induit sur les NK activées** (Dong et al., 2019; Poloni et al., 2023). Enfin, l'engagement de **SIRPα** par son ligand **CD47** a récemment été identifié comme un signal inhibiteur fort au sein des NK (Deuse et al., 2021).

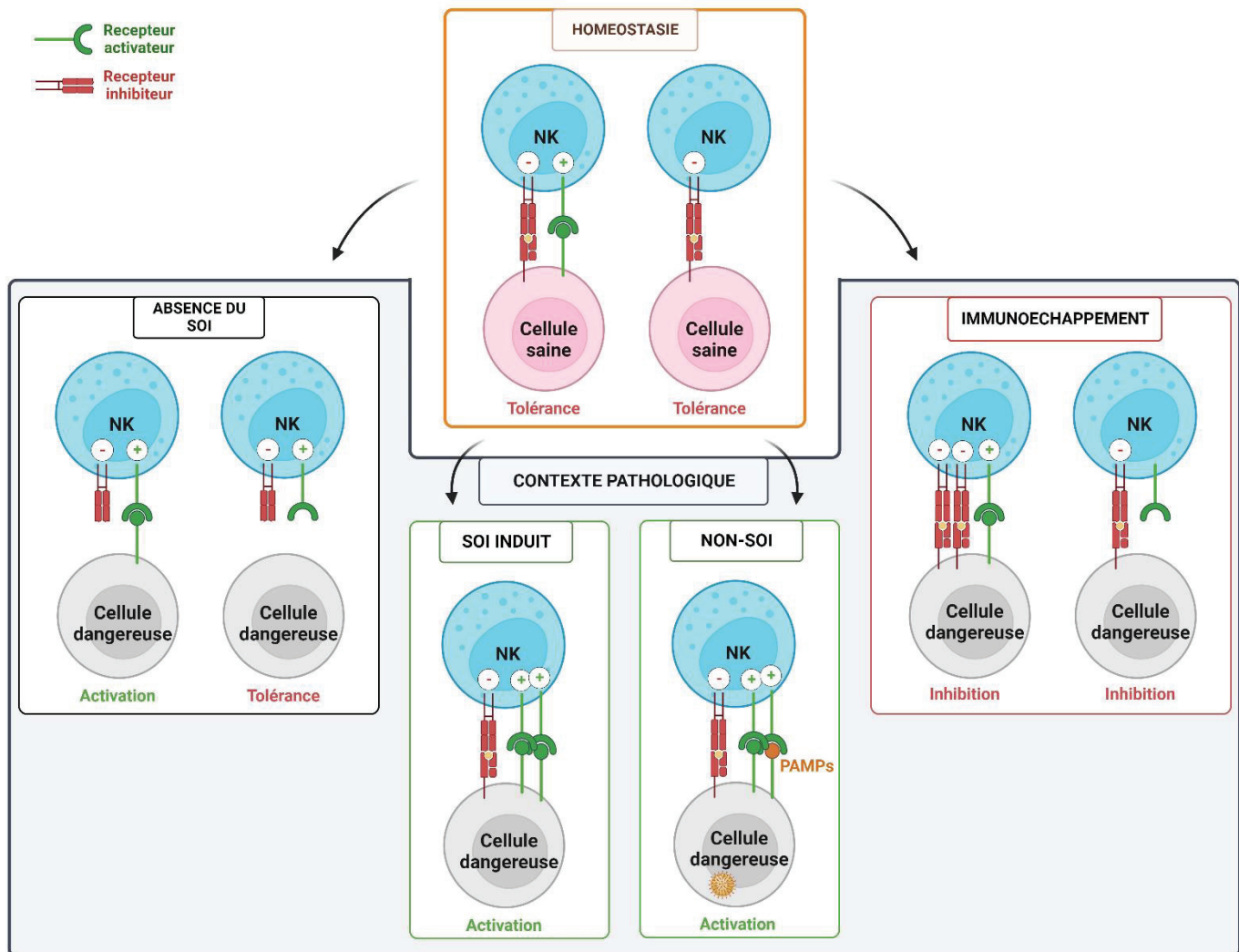
## 2. Récepteurs activateurs et modèles du soi induit et du non soi

Par opposition, les NK expriment également un large spectre de **récepteurs activateurs**. A l'exception des ligands de KIRs, la majorité de ces récepteurs est spécialisée dans la détection de ligands absents en condition physiologique/homéostasique, induits (**modèle du non-soi**) ou surexprimés (**modèle du soi induit**). Il sera ainsi possible de distinguer les ligands qualifiés de **PAMPs** (« Pathogen-Associated Molecular Patterns ») en cas d'**infection** ou de **DAMPs** (« Danger Associated Molecular Patterns ») observés en contexte de **stress** ou de **transformation néoplasique** (Eagle et al., 2009; Vivier et al., 2008) (**Figure 4**).

### 2.1. Récepteurs activateurs spécifiques du CMH-I

Contrairement à leurs homologues inhibiteurs décrits précédemment, certains récepteurs **KIR/Ly49 activateurs** participent aux stimulations des NK. Dans une même logique d'identification, la ces membres sont identifiés en tant que « KIRxDSy », avec « S » faisant référence au domaine intracellulaire activateur (Middleton & Gonzelez, 2010). Cette catégorie regroupe ainsi les récepteurs **KIR2DS1**, **KIR2DS2/3**, **KIR2DS4**, **KIR2DS5** et **KIR3DS1**. Ces KIRs reconnaissent également les molécules du **CMH-I**, bien qu'avec une affinité plus faible que leurs homologues inhibiteurs (Chewning et al., 2007; Stewart et al., 2005).

A l'image du récepteur inhibiteur NKG2A, les récepteurs **NKG2C** et **NKG2E** se dimérisent avec **CD94** et interagissent avec **HLA-E** ou **Qa-1b** chez l'homme (Orbelyan et al., 2014; Vietzen et al., 2021; Wolf et al., 2022) et la souris (Vance et al., 1999), respectivement. **NKG2D** (CD314), quant à lui, présente plusieurs spécificités en plus des voies de signalisation qu'il induit. Ainsi, ce récepteur est fonctionnel sous forme d'homodimère (Pegram et al., 2011) et reconnaît plusieurs ligands présentant une certaine homologie avec les molécules du CMH-I et **induites en condition de stress** (Eagle et al., 2009; Raulet, 2003; Shaim et al., 2021) : **MICA/B** (« MHC Class I related proteins A and B ») et les **différents membres ULBPs** (« UL16-binding proteins ») chez l'homme (Cosman et al., 2001; Shaim et al., 2021) et **Rae-1** (« Retinoic Acid Early inducible 1 »), **H60** et **MULT-1** (« Mouse ULBP-like transcript-1 ») chez la souris (Carayannopoulos et al., 2002; Diefenbach et al., 2001; Zingoni et al., 2018).



**Figure 4 : Modèles de régulation des NK par interactions ligands/récepteurs face aux cellules cibles.**

L'activation des NK dépend d'une balance entre signaux activateurs et inhibiteurs. Les NK expriment à leur surface des récepteurs activateurs (en vert) et des récepteurs inhibiteurs (en rouge). A l'homéostasie, les signaux inhibiteurs sont dominants, induisant la tolérance des NK envers les cellules du soi. L'absence de peptide du soi n'induit pas systématiquement un déséquilibre suffisant pour activer les NK. En contexte pathologique, la perte de ligands de récepteurs inhibiteurs (modèle d'absence du soi) ou la surexpression de ligands de récepteurs activateurs (modèles du soi induit et du non-soi, en cas d'expression de PAMPs (en jaune)) par les cellules cibles mènent à l'activation des NK. A l'inverse les NK peuvent être inhibées en cas d'acquisition et/ou de perte de ligands de récepteurs inhibiteurs ou activateurs, respectivement. PAMPs : Pathogen-Associated Molecular Patterns.

## 2.2. Récepteurs activateurs non spécifiques du CMH-I

Comme présenté au sein du paragraphe dédié à l'ADCC médiée par les NK, l'engagement du récepteur **CD16a** par l'interaction avec les fragments Fc d'IgG1 et 3 est un signal fort et suffisant pour l'activation et la cytotoxicité des NK (Pahl et al., 2018; Pinto et al., 2022). Par ailleurs, les voies de signalisation induites dans ce contexte permettent également la surexpression de **TRAIL** (Pahl et al., 2018).

Chez l'homme, les NK expriment trois NCRs, à savoir **NKp30** (CD337), **NKp44** (CD336) et **NKp46** (CD335) (Pende et al., 1999; Sivori et al., 1997; Vitale et al., 1998; Wolf et al., 2022). Seul NKp46 est également observé chez la souris (Walzer et al., 2007). Les NK **expriment constitutivement NKp30 et NKp46**, tandis que l'expression de **NKp44 requiert leur activation** (Cantoni et al., 1999). A l'inverse, l'activation des NK s'accompagne d'une diminution de l'expression de NKp46 (Sheppard et al., 2018; Walzer et al., 2007). Tous les NCRs reconnaissent les **héparanes sulfates** (Hecht et al., 2009; Zilka et al., 2005), tandis que seuls **NKp44 et NKp46** interagissent avec des **hémagglutinines virales** (Jarahian et al., 2009; Mandelboim et al., 2001). Pour ce qui est des ligands activateurs spécifiques, **NKp30** interagit avec la **Galectine-3, BAT3/BAG6** (« HLA-B-associated transcript 3 ») et la molécule de costimulation **B7-H6** (Brandt et al., 2009; Shaim et al., 2021; W. Wang et al., 2014) alors que **NKp44** a pour ligands **PDGF-DD** et **Nidogen-1** (Barrow et al., 2018; Gaggero et al., 2018). A noter, des ligands inhibiteurs de ces deux NCRs ont été mis en évidence : la protéine virale **pp65** et la molécule **PCNA** (« Proliferating Cell Nuclear Antigen »), respectivement (Arnon et al., 2005; Rosental et al., 2011). Enfin, NKp46 reconnaît la **vimentine** surexprimée par les cellules infectées (Garg et al., 2006), le **facteur P du complément** (CFP, Properdine) qui participe à l'activation de la voie alternative du complément (Narni-Mancinelli et al., 2017; Zhuang & Long, 2017) et enfin la **calréticuline externalisée** exprimée par les cellules stressées (Sen Santara et al., 2023), notamment lors d'infections par flavivirus ou des **processus de sénescence** ou encore de **mort immunogénique** (Bettigole & Glimcher, 2015; Kroemer et al., 2022). Les densités d'expression de ces récepteurs ont pu être corrélées avec les capacités cytotoxiques des NK (Thomas et al., 2008) et leurs inhibitions diminuent significativement ces mêmes capacités (H. Wang et al., 2012). En ce sens, l'engagement de ces derniers, au même titre que celui de NKG2D et CD16a, apparaît comme un signal suffisant pour induire les sécrétions cytokiniques des NK ainsi qu'une réponse cytotoxique efficace, notamment au travers d'une augmentation du processus de dégranulation et de l'expression des ligands de récepteurs de mort (Billadeau et al., 2003; Sheppard et al., 2018; Turchinovich et al., 2018).

A l'image du versant inhibiteur, les NK possèdent des **récepteurs co-activateurs indépendants des motifs ITAMs**. Ainsi, les récepteurs **NKp65** et **NKp80**, exprimés de manière constitutive (Freud et al., 2016, 2017; Thomas et al., 2008), reconnaissent les lectines de la famille CLEC **KACL** (« Keratinocyte-Associated C-type Lectin ») exprimées par les kératinocytes et **AICL** (« Activation-Induced C-type Lectin ») exprimée à la surface de monocytes activés, respectivement (Li et al., 2013; Spreu et al., 2010; Welte et al., 2006). **DNAM-1**, exprimée de manière constitutive (Shibuya et al., 1996), permet l'activation des activités effectrices des NK (Gilfillan et al., 2008; Nabekura et al., 2014; Zhang et al., 2015). Comme présenté ci-dessus, l'interaction avec ses ligands **PVR** et **Nectine-2** passe par un processus de compétition avec les récepteurs inhibiteurs **TIGIT**, **CD96** et **CD112R** (Bottino et al., 2003; Chiang & Mellman, 2022). Cette molécule joue également un rôle prépondérant dans l'expansion et le maintien des populations NK adaptatives induites par infections virales (Nabekura et al., 2014). Enfin, **4-1BB** (CD137, TNFRS9) quant à lui, est **induit sur les NK activées** (Cabo et al., 2021; Makkouk et al., 2017) et interagit avec son ligand **4-1BBL** exprimé par les **CPAg** (CD137L, TNFSF9) (Croft, 2003; Dharmadhikari et al., 2016). L'interaction de ces molécules permet l'activation des deux cellules engagées et participe donc fortement aux réponses immunitaires.

En complément, de nombreuses autres molécules de co-activation, que nous ne détaillerons pas ici car n'étant pas d'intérêt direct pour nos travaux, ont pu être décrites au sein des NK (i.e. **CD7** (Rabinowich et al., 1994), **CD27** (Takeda et al., 2000), **CD28** (Azuma et al., 1992), **CD40L** (Carbone et al., 1997), **CD44** (Sague et al., 2004; Sconocchia et al., 1997), **CD59** (Marcenaro et al., 2003), **CD160** (Rabot et al., 2007; Sun et al., 2018), **2B4** (CD244, SLAMF4) (Eissmann et al., 2005) et **ICOS** (CD278) (Ogasawara et al., 2002)).



### 3. Les récepteurs « Toll-like » de l'immunité innée

Plusieurs études ont montré que les NK expriment un répertoire varié de **récepteurs activateurs TLRs** (« Toll-like Receptors ») leur permettant de reconnaître des motifs pathogènes (**PAMPs**) et de dommages **DAMPs** (Takeda et al., 2003; Takeuchi & Akira, 2010). Malgré certaines divergences ponctuelles, différentes études transcriptomiques démontrent que les NK humaines expriment dès l'état basal, et à plus forte raison après activation, les ARNm codant l'ensemble des **TLR1 à 10** (Hart et al., 2005; He et al., 2013; Hornung et al., 2002; Veneziani et al., 2022). En ce sens, il a été rapporté que les NK purifiées répondent directement à des stimulations spécifiques des **TLR2** et **TLR5** par des protéines bactériennes (Chalifour et al., 2004; Marcenaro et al., 2008). En revanche, les mécanismes d'activation des NK par les ARN double brins sont controversés. En effet, il a été montré que l'engagement du **TLR3** par poly(I:C) stimule les **capacités cytotoxiques** des NK humaines purifiées (Hart et al., 2005; Pisegna et al., 2004; Schmidt et al., 2004), tandis qu'une étude contradictoire propose une activation via RIG-I et non TLR3 (Perrot et al., 2010). Néanmoins, l'induction d'une réponse fonctionnelle optimale des NK suite à l'engagement de **TLR1**, des **TLR endosomaux (TLR3, 7, 8 et 9)** et de **RIG-I** par leurs ligands respectifs (i.e miRNAs, poly(I:C), poly(A:U), loxoribine, R848, ODN CpGA/B) apparaît dépendante de cellules accessoires (notamment les DCs) et/ou de co-sigaux cytokiniques tels que les IL-2, -12, -15, -18, le TNF- $\alpha$  ou les IFN-I pour activer leurs **fonctions sécrétrices** (Ao et al., 2023; Girart et al., 2007; Hart et al., 2005; Perrot et al., 2010; Sivori et al., 2004; Veneziani et al., 2022). Certains travaux proposent des effets stimulants de ligands de **TLR3** et **TLR4** sur les fonctions sécrétrices des NK dès l'état basal. Cependant, ces études sont réalisées en présence d'IL-2, connue pour induire la réactivité aux stimulations par TLR dès les doses sous-optimales (Lauzon et al., 2006; Mian et al., 2010; Sivori et al., 2007). Le rôle de l'engagement de ces récepteurs sur les NK *in vivo*, en l'absence d'effets indirects via des cellules environnantes, n'a, à ma connaissance, jamais été évalué. Ainsi, l'utilisation de modèles murins présentant une déplétion spécifique de ces récepteurs au sein des NK, ou à l'inverse le transfert adoptif de NK sauvages au sein d'hôtes présentant une déficience constitutive pour ces récepteurs serait un apport intéressant à l'état de l'art actuel.

### 4. Les molécules d'adhérence et intégrines

Afin d'assurer leurs interactions cellulaires et tissulaires, les NK expriment un panel large et dynamique d'**intégrines** et de **molécules d'adhérence**. Au-delà de ce premier rôle, ces molécules permettent également de réguler les fonctions des NK via la **transduction de signaux** et l'**induction de voies de signalisations intracellulaires**. Premièrement, la molécule d'adhérence **CD56 (NCAM1)**, classiquement utilisée comme marqueur de lignage, induit l'activation directe des fonctions cytotoxiques au sein de la **lignée NK-92** (Gunesch et al., 2020), bien que des travaux supplémentaires seraient d'intérêt pour évaluer en détail le rôle joué par cette molécule au sein de NK primaires. Par ailleurs, l'engagement de l'**intégrine LFA-1**, en plus de son intérêt mécanique pour la stabilité de la **synapse immunitaire**, permet un **apport activateur à la balance signalétique** intracellulaire des NK (Barber et al., 2004; Urlaub et al., 2017). De même, l'engagement de la molécule d'adhésion **CD2 (LFA-2)** agit comme un signal de **costimulation** (Schmidt et al., 1988) qui s'avère d'ailleurs être particulièrement important pour les NK adaptatives (Liu et al., 2016; Rölle et al., 2016). De façon intéressante, l'engagement des récepteurs **CD2**, **CD16a** et **2B4** induisent des modifications structurelles de **LFA-1**, permettant d'augmenter son **avidité** pour ICAM-1 (Barber & Long, 2003; Urlaub et al., 2017). Aussi, l'interaction physique de **LFA-1** avec **DNAM-1**, une autre **molécule d'adhérence**, renforce l'induction de ces signaux intracellulaires (Shibuya et al., 1999; Shirakawa et al., 2006). L'ensemble de ces processus permettent ainsi d'optimiser et de renforcer le processus de

dégranulation des NK lors de la formation de synapses immunitaires (Shibuya et al., 1999; Shirakawa et al., 2006). L'engagement des **intégrines  $\beta 1$**  participe également à la régulation fonctionnelle des NK. Ainsi, les **intégrines  $\alpha 4\beta 1$**  (CD49d/VLA-4) et  **$\alpha 5\beta 1$**  (CD49e/VLA-5) contribuent également à l'induction de signaux activateurs intracellulaires (Mainiero et al., 2000; Palmieri et al., 1995). Enfin, les NK présentent le potentiel d'exprimer l'intégrine  **$\alpha E\beta 7$  (CD103)** une fois exposée au **TGF $\beta 1$** , un processus que nous détaillerons par la suite. Une équipe a pu démontrer à travers différents travaux, qu'une fois associée à son ligand E-cadhérine, cette intégrine assure un rôle de coactivateur au sein de lymphocytes T (Boutet et al., 2016; Le Floch et al., 2011). Il est ainsi possible que cette intégrine puisse transduire des signaux similaires au sein des NK une fois engagée, bien que les effets signalétiques du TGF $\beta 1$  puissent largement les contrebalancer.

Très récemment, l'impact de la **mécanosensibilité** des NK, des **propriétés mécaniques** de l'environnement et **des forces physiques perçues** sur leur fonctionnalité a gagné en intérêt. Différentes études démontrent ainsi que les NK, via leurs molécules d'adhésion, intégrines et canaux ioniques activés mécaniquement, présentent une **efficacité cytolytique proportionnelle à la rigidité** de leurs cibles et **forces mécaniques** appliquées (Friedman et al., 2021; Matalon et al., 2018; Santoni et al., 2021; Yanamandra et al., 2023).

## II. Les facteurs cytokiniques, des acteurs majeurs pour la biologie des NK

Par ailleurs, les **cytokines** représentent une deuxième catégorie majeure de signaux permettant aux NK de percevoir leur environnement immédiat et assurent une régulation fine, aussi bien quantitative que qualitative, de leur état fonctionnel (**Figures 5 et 8**). Ainsi, les NK expriment constitutivement les récepteurs à l'**IL-15**, **IL-21**, **IL-12**, **IL-27**, **IL-1 $\alpha/\beta$** , **IL-18**, **IL-8**, **TNF $\alpha$** , aux **IFNs (I et II)**, **IL-4**, **IL-10** ou encore aux **TGF $\beta$ s**, tandis que d'autres peuvent être induits, comme les récepteurs de l'**IL-2** et de l'**IL-33** (Clark et al., 2021; Leong et al., 2014; Ochayon et al., 2020). Au même titre que les interactions ligands/récepteurs, les cytokines peuvent transmettre des signaux aussi bien **activateurs** qu'**inhibiteurs**, mais peuvent également **polariser** le type de fonctions assurées par les NK. Ainsi, la nature des activités cellulaires stimulées est dépendante de l'**intensité**, la **durée** et du **type de signaux cytokiniques** impliqués (Cooper et al., 2001; Fehniger et al., 1999). Ces facteurs sont majoritairement produits par les cellules immunitaires, incluant les NK elles-mêmes comme présenté précédemment (**Figure 6**).

### 1. Les cytokines activatrices, un large ensemble participant aux fonctions pro-inflammatoires des NK

#### 1.1. Les cytokines pro-inflammatoires de la famille $\gamma c$ :

Les cytokines **IL-2**, **IL-7**, **IL-15** et **IL-21** stimulent les fonctions des NK et jouent un rôle prépondérant dans leur **survie**, leur **prolifération** et leur **cytotoxicité**.

L'ensemble de ces cytokines présentent différentes similitudes. Premièrement, ces facteurs se lient à un récepteur hétérodimérique composé de la **chaîne commune  $\gamma c$**  (CD132, IL-2R $\gamma$ ) et d'une sous-unité variable, à savoir l'**IL-7R $\alpha$  (CD127)** pour l'**IL-7** (Kondo et al., 1994), l'**IL-21R** (CD360) pour l'**IL-21** (Parrish-Novak et al., 2000) et enfin l'**IL-2/15R $\beta$**  (CD122) pour les **IL-2** et **-15** (Budagian et al., 2006; Malek & Castro, 2010). De plus, l'**IL-2** et **-15** présentent la particularité d'être respectivement présentées sous

forme de complexe avec les chaînes **IL-2R $\alpha$**  (**CD25**) et **IL-15R $\alpha$**  (CD215) (Budagian et al., 2006; Fehniger & Caligiuri, 2001; Malek & Castro, 2010), toutes deux surexprimées après activation (Marçais et al., 2014; Voss et al., 1992). En accord avec la teneur de nos travaux sur les rôles des cytokines **IL-2**, **-15** et à moindre mesure **-21**, nous nous concentrerons sur ces cytokines.

Malgré de fortes similitudes, ces cytokines présentent des spécificités dans leurs origines et rôles biologiques. Ainsi, l'**IL-15** est exprimée par les **DC conventionnelles (cDCs)**, les **monocytes/macrophages activés** et peut aussi bien être **trans-** que **cis-présentée** lors de **contacts physiques** inter-cellulaires (Dubois et al., 2002; Huntington et al., 2009; Lucas et al., 2007; Zaroni et al., 2013). L'**IL-2** et **-21** quant à elles, sont sécrétées par des cellules lymphocytaires, à savoir les **ILC3** ainsi que les **LT CD4+** et **CD8+ activés** pour l'**IL-2** et les **LT CD4+** et **NKT** pour l'**IL-21** (Coquet et al., 2007; Horowitz et al., 2010; Liao et al., 2011; Zhou et al., 2019). Vis-à-vis de l'émergence des NK, l'**IL-15** joue un rôle majeur dès les stades les plus précoces du lignage en assurant leur **développement**, leur **maturation** et leur **survie**. De ce fait, les souris avec un défaut dans l'**axe IL-15/IL15R $\beta$**  présentent une forte réduction de la population NK (Huntington et al., 2009; Kennedy et al., 2000; Lodolce et al., 1998). L'**IL-21** quant à elle, semble promouvoir la **maturation fonctionnelle** des NK (Brady et al., 2004; Harper et al., 2021) sans pour autant y être indispensable au vu du paysage immunitaire des souris **IL21R $^{-/-}$**  (Kasaian et al., 2002). Enfin, l'**IL-2** n'est pas requise pour les processus de différenciation ou de maturation des NK (Vosshenrich et al., 2005).

Au-delà des étapes de développement et de maturation, ces cytokines sont également hautement impliquées dans la biologie des **NK matures**. De façon intéressante, les effets biologiques de l'**IL-2** et **-15** évoluent selon la concentration utilisée. A **dose sous-optimale**, ces cytokines permettront la **survie** et la **prolifération** des NK, via la transduction des signaux menant à la phosphorylation et la dimérisation des facteurs de transcription **STAT-5a** (« Signal Transducer and Activator of Transcription ») et **STAT-5b** (Carson et al., 1994; Lin et al., 1995; Lin & Leonard, 2000; Zhang et al., 1999). En ce sens, les souris portant une déficience pour STAT5a/b, constitutive ou spécifique dans les NK, présentent un défaut important dans leur nombre de NK, associé à des défauts dans leurs réponses à l'**IL-2** et **-15** (Eckelhart et al., 2011; Imada et al., 1998). A plus forte dose, ces cytokines permettent l'activation supplémentaire de la kinase **mTOR** (Cluff et al., 2022; Mao et al., 2016; Marçais et al., 2014), véritable **inducteur du métabolisme** et donc des **fonctions effectrices** des NK, en particulier de leur **cytotoxicité** (Fehniger et al., 2007; Gasteiger et al., 2013; Kobayashi et al., 2005; Wu & Xu, 2010). Cependant, les NK maintenues en culture grâce à des doses sous-optimales d'**IL-2** ou **-15** présentent une cytotoxicité plus importante que les NK fraîches, démontrant que ces cytokines conditionnent les NK vers un état de fonctionnalité optimal face à des stimulations subséquentes dès les faibles doses. A titre d'exemple, les NK maintenues dans de telles conditions présentes d'ores et déjà des niveaux d'expression de **molécules effectrices de la cytotoxicité** plus élevés (Deblaker-Hohe et al., 1995; Fehniger et al., 2007), et des capacités d'adhésion par **LFA-1** améliorées (Barber & Long, 2003). Par ailleurs, l'**IL-21** joue un rôle similaire dans les régulations fonctionnelles des NK, bien qu'engageant d'autres voies de signalisation, à savoir l'activation préférentielle des **STAT1** et **STAT3** (Wendt et al., 2007). Néanmoins, des observations divergentes ont été rapportées quant aux effets biologiques de l'**IL-21** avec la démonstration d'un impact négatif de l'**IL-21** sur les NK murines, ce dernier antagonisant les effets pro-prolifératifs et pro-survie médiés par l'**IL-2** et **-15** (Brady et al., 2004; Kasaian et al., 2002). Ces effets négatifs semblant n'avoir été observés que chez la souris (Skak et al., 2008), ces divergences pourraient s'expliquer par des **différences inter-espèces**. Cette hypothèse serait en accord avec les descriptions cliniques de patients atteints de mutations des gènes **IL21** ou **IL21R** présentant des lymphopénies et dysfonctions du compartiment immunitaire NK (Erman et al., 2015; Kotlarz et al., 2013).

## 1.2. La famille de l'IL-12, un groupe aux rôles ambivalents

Les cytokines de la **famille de l'IL-12**, à savoir **l'IL-12, -23, -27, -35 et -39**, représentent d'autres acteurs importants dans la régulation de la biologie des NK. Cette famille présente la particularité d'être composée de **cytokines hétérodimériques**, interagissant elles-mêmes avec des **récepteurs hétérodimériques**. D'évidentes **similitudes structurelles** existent entre ces membres, puisque ces derniers sont composés des différentes combinaisons possibles entre les **sous-unités  $\alpha$  p19, p28 et p35**, et les **sous-unités  $\beta$  p40 et EB13** (Tait Wojno et al., 2019). Ces dernières présentent une affinité hautement préférentielle pour les sous-unités de récepteurs **IL-23R, IL-27R $\alpha$ , IL-12R $\beta$ 2, IL-12R $\beta$ 1 et gp130**, respectivement. Une fois engagés, **IL-23R et IL-27R $\alpha$**  permettent la phosphorylation de **STAT3, IL-12R $\beta$ 2 et IL-12R $\beta$ 1** celle de **STAT4** et enfin **gp130** est en amont de **STAT1** (Vignali & Kuchroo, 2012). Ainsi, la sous-unité **p40** peut s'associer à **p35** pour former l'**IL-12** ou avec **p19** pour former l'**IL-23**. L'**IL-27, -35 et -39** quant à elles, résultent de l'association d'**EB13** avec les sous-unités **p28, EB13 et p19**, respectivement (**Encadré 6**) (Mirlekar & Pylayeva-Gupta, 2021; Vignali & Kuchroo, 2012). Ces associations définissent donc de fait, à l'exception du cas de l'IL-35, les **triptyques cytokines/récepteurs/facteur de transcription dimérique** IL-12/IL-12R $\beta$ 1+IL-12R $\beta$ 2/STAT4+STAT4, IL-23/IL-23R+IL-12R $\beta$ 1/STAT3+STAT4, IL-27/IL-27R $\alpha$ +gp130/STAT1+STAT3, IL-39/IL-23R+gp130/STAT1+STAT3 (Mirlekar & Pylayeva-Gupta, 2021; Vignali & Kuchroo, 2012). L'**IL-35** présente quant à elle la singularité de pouvoir se lier aux **4 récepteurs** IL-12R $\beta$ 2/gp130, IL-12R $\beta$ 2/IL-12R $\beta$ 2, gp130/gp130 et enfin gp130/IL27R $\alpha$ , ce dernier semblant être spécifiquement exprimé par les LB. Cette cytokine présente donc le potentiel d'activer les **STAT1, STAT3 et STAT4** (Collison et al., 2012).

De façon complémentaire aux cytokines de la famille  $\gamma$ , **l'IL-12, -23 et -27** stimulent préférentiellement les **fonctions de sécrétion** des NK. Les rôles de **l'IL-35** seront largement détaillés dans une partie dédiée (**page 102**), tandis qu'aucune description à ce jour n'a décrit d'impact de **l'IL-39** sur les NK.

Chez l'homme, les **IL-12, -23 et -27** sont sécrétées par les **cDC1, cDC2 et macrophages/monocytes** activés (Bluman et al., 1996; Chace et al., 1997; Gerosa et al., 2008; Verreck et al., 2004). De plus, les **lymphocytes B** sont également une source d'**IL-12** (Vignali & Kuchroo, 2012). Les effets sur les NK de la **cytokine pro-inflammatoire IL-12** sont à ce jour de loin les mieux décrits. Ainsi, cette dernière stimule les **sécrétions cytokiniques** des NK, en particulier de **l'IFN $\gamma$**  et du **TNF $\alpha$**  (Gately et al., 2003; Trinchieri, 2003). Ces observations sont confirmées dans le cas de **déficiences ou mutations affectant l'axe IL-12/STAT4**, associées à des **défauts majeurs de production d'IFN $\gamma$** , chez l'homme comme chez la souris (Gollob et al., 2000; Kaplan et al., 1996; Magram et al., 1996; Tripp et al., 1994). L'**IL-12** participe également aux **fonctions cytotoxiques et prolifératives** des NK, bien qu'à des niveaux inférieurs à ceux des cytokines IL-2, -15 et -21 (Trinchieri, 2003; Yamamoto et al., 2002). De façon intéressante, les **comparaisons des modèles murins p35<sup>-/-</sup> et p40<sup>-/-</sup>**, dans différents contextes physiopathologiques, ont permis de mettre en évidence des niveaux d'inflammation significativement plus faibles en l'absence de p40. Ces disparités ont ainsi mené à l'émergence de l'hypothèse selon laquelle p40 peut promouvoir l'inflammation indépendamment de p35, et à la découverte de **l'IL-23** (Becher et al., 2002; Cooper et al., 2002; Cua et al., 2003; Gran et al., 2002). En accord avec cela, ce facteur a été rapporté pour stimuler les **sécrétions de cytokine pro-inflammatoire** par les NK humaines (Liu et al., 2011; Ziblat et al., 2018). Néanmoins, certaines données contradictoires obtenues chez la souris tendent à démontrer une absence d'effet (Lo et al., 2003; van de Wetering et al., 2009), voire des **effets inhibiteurs** de cette cytokine sur les fonctions effectrices des NK, bien qu'il ne soit pas démontré qu'il s'agisse d'effets directs (Teng et al., 2010). En ce sens, **l'IL-23** pourrait **antagoniser les effets activateurs de l'IL-12** sur les NK, potentiellement par un **processus de compétition** pour se lier

à la sous-unité **IL-12Rβ1** de son récepteur (Sieve et al., 2010). Ainsi, les effets régulateurs sur les NK de l'IL-23, tout comme ceux de l'IL-27, semblent complexes et ne font pas encore consensus. Différentes études, chez l'homme comme chez la souris, aussi bien *in vitro* qu'à partir de modèles *in vivo*, ont rapporté un rôle **pro-survie** et **pro-cytotoxique** de l'IL-27 envers les NK (Laroni et al., 2011; Matsui et al., 2009; Zhou et al., 2018). Cela dit, des observations divergentes démontrent l'**absence d'effets** de l'IL-27 sur les **fonctions de sécrétions** lorsqu'utilisée seule, bien que cette dernière puisse néanmoins potentialiser les effets d'autres cytokines activatrices telles que l'IL-2, -12 ou -18 (Choi et al., 2019; Laroni et al., 2011; Ziblat et al., 2015). Également, l'IL-27 semble **antagoniser les effets pro-prolifératifs** de l'IL-15 (Laroni et al., 2011; Ziblat et al., 2015). Enfin, une étude propose une relation causale entre l'exposition de NK à l'IL-27, l'induction de **fonctions immunosuppressives** de ces cellules via des sécrétion de l'IL-10 et l'inhibition subséquente de lymphocytes adaptatifs (Laroni et al., 2011), un effet déjà observé à partir de LT (Awasthi et al., 2007; Fitzgerald et al., 2007; Stumhofer et al., 2007; Sun et al., 2011). Ces études vont ainsi dans le sens des résultats ambivalents obtenus à partir de **modèles murins IL-27Rα<sup>-/-</sup>**, démontrant l'importance de l'IL-27 aussi bien dans l'**initiation de réponses immunitaires de type I** que dans leurs **régulations** (Batten et al., 2006; Stumhofer et al., 2006; Villarino et al., 2003).

### 1.3. Les amplificateurs de la famille de l'IL-1

Les **IL-1s** représentent un groupe de cytokines **principalement pro-inflammatoires**, participant à l'activation et la potentialisation des fonctions des NK (**Encadré 5**). En effet, ces facteurs agissent en tant qu'**amplificateurs** des effets médiés par l'IL-2, -15 et -12.

Cette famille se compose de 7 cytokines **agonistes pro-inflammatoires IL-1α/β, -18, -33, -36α/β/γ**, de 5 **membres antagonistes IL-1Ra, IL-36Ra, sST2, IL-18BP, sIL-1R2** et enfin de 2 **facteurs immunosuppresseurs, l'IL-37 et -38** (Garlanda et al., 2013). Au cours de nos travaux, nous nous sommes intéressés aux agents pro-inflammatoires de cette famille, les **IL-1α/β, -18 et -33**. La biologie de l'IL-33 sera profondément détaillée dans une partie dédiée (**page 89**) tandis que les effets des IL-37 et IL-38 seront présentés dans le paragraphe dédié aux cytokines immunosuppressives (**page 50**). Par ailleurs, aucun effet des **IL-36α/β** sur les NK n'a été rapporté à ce jour, de ce fait, nous concentrerons dans ce paragraphe à la description des effets régulateurs des molécules **IL-1α/β, -18 et -36γ** sur ces cellules.

Premièrement, l'ensemble de ces cytokines est exprimé sous forme de **précurseurs** (désignés comme **pro-X**, où X correspond à la cytokine concernée). A l'inverse de la **pro-IL-1β et -36γ** dont l'expression est **inductible**, la **pro-IL-18** est **exprimée de façon constitutive**, tout comme peut l'être la pro-forme nucléaire de l'**alarmine IL-1α**. Ainsi, l'IL-18 et -36γ peuvent être exprimées par des **cellules immunitaires**, principalement myéloïdes, également capables de sécréter l'**IL-1β** telles que les DCs, monocytes/macrophages et neutrophiles activés, mais aussi par des **cellules non hématopoïétiques co-exprimant l'IL-1α** comme les kératinocytes, cellules endothéliales, ou les cellules épithéliales de l'intestin (Dinarello, 2018; Johnson et al., 2023; van de Veerdonk & Netea, 2013). De plus, la pro-forme de l'IL-1α, **seul précurseur biologiquement actif**, peut-être exprimée à la surface des CPAg (Kurt-Jones et al., 1985). L'ensemble de ces précurseurs se caractérisent également par l'**absence de peptide signal**, empêchant leur relargage par les voies de sécrétions conventionnelles en cas d'inflammation et donc dans un premier temps à leur accumulation au sein des cellules productrices (Dinarello, 2018). Dans ces contextes, les précurseurs inactifs de l'IL-1β, -18 et -36γ sont rendus fonctionnels via des

**clivages enzymatiques.** Premièrement, des **protéases intracellulaires** telles que les **caspases 1 et 8** et la **meprine  $\beta$**  sont capables de cliver les pro-IL-1 $\beta$ , -18 et -36 $\gamma$ , tandis que les **caspases 5 et 11** agissent sur la pro-IL-1 $\alpha$ . Parallèlement, les **Gzms A/B**, la **chymase** ou la **meprine  $\beta$**  agissent sur l'ensemble de ces précurseurs (Afonina et al., 2015; Banerjee & Bond, 2008; Lian et al., 2012; Wiggins et al., 2019). Le clivage de ces molécules permet notamment l'acquisition d'une **conformation optimale** pour accroître leur bioréactivité et leur affinité pour leurs récepteurs (Afonina et al., 2015). A titre d'exemple, le clivage des IL-36 $\alpha/\beta/\gamma$  permet une augmentation drastique de leurs activités biologiques (Henry et al., 2016; Towne et al., 2011). Enfin, ces cytokines peuvent être relarguées dans l'environnement extracellulaire par des **processus d'exocytose** et lors de **morts cellulaires** (Afonina et al., 2015; Cohen et al., 2010; Lian et al., 2012; Qu et al., 2007), aussi bien sous forme mature qu'en tant que précurseurs qui pourront être activés via d'autres protéases (i.e. **SpeB, protéinase 3, elastase, chymase, cathepsine G, thrombine et calpaine**) (Afonina et al., 2015; Burzynski et al., 2019; Henry et al., 2016; Johnson et al., 2023).

Sous forme active, les IL-1s pro-inflammatoires présentent une structure protéique similaire caractérisée par la présence de feuilletts  $\beta$  (Dinarello, 1999) et reconnaissent des récepteurs hétérodimériques spécifiques. Ainsi, l'**IL-18** se lie à son récepteur spécifique **IL-18 $\alpha$**  (IL-1R5), induisant le recrutement de la chaîne accessoire **IL-18R $\beta$**  (IL-1R7) (Boraschi & Tagliabue, 2013). Dans le cas des **IL-1 $\alpha/\beta$**  et **-36 $\gamma$** , ces dernières interagissent respectivement et spécifiquement avec les chaînes **IL-1R1** et **IL-36R** (IL-1R6), qui s'associent à la chaîne accessoire **IL-1RAcP** (IL-1R3) (Boraschi & Tagliabue, 2013). Malgré l'expression de l'ensemble de ces récepteurs par les NK, l'IL-18 est la seule à pouvoir activer les NK et stimuler, de façon modérée, leurs fonctions effectrices par elle-même (Mailliard et al., 2005; Okamura et al., 1998). Toutefois, comme évoqué précédemment, ces quatre cytokines participent significativement à la survie et aux rôles de surveillance des NK en amplifiant fortement les effets stimulants décrits précédemment des cytokines l'IL-2, -12 et -15 (Cooper et al., 2009; Fehniger et al., 1999; Haeberlein et al., 2010; Okamura et al., 1998). Lors d'interactions avec leurs récepteurs, ces cytokines permettent le recrutement intracytoplasmique de la molécule adaptatrice **MyD88** et l'activation subséquente de la **voie de signalisation NF- $\kappa$ B** et des **MAPK** (Dinarello, 2018; Queen et al., 2019), expliquant les **fortes similitudes fonctionnelles** de ces différentes cytokines (Hunter et al., 1997). Lors de ces combinaisons cytokiniques, des études comparatives ont démontré des effets **quantitativement** et **qualitativement similaires** entre l'**IL-1 $\alpha$**  et l'**IL-1 $\beta$** , **bien qu'inférieurs** à ceux observés en cas de stimulations par l'**IL-18** pour des doses  $\sim$ 10ng/mL (Hunter et al., 1997). Les effets de l'IL-36 $\gamma$  étant à ce jour bien moins étudiés, aucune étude comparative de ce type n'a été réalisée. De façon intéressante, les souris déficientes en IL-18 ont permis de confirmer l'importance de cette cytokine dans les processus d'**activation immédiats** des NK (Wang et al., 2009; Wei et al., 1999), mais ont également permis de mettre en évidence un rôle de l'**IL-18 endogène** dans le conditionnement fonctionnel des cellules NK lors d'**activations futures, faisant écho à l'existence d'impacts à long terme** de stimulations cytokiniques, dont nous discuterons (**page 59**) (Chaix et al., 2008).



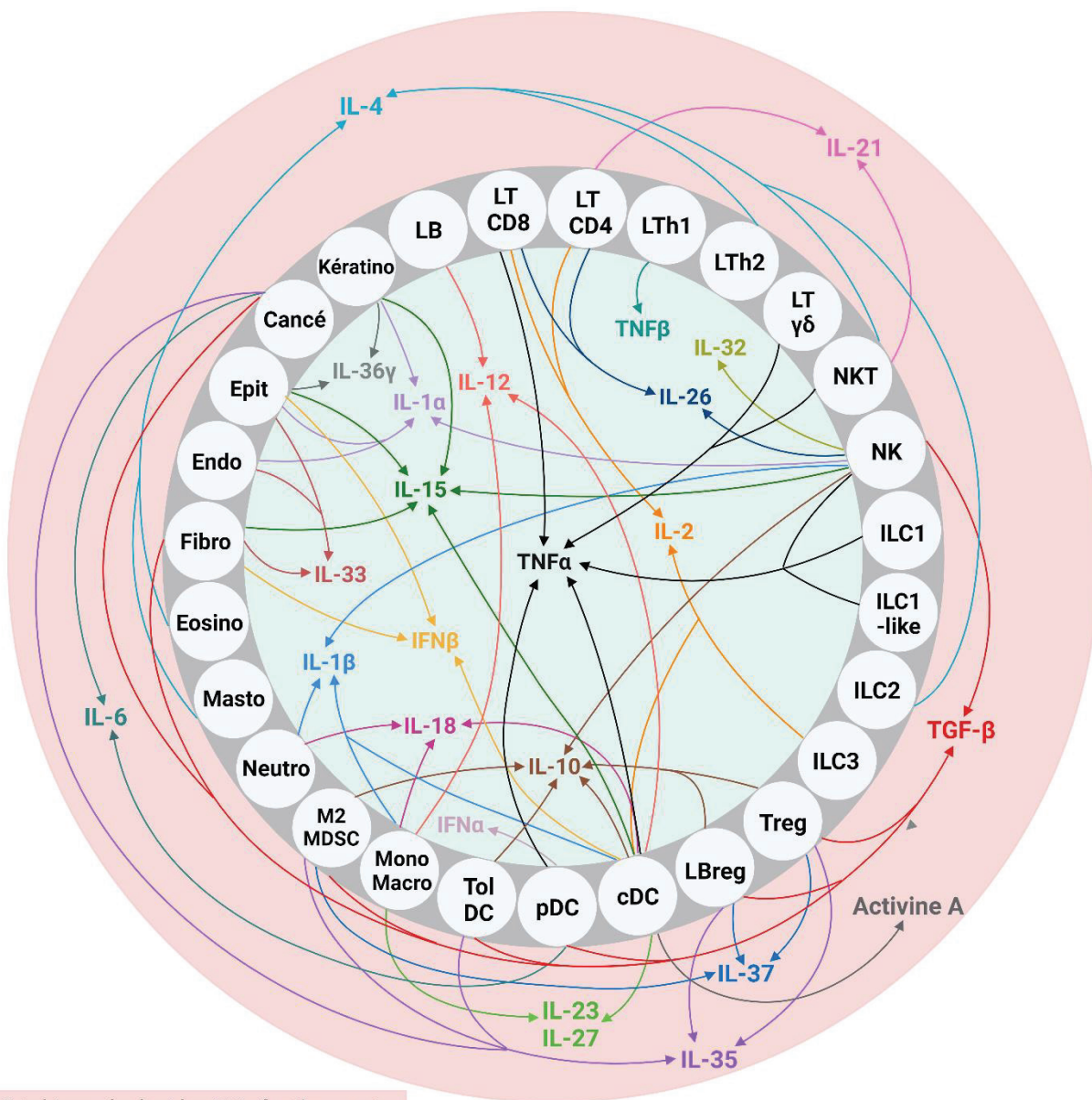
## 1.4. Les IFNs de type I et III

Les **IFN de type-I**, en particulier l'**IFN- $\alpha$**  et **- $\beta$**  qui se lient au même récepteur composé des sous-unités **IFNAR1** et **IFNAR2**, sont également des acteurs centraux dans la régulation des réponses immunitaires innées en contextes pathologiques. Produits en cas d'infection ou d'inflammation par un large spectre de cellules hématopoïétiques (en particulier les DCs) et non immunitaires, ces derniers impactent la biologie des NK de façons **directes** et **indirectes** (Gidlund et al., 1978). Premièrement, ces deux molécules participent à la régulation des NK en induisant la production d'**IL-15** (Lucas et al., 2007; Zanoni et al., 2013). De plus, l'expression de leurs récepteurs par les NK permet des effets directs de ces cytokines, indépendants de l'IL-15, via la **phosphorylation de STAT1**. Ainsi, aux travers de ces différents effets, les IFN-I participent *in fine* de façon importante à améliorer la **survie** des NK et à induire leur **prolifération** et **fonctions cytotoxiques** (aussi bien par la surexpression de ligands de récepteurs de morts que par l'induction des molécules nécessaires à la machinerie de cytolysse directe). A l'inverse, ces facteurs semblent dispensables à la production de cytokines par ces lymphocytes innés (Ahlenstiel et al., 2010; Beuneu et al., 2011; Liang et al., 2003; Martinez et al., 2008), bien qu'ils puissent la stimuler via l'activation de **STAT4** (Miyagi et al., 2007). Néanmoins, différentes études tendent à suggérer un rôle dual des IFN-I via leurs actions directes sur les NK. En ce sens, des approches *in vitro* ont démontré qu'en l'absence d'IL-15, les IFN- $\alpha$  et  $\beta$ , ne stimulent pas directement la prolifération des NK, et exerceraient au contraire des effets **anti-prolifératifs** à fortes doses (Jewett & Bonavida, 1995). Également, il a été rapporté que l'activation de STAT1 induite par une exposition chronique aux IFN-I se fait au détriment de celle de STAT4, limitant les sécrétions d'IFN $\gamma$  (Edlich et al., 2012; Lee et al., 2019; Miyagi et al., 2007). Ainsi, les effets des IFN- $\alpha$  et  $\beta$  pourraient dépendre de leurs doses mais également des co-sigaux et du contexte au sein duquel ils sont libérés.

Dernièrement, l'**IFN- $\lambda$**  ou **IFN de type III** dont les effets biologiques s'apparentent à ceux des IFN-I, a été proposé comme un activateur des NK murines (Souza-Fonseca-Guimaraes et al., 2015). Néanmoins, cette observation reste controversée et pourrait s'expliquer par des effets indirects médiés par les macrophages (de Groen et al., 2015; Wang et al., 2017). De plus, aucun effet activateur de l'IFN- $\lambda$  sur les NK humaines n'a à ce jour été confirmé (de Groen et al., 2015; Krämer et al., 2011; Morrison et al., 2014).

Enfin, d'autres facteurs tels que le **TNF $\alpha$**  et l'**IL-26**, deux cytokines produites par les NK elles-mêmes ainsi que d'autres cellules immunitaires, prennent part à cet ensemble complexe orchestrant l'activation des fonctions NK. Ainsi, l'engagement de **TNFR2** par le **TNF $\alpha$** , aussi bien sous sa **forme soluble** que **membranaire** exposé aux NK par contact physique, stimule leur immunosurveillance, principalement en tant qu'amplificateur d'autres signaux activateurs (Almishri et al., 2016; Qi et al., 2020; Xu et al., 2007). Par ailleurs, une étude montre que l'**IL-26** stimule leurs **sécrétions**, dont celles de **TNF $\alpha$** , mais également leur cytotoxicité dépendante de **TRAIL**, avec une efficacité similaire à celle de l'IFN- $\alpha$  (Miot et al., 2015).





Cytokines régulant les NK **négativement**

Cytokines régulant les NK **positivement**

**Figure 6 : Origine cellulaire des cytokines régulant les NK.**

Les cytokines activatrices (cercle intérieur vert) et inhibitrices (cercle extérieur en rouge) régulant la biologie des NK sont sécrétées par de nombreuses populations cellulaires. Chaque cytokine sécrétée par une population est indiquée par une flèche. Chaque cytokine, indiquée d’une couleur spécifique, est reliée aux cellules qui la produisent par une flèche. Kératino : kératinocyte, Cancé : cellules cancéreuses, Epit : cellule épithéliale, Endo : cellule endothéliale, Fibro : fibroblaste, Eosino : éosinophiles, Masto : mastocyte, Neutro : neutrophile, M2 : Macrophages de profil M2, Mono : monocytes, Macro : Macrophages.

## 1.5. Synergies, complémentarités et compensations inter-sigaux pour assurer l'activation des NK

Ce large spectre de récepteurs permettant aux NK de percevoir les signaux environnementaux assure une régulation fine et optimale de leurs fonctions d'immunosurveillance. Il permet ainsi de nombreuses synergies inter-sigaux, mais également d'augmenter le nombre de situations et contextes menant à l'activation des différentes sous-populations de NK. Ainsi, en plus d'une certaine **complémentarité** dans les fonctions induites par ces signaux, des **synergies** et **processus de compensation** inter-sigaux apparaissent également.

Premièrement, cette diversité de récepteurs activateurs assure la reconnaissance d'un spectre plus large de cibles. A titre d'exemple, l'étude de différentes lignées de myélomes ont pu démontrer que les **ligands** de **NKG2D** et **DNAM-1** semblent exprimés de façon **exclusive**, reflétant une **complémentarité** importante entre ces récepteurs pour assurer l'immunosurveillance (El-Sherbiny et al., 2007). Enfin, des **processus de compensation** sont observés dans des souris déficientes en DAP10, nécessaire à la signalisation de NKG2D, au sein desquelles les NK maintiennent tout de même un certain niveau de cytotoxicité (Raulet, 2003). Parallèlement, de nombreuses études ont mis en évidence des **synergies** lors d'engagements simultanés des récepteurs activateurs **NCRs**, **CD16**, **NKG2D**, **2B4**, **4-1BB** et **DNAM1** (bien que certains binômes ponctuels tels que NKG2D/2B4, NKG2D/DNAM-1, 2B4/CD2, CD2/NKG2D, DNAM-1/CD2 fassent exceptions) (Bryceson et al., 2009; H. S. Kim & Long, 2012; Li et al., 2022; Urlaub et al., 2017; Zamai et al., 2020). Ces synergies permettent non seulement d'augmenter la capacité cytotoxique des NK, mais également d'assurer la **lyse de cellules cibles initialement insensibles** lors d'engagement individuel de ces récepteurs.

Néanmoins, ces synergies inter-récepteurs sont moins évidentes pour les activités de prolifération et de sécrétions de cytokines. Il apparaît ainsi que les stimulations cytokiniques sont les plus efficaces pour induire ces fonctions (Fauriat et al., 2010), démontrant là encore une certaine **complémentarité inter-sigaux**. Ici encore des **synergies** existent et ont été démontrées entre les cytokines **IL-12**, **-23**, **-27**, **-2**, **-15**, le **TNF $\alpha$** , les **IFN-I** ou encore les **IL-1s** comme discuté ci-dessus (Brady et al., 2010; Paolini et al., 2015; Qi et al., 2020; Strengell et al., 2003; Ziblat et al., 2015, 2018). A titre d'exemple, (i) l'expression du **récepteur à l'IL-2 (CD25)** est directement corrélée au niveau d'activation des NK (Leong et al., 2014) et (ii) les productions d'**IFN $\gamma$**  sont relativement faibles en réponse à l'IL-12, -15 et -18 seules mais sont drastiquement augmentées lors de stimulations combinées deux à deux, pour atteindre un niveau maximal avec la combinaison **IL-12+15+18** (Boieri et al., 2017; Fehniger et al., 1999; Leong et al., 2014).

De plus, l'engagement des récepteurs activateurs et les stimulations cytokiniques sont également intimement liés. En effet, l'expression de ces récepteurs activateurs ainsi que celle des récepteurs aux cytokines se trouvent être, dans de nombreux contextes, interconnectées. En ce sens, l'engagement de **NKG2D** induit l'expression de **4-1BB** et respectivement (Y. J. Kim et al., 2008; Li et al., 2022). Parallèlement, à l'exception de NKp46 et CD16a, l'expression des récepteurs activateurs et des cytokines sont induits ou tout du moins surexprimés après activation (Barber & Long, 2003; Fehniger et al., 1999; Yoshimoto et al., 1998). En complément, il existe des synergies entre ces différents signaux pour stimuler les fonctions effectrices des NK (Deblaker-Hohe et al., 1995; Fauriat et al., 2010), permettant l'utilisation de **doses suboptimales** de cytokines. Ainsi, l'engagement des récepteurs **NKp30**, **NKp46**, **NKG2D**, **2B4**, **DNAM1** et **CD2**, ou la **lyse de cibles diverses** est significativement plus efficace chez des NK exposées à l'**IL-2**, **-15** ou **-12** (Bryceson et al., 2006; Deblaker-Hohe et al., 1995; Zamai et al., 2020).

## 2. Les cytokines immunosuppressives, de l'inhibition à la polarisation fonctionnelle

Par opposition, les NK sont également sensibles aux **cytokines immunosuppressives**, menant *in fine* à **l'inhibition de leurs fonctions effectrices** décrites ci-dessus, voire à **l'acquisition de caractéristiques nouvelles** (Figures 5 et 8).

### 2.1. Un écosystème régulateur composé de nombreux agents

Comme discuté précédemment, certaines cytokines telles que l'**IL-23** et l'**IL-27** semblent présenter un certain degré d'effets régulateurs, probablement dépendant du contexte général dans lequel elles atteignent les NK. De façon similaire, les effets de l'**IL-10**, sécrétée par des populations régulatrices (Baessler et al., 2010) et dont les effets immunosuppresseurs envers d'autres populations cellulaires sont largement décrits (De Smedt et al., 1997; Sawant et al., 2019; Wei et al., 2017), ne font pas consensus dans le cas des NK. Ainsi, différents résultats suggèrent un potentiel inhibiteur de cette cytokine envers les NK en diminuant la mobilisation des granules cytotoxiques et leur production d'IFN $\gamma$  (D'andrea et al., 1993). Néanmoins, ces effets inhibiteurs pourraient en réalité refléter des effets indirects, via l'inhibition la production de signaux activateurs des NK par des cellules accessoires (Carson et al., 1995; D'andrea et al., 1993). En ce sens, les études réalisées à partir de NK purifiées ont démontré que l'**IL-10** stimule la **cytotoxicité** des NK mais également les différents effets activateurs médiés par l'**IL-2**, **-18** et **-12** à moindre mesure (Carson et al., 1995; Mocellin et al., 2004; Wang et al., 2021). Par ailleurs, de nombreuses descriptions témoignent du rôle régulateur de l'**IL-4** sur les NK. Premièrement, ce facteur **inhibe le potentiel prolifératif** et les **fonctions cytotoxiques** des NK en réponse à l'**IL-2** et **-15**, aussi bien en inhibant la mobilisation des granules cytotoxiques qu'en diminuant l'expression des molécules de surface **CD16**, **NKG2D**, **TRAIL** et **Fas** (Brady et al., 2010; Marcenaro et al., 2005; Paganin et al., 1994). Parallèlement, l'**IL-4** induit une polarisation fonctionnelle des NK vers la production d'**IL-5** et **-13**, elles-mêmes participant activement aux réponses immunitaires de type 2, au dépens des sécrétions d'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  et GM-CSF (Marcenaro et al., 2005; Peritt et al., 1998; Warren et al., 1995). Enfin, l'**IL-4** interfère avec les stimulations par les **IL-1 $\alpha/\beta$**  pro-inflammatoires en induisant l'expression de la **forme soluble d'IL-1R2** (Colotta et al., 1993). Paradoxalement, la **surexpression d'IL-4** dans des modèles murins semble permettre l'émergence de NK aux **fonctions pro-inflammatoires accrues**. Ces effets opposés, impliquant l'activation de **STAT6**, pourraient être dus à l'existence de différents récepteurs à l'**IL-4** (IL-4R $\alpha/\gamma$ c contre IL-4R $\alpha$ /IL-13R $\alpha$ 1) mais restent toutefois à éclaircir (Kiniwa et al., 2016; Morris et al., 2006; Vuletić et al., 2020).

D'autres facteurs cytokiniques, présentent des **effets anti-inflammatoires et/ou inhibiteurs clairs et invariables** sur les NK. C'est notamment le cas des **molécules antagonistes et immunosuppressives de la famille de l'IL-1**. Ainsi, les **antagonistes IL-1Ra** et **IL-36Ra** se lient aux récepteurs IL-1R1 et IL-36R (IL1R6), respectivement, inhibant de ce fait la signalisation induite par les IL-1 $\alpha/\beta$  et -36 $\gamma$ , tandis que les **facteurs solubles IL-1R2** et **IL-18BP** se lient directement et respectivement aux cytokines IL-1 $\alpha/\beta$  et -18 (Colotta et al., 1993), empêchant leur liaison à leurs récepteurs (Clark et al., 2023; Colantuoni et al., 2023; Kaplanski, 2018). L'**IL-1R2** présente également des fonctions intracellulaires via son association avec la pro-IL-1 $\alpha$  afin d'inhiber sa sécrétion. De façon intéressante, l'interaction **IL-18/IL-18BP** se fait avec une **affinité plus élevée** qu'avec l'IL-18R $\alpha$  (Clark et al., 2023; Kaplanski, 2018). En outre, le membre immunosuppresseur **IL-37** sécrété par les **LTreg** (Lech et al., 2008; Rodriguez et al., 2012; Sarhan et al., 2018; Xiao et al., 2007), dont la **pro-forme** est déjà **active** (Coll-Miró et al., 2016; Li et al., 2015), régule l'activité des NK par une **double action**. Premièrement, ce dernier se lie à l'**IL-18R $\alpha$**  et rentre donc en **compétition avec l'IL-18**, favorisant la liaison de ce dernier à l'**IL-18BP** (Li et al., 2015; Nold-Petry et al., 2015). Deuxièmement, l'association de cette cytokine à son récepteur **IL-**

**18R $\alpha$ /SIGIRR** (IL-1R8), fortement exprimé par les NK (Sarhan et al., 2018), permet la phosphorylation de **STAT3** menant à la diminution de l'activation des voies de signalisation **NF- $\kappa$ B**, **MAPK** et **mTOR** et donc *in fine* à l'**inhibition des effets pro-inflammatoires** médiés par les autres IL-1s (Dinarello, 2018; Nold-Petry et al., 2015; Sarhan et al., 2018). De façon intéressante, l'expression d'**IL-37** apparaît en tant que rétrocontrôle négatif en contexte inflammatoire, mais est également induite par le **TGF $\beta$ 1** (Dinarello, 2018).

Plus récemment, d'autres acteurs sont venus compléter la liste des inhibiteurs solubles des NK. Ainsi, l'**IL-6** émerge comme un **inhibiteur des fonctions cytotoxiques** des NK (Wu et al., 2019; Zheng et al., 2020). Néanmoins, les descriptions actuelles ne permettent pas de conclure sur le fait que l'**IL-6** agisse seule ou en synergie avec d'autres facteurs. Une étude récente identifie également l'utilisation d'anticorps bloquant l'**IL-35** comme une stratégie prometteuse pour permettre l'activation optimale des NK en contexte tumoral (Li et al., 2022). Ces résultats suggèrent ainsi un **potentiel inhibiteur** de cette cytokine sur les NK, que nous détaillerons davantage dans une partie dédiée ([page 102](#)).

## 2.2. Le cas du TGF $\beta$ , figure de proue des cytokines immunosuppressives

Le **TGF $\beta$ 1** est un facteur hautement immunosuppresseur, produit par des populations régulatrices telles que **LTreg**, **LBreg** et **MDSC**, ou encore **macrophages** et **NK** dans certains contextes (Ghiringhelli et al., 2005; Gonzalez-Junca et al., 2019; Li et al., 2009; Sarvaria et al., 2017). L'importance de cette cytokine dans la régulation et le rétrocontrôle des réponses immunitaires s'illustre chez les souris déficientes pour le **TGF $\beta$ 1** ou son **récepteur**, au sein desquelles se développent, en quelques semaines, une **inflammation systémique spontanée et fatale** (Kulkarni et al., 1993; Shull et al., 1992).

Le TGF $\beta$ 1 est synthétisé sous forme de précurseur (**pré-pro-TGF $\beta$ 1**) subissant différentes **protéolyses consécutives** permettant l'interaction non covalente de la **forme mature du TGF $\beta$ 1** avec le peptide **LAP** (« Latency Associated Protein ») pour former le **complexe latent SLC** (« Small Latent Complex »). A ce stade, ce complexe peut **circuler librement** de façon soluble ou interagir avec la **matrice extracellulaire**, en vue d'y être stocké localement, via l'intermédiaire du **LTBP** (« Large Latent TGF $\beta$  binding Protein ») en formant le **LLC** (« Large Latent Complex ») (Annes et al., 2003). De plus, ces complexes peuvent être séquestrés à la surface de différents types cellulaires, notamment par interaction avec la molécule **GARP** exprimée par les **LTreg** et certaines **NK** (Krammer et al., 2023; Slattery et al., 2021; Travis & Sheppard, 2014). Ces complexes maintiennent le TGF $\beta$ 1 inactif en empêchant sa liaison à son récepteur (Travis & Sheppard, 2014) mais de nombreux contextes et une grande variété de molécules retrouvées en conditions inflammatoires et pathologiques permettent leur **dissociation**, via le ciblage de LAP. Ainsi, les **conditions physico-chimiques**, tels que des variations de **pH** ou de **température** induisent la dénaturation de LAP. D'autre part, certaines molécules permettent de **perturber les interactions LAP/TGF $\beta$ 1** en modifiant la conformation du complexe, tandis que d'autres assurent le clivage enzymatique de ce peptide, comme des **protéases** (i.e. la **thrombospondine 1** et les **intégrines  $\alpha\beta$ 1,  $\beta$ 3,  $\beta$ 5,  $\beta$ 6 et  $\beta$ 8**) via leurs interactions respectives avec les séquences **LSKL** et **RGD** du complexe latent (Murphy-Ullrich & Suto, 2018; Shaim et al., 2021; Travis & Sheppard, 2014; Worthington et al., 2015) ou encore les **plasmine**, **thrombine**, **transglutaminases**, **furine**, **neuropiline-1**, les **métalloprotéases MMP2, 9, 14 et 28** (Kessenbrock et al., 2010; Shaim et al., 2021; Travis & Sheppard, 2014)).

Une fois actif, le **TGFβ1** se fixe sur un **complexe hétéro-tétramérique**, comprenant **deux récepteurs de type I** (TGFβRI) et **deux récepteurs de type II** (TGFβRII) (Massagué, 2012). Après liaison du TGFβ1, les récepteurs de type II phosphorylent ceux de type I, permettant à ces derniers de recruter les molécules de signalisation **R-SMAD** (« Receptor-SMAD »), **SMAD2/3**. Les R-SMAD phosphorylées se dissocient alors du récepteur pour interagir soit avec **SMAD4**, permettant sa translocation au noyau où il pourra agir en tant que facteur de transcription, soit avec **TIF1γ** pour réguler l'expression d'autres gènes (He et al., 2006; Travis & Sheppard, 2014). Par ailleurs, le TGFβ peut induire d'autres voies de signalisation dans certains types cellulaires, dites **non-canoniques** et indépendantes des SMADs, impliquant les voies de signalisation des petites **GTPases**, **MAPK** et **PI3K** (Travis & Sheppard, 2014; Zhang, 2017). Dans les NK, le TGFβ1 semble médier ses effets immunosuppresseurs principalement via l'activation des molécules **SMAD2/SMAD3** (Tang et al., 2017; Trotta et al., 2008; Yu et al., 2006). De façon intéressante, des travaux récents démontrent que **SMAD4 régule positivement les fonctions des NK**, d'une part en induisant l'expression de gènes impliqués dans la cytotoxicité, et d'autre part en **réprimant les effets immunosuppresseurs médiés par SMAD2/3** dans les NK (Cortez et al., 2017; Y. Wang et al., 2018).

Le TGFβ1 agit à tous les niveaux de la biologie des NK, inhibant leur **maturation** (Marae et al., 2012; Tang et al., 2017), leur **migration**, leur **métabolisme** (Slattery et al., 2021; Viel et al., 2016), leur **activation** (Viel et al., 2016) et expression de **récepteurs activateurs** (Dutta et al., 2015; Li et al., 2009; Viel et al., 2016). Bien que le TGFβ n'impacte pas la survie des NK (Wilson et al., 2011), il inhibe profondément aussi bien leur **prolifération** (Ghiringhelli et al., 2005; Viel et al., 2016), leurs **sécrétions de cytokines pro-inflammatoires** (Li et al., 2009; D. Wang et al., 2022; Yu et al., 2006) que l'ensemble de leurs capacités **cytotoxiques**, là encore à travers différents mécanismes complémentaires (Donatelli et al., 2014; Li et al., 2009; Viel et al., 2016). Comme évoqué précédemment, le **TGFβ** n'agit pas uniquement en tant qu'inhibiteur car ce dernier permet la **transdifférenciation** des NK en **ILC1-like** et l'acquisition concomitantes de nouvelles **caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles** (Cortez et al., 2017). Nous dédions un prochain paragraphe (**page 63**) à la description de ce processus biologique nouvellement décrit. L'ensemble de ces données identifie le TGFβ1 comme **l'un des régulateurs majeurs** des NK.

Parallèlement, l'**activine A**, membre de la famille du TGFβ produite par les **DCs activées**, semble présenter des effets similaires sur l'activation des NK au travers des facteurs de transcription **SMAD2/3** (Ma et al., 2019; Rautela et al., 2019; Seeger et al., 2014).

### III. L'empreinte tissulaire des populations résidentes

#### 1. Localisation tissulaire des NK

Bien que les NK se distinguent des ILC auxiliaires par leur caractère circulant (cNK), elles peuvent également **infiltrer** et/ou **résider dans les tissus (trNK)**. A l'homéostasie, les **trNK** ont été décrites dans de nombreux organes, tels que la **moelle osseuse**, les **OLS**, les **glandes salivaires**, le **foie**, les **reins**, le **pancréas**, les **muqueuses intestinales**, les **poumons**, la **peau**, l'**utérus/endomètre**, le **cordon ombilical** ou encore au sein du **système nerveux central** (Brauner et al., 2010; Cortez et al., 2014; Dogra et al., 2020; Earls & Lee, 2020; Gamliel et al., 2018; Melsen et al., 2018; Van Hove et al., 2019). Leur fréquence au sein des cellules immunitaires tissulaires est variable d'un tissu à l'autre comme l'illustrent les cas extrêmes du tissu décidual et de l'amygdale au sein desquels ces cellules peuvent représenter 50-80% et <1% de l'infiltrat lymphocytaire, respectivement (Dogra et al., 2020;

Gamliel et al., 2018; Guo et al., 2021). Comme évoqué précédemment, la localisation anatomique est définie par un large spectre de **récepteurs aux chimiokines** et de **molécules d'adhésion** dont l'expression varie au cours de la maturation, expliquant le tropisme préférentiel de certaines populations pour certains tissus. Ainsi, bien que différentes molécules de surface telles que **CCR2** et **CXCR4** soient exprimées invariablement, les NK **CD56<sup>Bright</sup>** expriment spécifiquement **CCR5**, **CCR7**, **CD62L** et plus fortement **CXCR3** tandis que la sous-population **CD56<sup>Dim</sup>** est caractérisée par une expression plus importante de **CXCR1**, **CXCR2**, **CX3CR1**, **CD6**, **LFA-1** et **S1PR5** (Allan et al., 2010; Grégoire et al., 2007; Hanna et al., 2003; Jenne et al., 2009; Saraste et al., 2007) (**Figure 7**). Ainsi, les proportions relatives entre **CD56<sup>Bright</sup>** et **CD56<sup>Dim</sup>** inter-tissus révèlent un continuum, avec une fréquence significativement supérieure de **CD56<sup>Bright</sup>** au sein des OLS et de l'endomètre/décidua (Peng & Tian, 2014a; Poli et al., 2009), relativement équivalente à celle des **CD56<sup>Dim</sup>** dans l'amygdale, et enfin largement inférieure dans la rate et la moelle osseuse (Dogra et al., 2020; Yu et al., 2013). En cas d'inflammation, **CCR7** peut également être acquis par les **CD56<sup>Dim</sup>** périphériques, permettant leur recrutement au sein des ganglions lymphatiques, où elles interagissent directement avec les DCs, soutiennent la différenciation des LTh1 et la réponse immunitaire adaptative en général (Mailliard et al., 2005; Marcenaro et al., 2013; Martín-Fontecha et al., 2004). De tels contextes inflammatoires induisent par ailleurs une augmentation de l'infiltration des cellules NK dans les organes décrits en début de paragraphe (Alizadeh et al., 2010; Bernardini et al., 2012; Han et al., 2014; Peng & Tian, 2014b), et favorisent leur recrutement au sein de tissus dans lesquelles elles sont classiquement absentes, tels que les **articulations** (Pridgeon et al., 2003; Söderströma et al., 2010). Ces observations témoignent du rôle important des NK pour assurer l'homéostasie dans l'ensemble de l'organisme, et témoignent de l'influence bilatérale entre l'infiltration des cellules NK et l'évolution des pathologies inflammatoires. Toutefois, les mécanismes régulant la présence des trNK dans les tissus ne sont que partiellement compris et plusieurs hypothèses non exclusives sont proposées. L'exemple prototypique de la décidua illustre néanmoins qu'en complément d'une **migration en provenance de la circulation**, l'**émergence in situ** à partir de progéniteurs résidents locaux est également observée (Carlino et al., 2008; Manaster et al., 2008; Tao et al., 2021; Vacca et al., 2011). Ce dernier point fait écho d'une part au concept d'« ILC-poïèse » et d'autre part à la difficulté de distinguer les trNK des trILC1, et soulève l'éventualité d'une reclassification de certains trNK en ILC-auxiliaires.

## 2. Les NK résidents, des populations aux caractéristiques dépendantes des tissus

L'**environnement tissulaire** influence fortement les transcriptomes, phénotypes et fonctions des **trNK**. Ainsi, bien que ces populations résidentes puissent toujours être affiliées aux deux sous-populations **CD56<sup>Bright</sup>** et **CD56<sup>Dim</sup>**, elles apparaissent non seulement comme particulièrement différentes des **cnNK**, mais présentent également des profils quasi organe-spécifique (Crinier et al., 2018; Dogra et al., 2020; Freud et al., 2017; Hashemi & Malarkannan, 2020; Tao et al., 2021). Ces disparités inter-tissus, résumées sous le terme d'« **empreinte tissulaire** », impactent aussi bien le type de fonctions que l'intensité à laquelle ces dernières seront assurées par les NK. Bien que les raisons précises de ces « **empreintes tissulaires** » restent mal comprises, il semble vraisemblable que ces dernières soient majoritairement dues à l'**unicité de chaque microenvironnement tissulaire**, des cellules qui le constituent (i.e. trophoblastes, neurones, adipocytes, ostéoclastes, kératinocytes etc...) et de leurs interactions avec les NK (**Figure 8**).

Les singularités des NK de chaque tissu n'étant pas d'intérêt direct pour nos travaux, nous n'aborderons que le cas notable des **trNK déciduales (dnNK)**, dont la biologie présente des similitudes intrigantes avec certaines de nos observations, qui seront abordées dans la **partie « discussion »**. Lors

des phases les plus précoces de la grossesse, et sous l'influence d'hormones telles que la **progestérone**, la muqueuse utérine (endomètre) se transforme en tissu décidual au sein duquel le blastocyste pourra s'implanter et former l'**interface mère-fœtus**, et où une **accumulation massive** de dNK est observée (Carlino et al., 2008; Gamliel et al., 2018; Vento-Tormo et al., 2018). Sous la pression environnementale spécifique à ce tissu, ces dNK acquièrent un **phénotype atypique** **CD56<sup>SuperBright</sup>CD49b<sup>+</sup>CD94<sup>+</sup>NKp30<sup>-</sup>NKG2A<sup>+</sup>CD49a<sup>+</sup>CD9<sup>+</sup>CD103<sup>+/-</sup>CD16<sup>-</sup>CXCR4<sup>+/-</sup>CD127<sup>-</sup>** et un **profil fonctionnel singulier**. Ainsi, ces cellules participent activement à l'homéostasie tissulaire et représentent des acteurs majeurs de l'interface mère-fœtus en assurant le **bon déroulement de la grossesse**. Au travers de **sécrétions de facteurs de croissances** et de **facteurs pro-angiogéniques** (i.e. VEGF-A, VEGF-C IL-8, CXCL10, PDGF, PGF, HGF, Osteoglycine, Pleiotrophine), ces trNK initient et régulent la **croissance** et l'**intégrité des artères endométriales** ainsi qu'une **attraction optimale des trophoblastes** fœtaux, permettant *in fine* des remodelages tissulaires et structurels, essentiels aux différentes étapes des **processus d'implantation embryonnaire** et de **placentation** (Fu et al., 2017; Gamliel et al., 2018; Kalkunte et al., 2009; Vacca et al., 2008). En parallèle, ces cellules présentent une **cytotoxicité limitée**, notamment via une incapacité à générer des synapses immunologiques matures et à polariser les granules lytiques de façon efficiente, et participent à la **tolérance immunitaire** nécessaire à la croissance embryonnaire (Fu et al., 2013; Guo et al., 2021; Kalkunte et al., 2009; Sojka et al., 2018; Tao et al., 2021).

Ainsi, ces études démontrent une fois encore l'importance de l'environnement dans la régulation des NK et témoignent d'une certaine **plasticité** de ces cellules à l'**origine d'hétérogénéités fonctionnelles**.

#### IV. L'implication du métabolisme

En plus des récepteurs décrits précédemment, les NK sont armées pour percevoir d'autres **facteurs physico-chimiques** environnementaux immédiats, tels que les **métabolites**, les **nutriments**, le **niveau d'oxygène**. Au cours des dernières années, le domaine de l'**immuno-métabolisme** a émergé comme un champ de recherche majeur dans la compréhension des activités des cellules immunitaires, NK compris. Ainsi, des liens de cause à effet directs ont pu être établis entre l'**état métabolique** des NK et leur niveau d'activation (Slattery et al., 2021; Viel et al., 2016) (**Figure 8**).

A l'homéostasie et en condition de normoxie, le métabolisme des NK repose principalement sur le **métabolisme du glucose** via les processus de **glycolyse** et surtout de **phosphorylation oxydative** (OXPHOS). En cas d'activation, les besoins en **oxygène**, **glucose** et **ATP** des NK augmentent, et ces dernières s'adaptent en favorisant la glycolyse afin d'assurer une **biosynthèse rapide et adéquate** (Keppel et al., 2015; Mah et al., 2017; Marçais et al., 2014). Dans ces différents contextes, l'inhibition/altération de l'une de ces deux voies métaboliques mène à la diminution des fonctions et de la survie des NK, démontrant que le métabolisme conditionne le potentiel fonctionnel des NK et leur réactivité face aux signaux activateurs (Cong et al., 2018; Felices et al., 2018; Mah et al., 2017; Slattery et al., 2021; Zheng et al., 2019). De façon intéressante, l'exposition à de fortes doses d'**IL-15**, qui pour rappel induit l'activation de **mTOR**, permet une augmentation de l'**influx intracellulaire de nutriments** nécessaire aux activités des NK (Keating et al., 2016; Marçais et al., 2014). En lien avec ces notions, certaines enzymes ont un double effet sur l'activation et la fonctionnalité des NK en **réduisant la présence de nutriments** dans l'environnement d'une part et en augmentant la présence de **métabolites immunosuppressifs** (Balzasch & Cerwenka, 2023). Ainsi, **IDO1** (Indoleamine 2,3-dioxygénase) induit la dégradation du **tryptophane** en **L-kynurenine** (Romani et al., 2008; Shin et al., 2013) et les enzymes **arginase 1** et **iNOS** (« induced Nitric Oxide Synthase ») assurent la dégradation

de la **L-arginine** (Lamas et al., 2012; Oberlies et al., 2009). Le métabolite **adénosine**, quant à lui, émerge suite à la conversion de l'**ATP extracellulaire** par le binôme enzymatique **CD39/CD73** (Chambers et al., 2018; Ohta, 2016). De plus, les **cyclooxygénases** (COX) et **prostaglandine-E synthase** (PGE synthase) permettent l'accumulation de la **PGE2** (Prostaglandine E2), puissant inhibiteur des fonctions des NK et de leurs capacités à générer une réponse immunitaire adaptative (Bonavita et al., 2020; Böttcher et al., 2018). Parallèlement, les **contextes hypoxiques**, qui peuvent être retrouvés dans de nombreux contextes physiopathologiques (Garcés-Lázaro et al., 2022; Luo et al., 2022), ont également très souvent été associés à la dysfonction métabolique des NK et à l'augmentation de la concentration extracellulaire en **adénosine** (Ohta, 2016). Ces conditions mènent à la fois à une **réduction des fonctions d'immunosurveillance** et à l'induction de leurs **propriétés pro-angiogéniques** via la stabilisation et l'action du facteur de transcription **HIF-1 $\alpha$**  (Garcés-Lázaro et al., 2022; Krzywinska et al., 2017; Luo et al., 2022; Ni et al., 2020; Zheng et al., 2019).

En somme, l'activation des NK est finement régulée par un ensemble complexe de signaux variés qui agissent en concert et peuvent avoir aussi bien lieu à la suite de **pertes de signaux inhibiteurs** que de **gains de signaux activateurs**. En ce sens, la pression de sélection appliquée aux cellules dangereuses, tumorales comme infectées, mène à l'émergence de clones augmentant le ratio ligands inhibiteurs/activateurs exprimés à leurs surfaces, via une surexpression des ligands inhibiteurs et/ou une expression plus faible de ligands activateurs (**Figure 4 et 11**). Parallèlement, au travers de nombreux mécanismes, les modifications du microenvironnement mènent à un remodelage profond des paramètres physico-chimiques de ce dernier (i.e. quantité et qualité des médiateurs solubles, concentration en oxygène, rigidité du tissu, pH etc...), en faveur des signaux inhibiteurs décrits ci-dessus. Ces modifications dérèglent ainsi la balance signalétique internes aux NK et participent *in fine* aux processus d'immunoéchappement.

## V. Caractéristiques intrinsèques et plasticité des NK, sources d'hétérogénéité

En complément de l'ensemble des acteurs et processus décrits jusqu'à lors, l'**histoire passée individuelle** de la cellule NK vient ajouter un niveau de complexité à sa régulation fonctionnelle, en définissant aussi bien son **potentiel fonctionnel basal** que son éventuelle **sensibilité envers certains signaux régulateurs**.

### 1. L'importance de l'éducation

Tout au long de leur différenciation médullaire, mais également au cours de leur maturation, les NK sont exposées à des signaux environnementaux qui façonnent leur **identité** et leur **fonctionnalité**, on parle alors d'**éducation** (« **licensing** ») (Brodin et al., 2009; Elliott & Yokoyama, 2011) (**Figure 8**). En effet, l'observation que les NK se développant en l'absence de CMH-I sont hyporéactives confirme que les interactions répétées entre le CMH-I, exprimé par les cellules environnantes, et les récepteurs inhibiteurs des NK calibrent et conditionnent leur futur **seuil de sensibilité**. Il apparait ainsi que la fréquence et l'amplitude avec lesquelles ces récepteurs sont engagés lors de l'éducation de chaque cellule NK (Brodin et al., 2009; Johansson et al., 2005; Patel et al., 2010) déterminent aussi bien leur **tolérance face aux cellules du soi** que leur **fonctionnalité envers les cellules dangereuses** (Anfossi et al., 2006; Boudreau & Hsu, 2018; Yu et al., 2007). Néanmoins, différentes études de transfert adoptifs ont pu mettre en évidence que l'éducation des NK semble modulable *a posteriori* (Elliott et al., 2010; Joncker et al., 2010). Différentes théories non exclusives (i.e. de l'**armement** (« **arming** »), du



**désarmement** (« disarming »), du **rhéostat**, du confinement (« confining ») ou encore de l'**ajustement** (« tuning »), que nous ne détaillerons pas ici, tentent d'expliquer ce processus (Boudreau & Hsu, 2018; He & Tian, 2016).

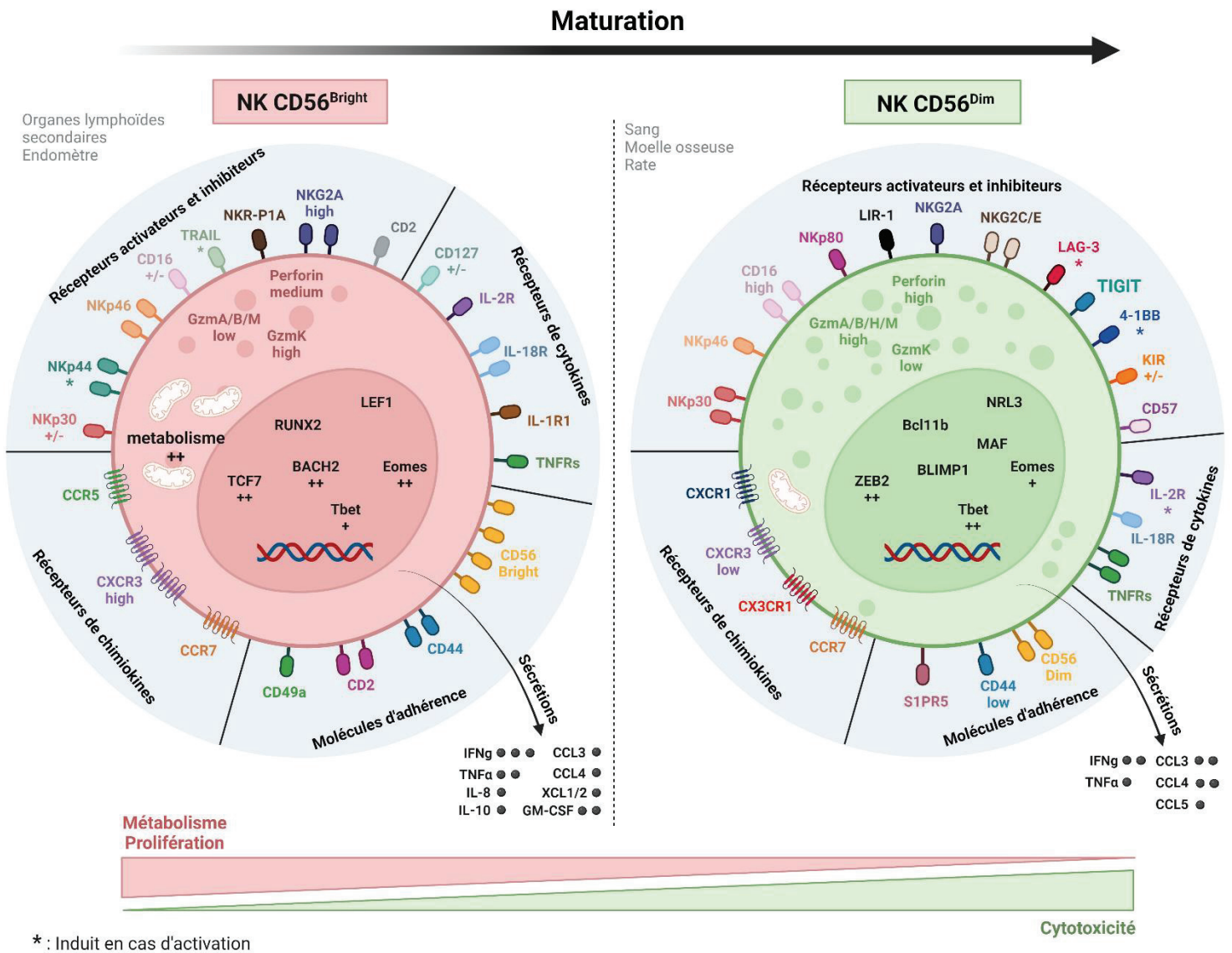
## 2. Lien entre maturation et fonctionnalité, la dichotomie CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup>

Suite aux **processus de maturation** décrits précédemment, **différentes populations de NK fonctionnelles et effectrices coexistent** au sein de l'organisme. Historiquement, les deux sous-types majoritaires chez l'homme correspondent aux cellules dites **CD56<sup>Bright</sup>** et **CD56<sup>Dim</sup>**. Néanmoins, les **différences phénotypiques** entre ces deux sous-populations s'étendent bien au-delà de l'expression du marqueur de surface CD56 et il est désormais clair que le spectre de molécules de surface permettant de percevoir les signaux de l'environnement, et donc de réguler l'état fonctionnel des NK, **évolue au cours de leur maturation** (Figures 7 et 8). Les **expériences de biologie** couplées aux progrès technologiques récents permettant un **profilage à l'échelle de la cellule unique** (i.e. single-cell ATAC-seq, single-cell RNAseq, cytométrie spectrale et de masse) ont permis de mettre en évidence que cette distinction phénotypique reflète plus largement des différences **épigénétiques, transcriptionnelles et fonctionnelles** majeures. Au cours de nos travaux, nous nous sommes ainsi intéressés aux caractéristiques et rôles assurés par les **CD56<sup>Bright</sup>** et **CD56<sup>Dim</sup>** circulants.

Bien que l'état de maturation des **NK humaines** et **murines** ne puisse pas être évaluée avec les mêmes stratégies et marqueurs phénotypiques (CD56<sup>Bright</sup> vs CD56<sup>Dim</sup> et CD27+ vs CD11b+, respectivement), les populations homologues inter-espèces semblent pour autant être associées à des **localisations anatomiques, des profils transcriptomiques/épigénétiques et capacités fonctionnelles similaires** (Collins et al., 2019; Crinier et al., 2018; Hayakawa et al., 2006). Ainsi, chez l'homme comme chez la souris, les NK les moins matures présentent un fort potentiel prolifératif et sont **professionnalisées dans la sécrétion de cytokines** (Chiossone et al., 2009), tandis les **capacités cytotoxiques s'intensifient à mesure de la maturation** (Chiossone et al., 2009; Grégoire et al., 2007). Néanmoins, prolifération mise à part, il apparaît que cette dichotomie correspond en réalité à des **différences de potentiels fonctionnel à l'état basal**, et soit à nuancer en cas d'activation, **selon le contexte et les signaux reçus**.

Vis-à-vis des sécrétions de facteurs solubles et des capacités cytotoxiques, il existe des **différences aussi bien qualitatives que quantitatives** entre ces cellules. **Quantitativement**, les CD56<sup>Bright</sup> expriment une **diversité de récepteurs aux cytokines plus large** et avec **une plus forte densité**, se traduisant par une réactivité plus forte et plus rapide aux signaux cytokiniques (i.e. **IL-1 $\alpha$ / $\beta$ , -2, -7, -10, -15, -18, -21, -23, -26, -27** et **IFN $\alpha$ / $\beta$**  (Almishri et al., 2016; Laroni et al., 2011; Michaud et al., 2010; Miot et al., 2015; Stegmann et al., 2010; Wendt et al., 2007; Ziblat et al., 2018)). Cette particularité explique notamment une **plus forte propension à la prolifération** induite par IL-2 et -15 (Bielekova et al., 2006; Carson et al., 1994; Nagler et al., 1989; Zhang et al., 2022). Par ailleurs, les CD56<sup>Dim</sup> sont également capables de sécréter des quantités significatives de facteurs solubles après stimulation cytokinique, bien qu'à moindre mesure, mais semblent néanmoins être **hautement plus réactives à l'engagement de récepteurs activateurs** (De Maria et al., 2011; Fauriat et al., 2010). Ainsi, en cas de stimulations de ce type mais d'absence de stimulation cytokinique, ou lors de combinaison des deux catégories de signaux, les **CD56<sup>Dim</sup> égalent voire surpassent** les sécrétions médiées par les **CD56<sup>Bright</sup>** (Fauriat et al., 2010). Du point de vue **qualitatif**, les CD56<sup>Bright</sup> semblent être la sous-population responsable des sécrétions d'**IL-8, -10** et **-13** ainsi que des **chimiokines XCL1/2** (Böttcher et al., 2018; Cooper et al., 2001; De Andrade et al., 2019; Montaldo et al., 2012; Saito et al., 1994), tandis que les **CD56<sup>Dim</sup>** semblent être spécialisées dans la sécrétion des **CCL3, CCL4** et **CCL5** (De Andrade et al., 2019; Fauriat

et al., 2010). Les quantités sécrétées d'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  et de GM-CSF, seront quant à elles plus élevées chez les CD56<sup>Bright</sup> en cas de stimulations cytokiniques ou au sein des CD56<sup>Dim</sup> en cas d'engagement des récepteurs activateurs (Cooper et al., 2001; Fauriat et al., 2010; Fehniger et al., 1999).



**Figure 7 : La dichotomie phénotypique et fonctionnelle des CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup>.**

Chez l'homme, les NK CD56<sup>Bright</sup> (rose) mûrissent en NK CD56<sup>Dim</sup> (vert). Ces populations présentent de nombreuses différences dans (i) les facteurs de transcription qu'elles expriment, (ii) leur phénotype, (iii) leur localisation anatomique et (iv) leur potentiel fonctionnel. L'ensemble de ces différences sont présentées ici. Les molécules de surface sont catégorisées en quatre groupes : Récepteurs activateurs/inhibiteurs, Récepteurs de cytokines, Molécules d'adhérence, Récepteurs de Chimiokines. \* : molécule dont l'expression est induite en cas d'activation.

En termes de cytotoxicité, les **CD56<sup>Bright</sup>** expriment plus faiblement les molécules de cytotoxicité que les **CD56<sup>Dim</sup>**, telles que les **Gzms A, B, H, M** et la **perforine** (Bratke et al., 2005; De Andrade et al., 2019), et présentent donc, de fait, un potentiel à la dégranulation et à la lyse de cibles relativement plus faible que ces dernières (Zamai et al., 2020). A cela s'ajoute l'expression du récepteur **CD16a**, nécessaire au processus d'**ADCC** (Lanier et al., 1986), par l'ensemble des **CD56<sup>Dim</sup>** contre seulement une fraction des **CD56<sup>Bright</sup>** (Allan et al., 2010; Poli et al., 2009). De façon intéressante, les **CD56<sup>Bright</sup>** expriment fortement le **GzmK**, et peuvent d'une part surexprimer les **Gzms A/B/Perforine/LFA-1/NKG2D/CD2** et d'autre part acquérir l'expression de **TRAIL** après activation, autant de molécules impliquées dans la lyse des cellules dangereuses (Bade et al., 2005; Bratke et al., 2005; De Andrade et al., 2019; Grossman et al., 2004; Jiang et al., 2011; Wagner et al., 2017). Il apparaît ainsi que, dans certains contextes tels que des stimulations par les cytokines **IFN- $\gamma$ , IL-2, -10, -15** et **-26**, les **CD56<sup>Bright</sup>** présentent des capacités de cytolyse similaires à celles de leurs homologues plus matures (Carson et al., 1995; Miot et al., 2015; Stegmann et al., 2010; Wagner et al., 2017; Zamai et al., 2020). Néanmoins, la vaste majorité des études considèrent les **CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>neg</sup>** et **CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>pos</sup>** comme une seule et même population, mais il semble raisonnable d'envisager que cette dernière catégorie cellulaire puisse présenter un potentiel cytotoxique plus élevé.

De façon intéressante, ces différentes populations de NK expriment différemment de nombreux récepteurs, activateurs comme inhibiteurs, suggérant là encore de potentielles différences de régulation fonctionnelle selon leur environnement. Ainsi, les **CD56<sup>Bright</sup>** expriment plus fortement **NKR-P1A** (Bennett et al., 1996), **CD2** (Bryceson et al., 2006; Poli et al., 2009), **NKp46** (Caligiuri, 2008; Poli et al., 2009; Zhao et al., 2012), ou encore **NKp44** en cas d'activation (Esin et al., 2008; Portevin & Young, 2013). Les **CD56<sup>Dim</sup>** expriment quant à elles plus fortement, et dès l'état basal, les récepteurs activateurs **KLRG1** (Voehringer et al., 2002), **NKG2C/E**, **NKp30** et **2B4** (De Andrade et al., 2019; Ferlazzo et al., 2004; Jost et al., 2011; Zhao et al., 2012) en plus d'être les seules NK à pouvoir acquérir l'expression de **4-1BB** après activation (Cabo et al., 2021). Sur le versant inhibiteur, les **CD56<sup>Bright</sup>** expriment plus fortement **CD96** et toute cette population est **NKG2A+**, là où seule une partie des **CD56<sup>Dim</sup>** exprime ce marqueur (De Andrade et al., 2019; Ferlazzo et al., 2004; Zhao et al., 2012). A l'inverse, ces derniers expriment plus fortement **TIM3** (Anderson et al., 2016), **TIGIT** (Yin et al., 2018) et **LAG3** (Narayanan et al., 2020) en cas d'activation, et sont caractérisées par leur expression spécifique des récepteurs **KIRs** (Allan et al., 2010; Ferlazzo et al., 2004; Zhao et al., 2012).

Enfin, les **CD56<sup>Bright</sup>** sont **métaboliquement plus actives** et expriment plus fortement les **récepteurs aux nutriments** après activation (Keating et al., 2016).

### 3. L'impact à long terme des stimulations passées

#### 3.1. Les NK, des lymphocytes innés doués de mémoire

#### Encadré 1 : Le concept de l'immunité adaptative

La **mémoire immunitaire**, portée par les populations adaptatives (i.e. LT et LB), est directement liée à l'histoire de la cellule. En effet, suite à une **première reconnaissance d'un antigène**, les clones LT et LB spécifiques entrent en prolifération, désignée comme la **phase d'expansion**. Une fois la pathologie contrôlée, ces cellules désormais superflues entrent dans une **phase de contraction**, ne laissant perdurer qu'une fraction limitée de cellules ayant acquis des **caractéristiques mémoires**. Ces cellules mémoires, en plus d'avoir une **longue durée de vie**, permettant leur **persistance**, seront remobilisées **plus rapidement** et avec une **réactivité augmentée** lors de prochaines rencontres avec le même antigène (Farber et al., 2014). Ce paradigme historique opposant cellules innées et adaptatives a récemment été challengé avec la description de **caractéristiques mémoires** par les populations ILCs (ILC1, ILC2, ILC3, NK) obtenues suite à de **fortes activations** passées lors de **processus inflammatoires** (Martinez-Gonzalez et al., 2016; Serafini et al., 2022; Verma et al., 2021; Wang et al., 2018; Weizman et al., 2019).

##### 3.1.1. Les populations NK adaptatives

L'émergence de NK adaptatives a dans un premier temps été suggérée chez la souris dans le cas d'expositions à des **haptènes chimiques** (O'Leary et al., 2006; Paust et al., 2010; Peng et al., 2013), bien qu'il soit probable qu'il s'agisse en réalité de cellules désormais considérées comme des ILC1 hépatiques. Néanmoins, plusieurs travaux ont récemment décrit une **sous-population de NK circulante « adaptative »** ayant suivi les étapes d'**expansion, contraction, persistance à long terme** et présentant une fonctionnalité accrue lors de **réponses immunitaires de type « rappel »** en cas d'**infections virales** par le cytomégalovirus (**CMV**) (Holmes & Bryceson, 2016; Reeves et al., 2015; Rölle & Brodin, 2016; Rückert et al., 2022) (**Figure 8**). D'ailleurs, une approche élégante par traçage de **mutations somatiques au sein de l'ADN mitochondrial** à l'échelle de la cellule unique a permis de confirmer que l'émergence de ces NK adaptatives découle d'une **expansion clonale** (Rückert et al., 2022). Cette population a également été détectée au sein de patients présentant de nombreuses autres infections (i.e. par hantavirus, HIV-1, HBV, HCV, virus du chikungunya...), mais qui étaient systématiquement séropositifs au CMV (Béziat et al., 2012; Björkström et al., 2011; Petitdemange et al., 2011; Ravet et al., 2007; Reeves et al., 2015). Néanmoins, les descriptions de NK adaptatives émergeant après **vaccinations** suggèrent fortement que des réponses mémoires médiées par les NK existent contre d'autres pathogènes également, bien que des études complémentaires soient nécessaires pour confirmer cette hypothèse (Dou et al., 2015; Reeves et al., 2015; Suliman et al., 2016; Wijaya et al., 2021).

A l'instar des LT, l'émergence de populations NK adaptatives se base sur une **stimulation tripartite**, à savoir i) la **reconnaissance d'un antigène**, notamment grâce à l'interaction ligand/récepteur

**m157/Ly49H** chez la souris ou entre les molécules **HLA-E** associées aux peptides issus de la protéine virale **UL40** et le récepteur activateur **NKG2C** chez l'homme (Hammer et al., 2018; Mujal et al., 2021), ii) l'engagement du récepteur **DNAM-1** murin ou **CD2** humain, s'apparentant à un **signal de co-stimulation** activateur (Hammer et al., 2018; Liu et al., 2016; Nabekura et al., 2014; Rölle et al., 2016), et enfin iii) l'implication de **cytokines pro-inflammatoires**. En ce sens, les modèles murins déficients en **IL-12**, **-18**, **-33** et **IFN- $\alpha$**  ou en leurs récepteurs ont permis de mettre en évidence l'importance de ces signaux, en particulier lors des **phases d'expansion** (Beaulieu et al., 2014; Hammer et al., 2018; Madera & Sun, 2015; Majewska-Szczepanik et al., 2013; Sun et al., 2012; van den Boorn et al., 2016). Néanmoins, **les mécanismes intracellulaires** sous-jacents à la différenciation de NK adaptatives restent mal compris. Pour autant, les avancées majeures de ces dernières années ont permis la mise en évidence de **modifications à la fois épigénétiques et d'expression de facteurs de transcription** mis à l'œuvre pour assurer une **reprogrammation d'expression génique profonde et transmissible aux cellules filles**. Ainsi, ce compartiment adaptatif se caractérise par la surexpression des facteurs de transcription **Bcl11b**, **ZEB2**, **ZBTB32**, **ZBTB38**, **IRF8**, **RUNX1**, **RUNX3** et **JAKMIP1** (Adams et al., 2018; Beaulieu et al., 2014; Rückert et al., 2022) et la perte d'expression concomitante de **PZLF** (ZBTB16) et **BLIMP-1** (Lee et al., 2015; Rückert et al., 2022; Schlums et al., 2015). Bien que l'impact biologique de certaines de ces modifications d'expression reste à évaluer, des études récentes ont montré l'importance de l'activation de STAT4 par l'IL-12 pour induire la surexpression des facteurs de transcription nécessaires aux **phases d'expansion clonale** tels que **Tbet**, **RUNX1**, **RUNX3** (Madera et al., 2018; Rapp et al., 2017) ou encore **ZBTB32** et **IRF8** agissant via la répression du facteur anti-prolifératif **BLIMP-1** (Adams et al., 2018; Beaulieu et al., 2014). Parallèlement, **Bcl11b** joue un rôle critique dans le processus de différenciation (Holmes et al., 2021). De façon intéressante, différents travaux ont mis en évidence les nombreuses similitudes entre les processus de différenciation et de fonctionnalité des populations LT et NK adaptatives (Bezman et al., 2012; Lau et al., 2018; Yukawa et al., 2020).

Les efforts dédiés à la compréhension des caractéristiques identitaires et fonctionnelles spécifiques de NK adaptatives, notamment par des approches à l'échelle de la cellule unique (i.e. **single-cell ATAC-seq** et **single-cell RNAseq**) démontrent une proximité épigénétique et transcriptomique avec la population **CD56<sup>Dim</sup>** dite « **terminalement différenciée** ». Ces résultats sont en accord avec leur phénotype **CD56<sup>Dim</sup>NKG2A-NKG2C<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>KIR<sup>+</sup>CD2<sup>High</sup>NKp46<sup>low</sup>NKp30<sup>low</sup>CD161<sup>-</sup>LIR-1<sup>+</sup>** (Adams et al., 2019; Björkström et al., 2011; Rückert et al., 2022; Smith et al., 2020) et des observations équivalentes ont été réalisées chez la souris (Mujal et al., 2021; Sun et al., 2009). Ces données alimentent ainsi l'hypothèse selon laquelle cette population adaptative correspondrait à un **stade de maturation terminale**. Malgré la proximité décrite ci-dessus, des **profils épigénétiques et d'expression génique spécifiques** à ces cellules adaptatives ont été mis en évidence (Lee et al., 2015; Rückert et al., 2022; Schlums et al., 2015; Smith et al., 2020), accompagnés de l'identification d'une « **empreinte mémoire inflammatoire** » avec une activité augmentée des motifs AP1 (Rückert et al., 2022), en accord avec leurs caractéristiques d'**hyper-fonctionnalité** et d'**hyper-réactivité**. Ainsi, ces NK adaptatives permettent une meilleure protection de l'hôte lors d'une **seconde rencontre** avec le même pathogène, au travers du cycle de **reconnaissance/expansion rapide/fonctions effectrices de sécrétion** et de **cytotoxicité** augmentées (Béziat et al., 2012; Nabekura & Lanier, 2014; Schlums et al., 2015; Sun et al., 2009; van den Boorn et al., 2016). De façon cohérente, ces cellules voient également leur **machinerie métabolique** intensifiée (Cichocki et al., 2018; Rückert et al., 2022) et deviennent résistantes aux effets immunosuppresseurs médiés par les **LTreg** et **MDSC** notamment grâce à une expression plus faible de **TIGIT** et une insensibilité aux effets de l'**IL-37** (Sarhan et al., 2016, 2018). Néanmoins et de façon intrigante, chez la souris, ces NK adaptatives induites par infections CMV semblent être moins réactives (en comparaison aux NK naïves) lors d'activations indépendantes de l'antigène **m157** telles que des

stimulations par des cytokines pro-inflammatoires (Béziat et al., 2013; Nabekura & Lanier, 2016) ou encore face à d'autres pathogènes (i.e. listeria ou influenza) (Min-Oo & Lanier, 2014; Nabekura & Lanier, 2016; Petitdemange et al., 2011), suggérant l'acquisition d'une certaine **dépendance à cet antigène**. Par ailleurs, les observations suivantes : (i) l'émergence de cellules NK adaptatives est **dépendante de la reconnaissance d'un antigène**, (ii) il existe un **gradient d'expression** du récepteur Ly49H au sein des NK, allant de l'absence totale à une expression élevée, et que (iii) **l'ensemble des NK présentent des caractéristiques mémoires** mais également des **disparités fonctionnelles** post-infection, ont mené à l'hypothèse que les effets à long terme de l'infection au CMV sur les NK pourraient être en lien direct avec le niveau d'expression de Ly49H. Ainsi, des études comparatives ont confirmé que l'acquisition du phénotype adaptatif décrit ci-dessus est proportionnel à l'avidité des cellules NK pour le ligand viral m157, mais également démontré que les NK n'étant pas directement impliquées dans ce processus de reconnaissance/expansion/différenciation, acquièrent elles-aussi des **caractéristiques mémoires suite à l'exposition aux cytokines pro-inflammatoires** sécrétées lors de la primo-infection (Adams et al., 2019; Grassmann et al., 2019; Nabekura & Lanier, 2016).

### 3.1.2. Les populations « memory-like », une autre forme de mémoire immunitaire

Ces observations font directement écho à la description de cellules qualifiées de **CIML** (« cytokine-induced memory-like ») ou **ML** (« memory-like »), présentant des caractéristiques mémoire suite à des **stimulations brèves et aigües *in vitro*** par la combinaison des **cytokines pro-inflammatoires IL-12, -15 et -18** (Berrien-Elliott et al., 2015; Cooper et al., 2009), indépendamment de reconnaissance antigénique (**Figure 8**). Les NK CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup> présentent toutes deux le potentiel de se convertir en CIML (Romee et al., 2012). Malgré l'absence de marqueur de surface spécifique, ces dernières se distinguent via leur forte expression des marqueurs **CD56, NKG2A, CD94, NKG2D, NKp44, NKp46, NKp30, CD62L, TRAIL, CD69 et CD25** et l'absence d'expression de **NKG2C et CD16** (Berrien-Elliott et al., 2020; Ewen et al., 2018; Romee et al., 2016), rappelant le phénotype des **cellules NK activées**. Parallèlement, elles perdent transitoirement l'expression des récepteurs **KIRs** après stimulation (Ewen et al., 2018; Romee et al., 2016). Chez l'homme comme chez la souris, les CIML se caractérisent par une **prolifération**, notamment grâce à l'expression du CD25, et une **durée de vie** significativement augmentées, comme le suggère la détection de telles cellules plusieurs mois après transfert adoptif (Cooper et al., 2009; Ni et al., 2016). De plus, les CIML et les **cellules filles** qui en découlent, présentent un **potentiel fonctionnel** et une **réactivité supérieure**, aussi bien *in vitro* qu'une fois transférées *in vivo*, aussi bien lors de l'engagement de récepteurs activateurs que suite à des stimulations par cytokines. Cette caractéristique se traduit notamment par une augmentation de leurs capacités sécrétoires et cytotoxiques, et donc par **meilleure surveillance des cellules tumorales** comme observé dans des modèles de leucémies aiguës, myélome multiple, lymphome, mélanome, ou encore dans des modèles de cancer de l'ovaire et de foie (Boieri et al., 2017; Bonanni et al., 2019; Gang et al., 2020; Ni et al., 2016; Pahl et al., 2018; Romee et al., 2016; Uppendahl et al., 2019; Zhuang et al., 2019). Les **premiers essais cliniques** évaluant les potentiels thérapeutiques des CIML après transfert adoptif et infusion de faibles doses d'IL-2 ont confirmé la **prolifération, l'hyper-réactivité** et le **maintien à long-terme** de ces cellules *in vivo* **au sein de patients** leucémiques (LAM réfractaire), avec des résultats encourageants dont nous discuterons dans un paragraphe dédié aux applications cliniques des cellules NK (**page 80**) (Berrien-Elliott et al., 2020; Romee et al., 2016). Dans ce contexte, comme pour les NK adaptatives issues d'infections virales par CMV, des **modifications épigénétiques** et **métaboliques** sont associées à l'acquisition de ces caractéristiques fonctionnelles, telle qu'une plus grande accessibilité des motifs « enhancers » et du gène **IFNG** lui-même (Becker-Hapak et al., 2021; Luetke-Eversloh et al., 2014; Ni et al., 2016; Rasid et al., 2019; Rückert et al., 2022) ou encore une augmentation de l'expression des **transporteurs à nutriments**, de la **masse mitochondriale** et de la

**glycolyse** (Becker-Hapak et al., 2021; Kedia-Mehta et al., 2021; Terrén et al., 2021) L'émergence *in vivo* de NK présentant une **mémoire fonctionnelle à long terme de stimulations cytokiniques endogènes passées** n'a été démontrée que récemment (Nabekura & Lanier, 2016; Rasid et al., 2019; Smith et al., 2020). Néanmoins, l'une de ces études observe certaines différences fonctionnelles entre les NK obtenues *in vivo* et les CIML générées *in vitro*, suggérant une potentielle hétérogénéité au sein des CIML dépendante des signaux reçus lors de la primo-activation (Nabekura & Lanier, 2016). En accord avec cette hypothèse, d'autres signaux activateurs peuvent participer à la genèse de **NK CIML** ou **ML** (« Memory-like »). Premièrement, l'**IL-1 $\beta$**  induit des effets similaires à ceux de l'IL-18, probablement car ces dernières induisent les mêmes voies de signalisation, suggérant que les **IL-1 $\alpha$**  ou **-33** pourraient avoir les mêmes propriétés (**Figure 5**). Il semble également probable que l'**IL-2** puisse être interchangeable avec l'IL-15. Enfin, l'**engagement de récepteurs activateurs**, soit par stimulation directe du **CD16a** soit par contact avec des **cellules tumorales**, mène là encore à des modifications fonctionnelles à long-terme (Pahl et al., 2018; Pal et al., 2017). Face à ces observations, il serait particulièrement intéressant d'évaluer la capacité d'autres facteurs activateurs (i.e. IFN-I, TNF $\alpha$ , Récepteurs NCRs ou NKG2D etc...) à induire des CIML/ML, d'une part car cela sous-entendrait l'émergence possible de CIML/ML dans de nombreux contextes physiopathologiques, et d'autre part afin de comparer les propriétés fonctionnelles des CIML/ML induites par des signaux différents.

Récemment, deux études ont décrit des **sous-populations de NK CD56<sup>Bright</sup>NKG2C<sup>+</sup> résidant dans les tissus** (i.e. décidual et poumons) et présentant des **caractéristiques adaptatives** (Brownlie et al., 2021; Gamliel et al., 2018). Ces résultats suggèrent une hétérogénéité inattendue au sein des populations de NK adaptatives et élargissent les contextes physiopathologiques au cours desquels elles peuvent émerger, mais également démontrent que ces dernières présentent des intérêts biologiques majeurs qui dépassent la défense de l'hôte contre des pathogènes (Gamliel et al., 2018). Malgré ces disparités, l'ensemble des différentes populations de NK aux **caractéristiques mémoires** (i.e. Adaptative et CIML) présentent de nombreuses similitudes, démontrant qu'un évènement ponctuel tel qu'une activation aiguë participe directement au **potentiel fonctionnel à long terme**, et aux interactions et rôles assurés par les populations de NK dans leurs environnements, au travers de **remaniements épigénétiques, transcriptionnels et métaboliques**. La caractérisation profonde de ces populations et la compréhension des mécanismes mis en place pour assurer ces processus biologiques représentent un champ d'étude très actif à l'heure actuelle et ouvrent de nouvelles perspectives pour l'élaboration de stratégies thérapeutiques dont nous discuterons.

A l'inverse, des stimulations activatrices passées semblent également pouvoir participer à la **dysfonction des cellules NK**.

### 3.2. Des cellules sujettes à l'épuisement (exhaustion) ?

Le concept d'**épuisement cellulaire**, ou « **exhaustion** », a émergé dans le domaine des LTs. En effet, des **stimulations chroniques** mènent à l'émergence de LT **dysfonctionnelles**, un état **irréversible** directement lié à un **remodelage épigénétique** (Blank et al., 2019). Assez naturellement, de nombreux travaux se sont ainsi intéressés à évaluer l'implication de l'exhaustion dans la biologie des NK. A ce jour, l'existence d'un processus parfaitement équivalent au sein des NK reste encore sujet à débat, notamment dû à la **double difficulté** de i) réussir à établir une frontière claire entre les différents processus menant à la dysfonction des NK (i.e. inhibition, anergie, tolérance, senescence...) et l'exhaustion *bona fide* et ii) d'identifier un phénotype spécifique à ces cellules, dans la mesure où les marqueurs d'exhaustion correspondent également à des marqueurs d'activation.

Il apparaît néanmoins que les NK **stimulées de façon chronique** avec des ligands de récepteurs activateurs (notamment **NKG2D**, **NKG2C**, **NKp30**) présentent par la suite une **hyporéactivité** face aux stimulations par ce même ligand (Sun & Lanier, 2008), mais également face à d'autres stimulus (Alvarez et al., 2019; Coudert et al., 2008; Merino et al., 2019). De même, l'**exposition prolongée et continue** à de fortes concentrations d'**IL-15** et l'activation prolongée de **mTOR**, s'avèrent provoquer des **altérations métaboliques** associées à la **perte de fonctions** des NK (Bou-Tayeh et al., 2021; Elpek et al., 2010; Felices et al., 2018). Suite à de telles activations, ces NK dysfonctionnelles présentent un **profil épigénétique** similaire aux LT CD8+ épuisés (Merino et al., 2019). Parallèlement, la capacité de cytotoxicité directe de ces cellules est **quantitativement limitée** par leur nombre de granules lytiques intracellulaires/de molécules effectrices (i.e. granzymes et perforine), avec une diminution progressive de ces derniers à chaque dégranulation jusqu'à épuisement, suggérant à nouveau l'induction d'un état dysfonctionnel en cas d'activation continue (Li et al., 2022; Prager et al., 2019). Enfin, les NK adaptatives CD56<sup>Dim</sup>NKG2C+, semblent plus enclin à acquérir ces caractéristiques que leurs homologues NKG2C- (Merino et al., 2019), faisant écho à l'observation équivalente selon laquelle les LT les plus matures sont plus à même d'entrer dans un état d'exhaustion (**Figure 8**).

#### 4. Le concept émergent de la transdifférenciation des NK en ILC1-like

L'ensemble des ILCs, humaines comme murines, présentent des profils transcriptionnels, phénotypiques et fonctionnels différents selon les organes et les contextes. Ces observations récentes démontrent que ces cellules, même matures, maintiennent un **certain degré de plasticité** au-delà de leurs caractéristiques intrinsèques définies lors de leur développement et maturation, afin de s'adapter aux **besoins immédiats de leur environnement**. En ce sens, différentes études ont mis en évidence des processus de **transdifférenciation inter-ILC**, suggérant qu'une même cellule peut, selon le contexte, assurer des rôles parfois biologiquement opposés, justifiant la nécessité de comprendre de tels processus.

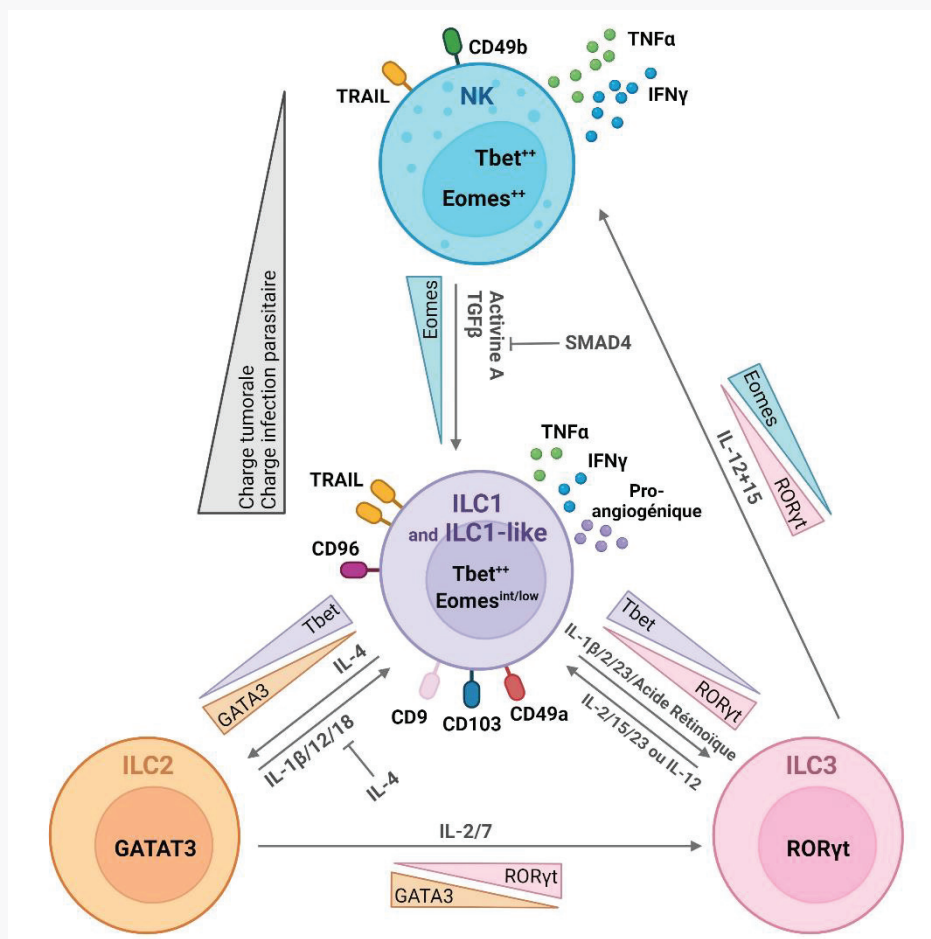
Parmi ces différentes transdifférenciations, la **conversion** nouvellement découverte des **cellules NK en ILC1**, généralement désignées comme « **ILC1-like** », suscite un intérêt grandissant de par ses potentiels impacts physiopathologiques (**Figures 8 et 11**). L'émergence de telles cellules aux **caractéristiques et profil transcriptomique intermédiaires** a été observée chez l'homme et la souris dans différents contextes physiopathologiques inflammatoires, tels que des **infections parasitaires** (Park et al., 2019), la **stéatose hépatique non alcoolique associée à l'obésité** (Cuff et al., 2019), le **cancer** (Gao et al., 2017; Moreno-Nieves et al., 2021; Shaim et al., 2021) ou encore lors du **développement des glandes salivaires** (Cortez et al., 2016). Ce processus de conversion est déclenché en cas d'**exposition prolongée au TGFβ1** ou à l'**activine A** (Rautela et al., 2019), et il est amplifié en présence d'**IL-2** ou **-15** comme démontré *in vitro* et *in vivo* (Cerdeira et al., 2013; Cortez et al., 2016; Hawke et al., 2020; Montaldo et al., 2016; Moreno-Nieves et al., 2021; Ni et al., 2018). En accord avec les caractéristiques respectives des populations NK et ILC1, cette conversion se traduit par l'acquisition et la surexpression progressive des **marqueurs de résidence CD49a, CD103 et CD9**, ainsi que par une baisse concomitante du facteur de transcription **Eomes** sans impact sur Tbet, permettant de définir le phénotype **Lin-CD56+NKp46+CD127-CD49a+CD103+CD9+CD69+Eomes<sup>int</sup>Tbet+** chez l'homme et l'équivalent murin **Lin-NK1.1+NKp46+CD49b+CD127-CD49a+CD103+CD9+CD69+Eomes<sup>int</sup>Tbet+** (Cortez et al., 2016, 2017; Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017; Hawke et al., 2020; Moreno-Nieves et al., 2021).



## Encadré 2 : Les processus de transdifférenciation inter-ILCs

Comme évoqué précédemment, les ILCs sont désormais perçues comme des acteurs essentiels au maintien de l'homéostasie. Différentes études ont récemment démontré une diversité inattendue au sein du compartiment des ILCs, au-delà des populations de NK/ILC1/ILC2/ILC3. Ainsi, la mise en évidence de **populations cellulaires intermédiaires** partageant certaines caractéristiques transcriptionnelles, phénotypiques et fonctionnelles a révélé une **plasticité inter-ILCs** importante, faisant directement écho à celle observée chez les LT auxiliaires (Th) (Dupage & Bluestone, 2016). En ce sens, dans certains contextes d'inflammation, de stress et/ou en présence de cytokines spécifiques, les ILC d'un lignage peuvent acquérir les caractéristiques d'un autre lignage, voire, dans certains cas, subir une transdifférenciation complète (**illustré ci-dessous**).

Ainsi, les **ILC1** acquièrent des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles d'**ILC3 NCR+** sous l'influence des signaux **IL-1 $\beta$** , **-2**, **-23** et de l'**acide rétinoïque** (Bernink et al., 2015; Koh et al., 2019) tandis que certaines **ILC2** deviennent productrices d'IL-17, caractéristique intrinsèque des **ILC3**, une fois exposées à des contextes inflammatoires et aux cytokines **IL-2** et **-7** (Hochdörfer et al., 2019; Huang et al., 2015; Zhang et al., 2017). Une étude récente a permis de préciser l'implication du sous-type d'**ILC2 CD117+** dans ce processus (Hochdörfer et al., 2019). A l'inverse, l'**IL-12** et **-15** permettent aux ILC3 d'acquérir certaines caractéristiques phénotypiques associées aux **NK** et de devenir cytotoxiques (Raykova et al., 2017). Par ailleurs, chez l'homme comme chez la souris les ILC2, ILC3 et NK peuvent acquérir des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des **ILC1**. Le cas des NK sera traité dans le paragraphe suivant, tandis que les **ILC2** et **ILC3** réalisent une telle transdifférenciation en réponse aux cytokines pro-inflammatoires **IL-1 $\beta$** /**-18** et **-12** (Bal et al., 2016; Hochdörfer et al., 2019; Lim et al., 2016; Silver et al., 2016; Y et al., 2016) d'une part, et **IL-2**/**-15**, **-23** (Bernink et al., 2015; Cella et al., 2010, 2019; Mikami et al., 2018; Vonarbourg et al., 2010) ou **IL-12** seule (Bernink et al., 2013) d'autre part, respectivement. L'ensemble de ces transdifférenciations s'accompagne d'une perte d'expression des **facteurs de transcriptions spécifiques au lignage cellulaire originel** et de l'acquisition concomitante de ceux du lignage final, comme en témoigne une étude récente rapportant que la simple surexpression ectopique de Tbet et Eomes au sein des **ILC3** permet l'inhibition de ROR $\gamma$ t et leur conversion en cellules **NK-like** (Kiekens et al., 2022).

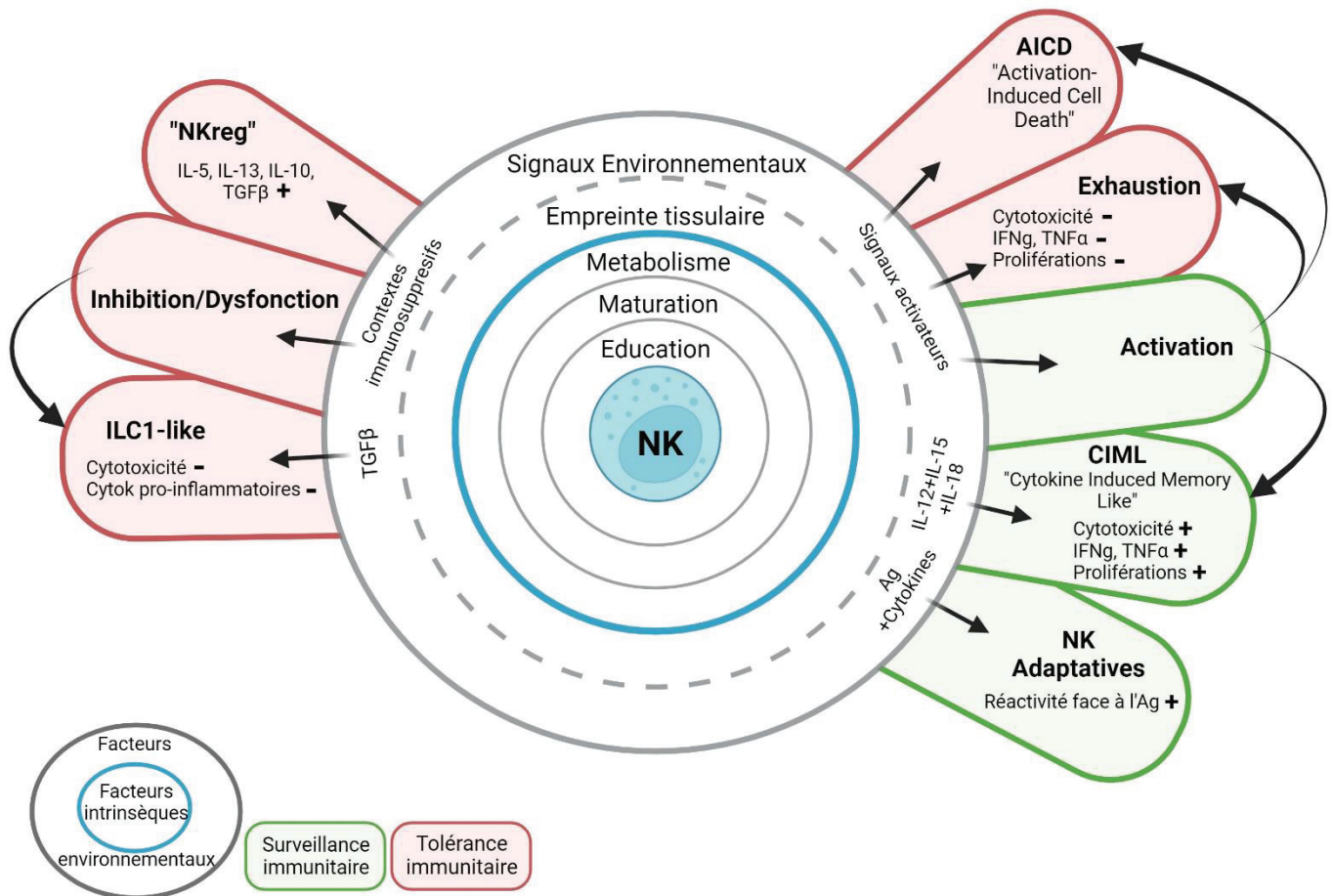


Fonctionnellement, cette conversion s'accompagne d'une **diminution significative et systématique du potentiel cytotoxique et prolifératif** des ex-NK, ainsi que d'une **modification de leurs capacités sécrétoires** (Cerdeira et al., 2013; Cortez et al., 2016, 2017; Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017; Moreno-Nieves et al., 2021). Ainsi, la plupart des études rapportent une inhibition de la production d'**IFN $\gamma$** , **TNF $\alpha$**  et **GM-CSF**, tandis que certaines autres montrent un maintien de leurs niveaux d'expression (Bruno et al., 2013; Cortez et al., 2016; Filipovic et al., 2018; Gao et al., 2017; Hawke, Mitchell, et al., 2020; Rautela et al., 2019). Parallèlement, l'acquisition de nouvelles fonctions telles que la **sécrétion de facteurs pro-angiogéniques** a été décrite, bien qu'il ait été proposé que ces observations puissent être imputables à des conditions hypoxiques, connues pour stimuler ce genre de fonctions (Bruno et al., 2013; Cerdeira et al., 2013; Hawke, Whitford, et al., 2020). Nous aborderons les divergences concernant l'impact de cette conversion sur les fonctions sécrétoires des NK en **partie discussion**, bien qu'il semble probable que ces dernières s'expliquent par l'hétérogénéité des environnements, contextes et populations NK originelles étudiés mais également des matériels et méthodes utilisés lors de ces différentes approches. Bien que le **caractère réversible/permanent** de cette conversion n'ait jamais été directement évalué, il semblerait que certaines caractéristiques fonctionnelles, phénotypiques et épigénétiques d'ILC1-like soient **maintenues de manière durable**, y compris après arrêt des traitements ou contextes responsables de cette conversion (Cerdeira et al., 2013; Park et al., 2019; Shaim et al., 2021).

Ces résultats témoignent ainsi que ce processus de transdifférenciation reflète non seulement une **diminution des activités d'immunosurveillance contre les pathogènes** des NK, mais également l'acquisition d'un profil tolérogène semblant supporter d'autres processus biologiques, ce qui n'est pas sans rappeler la biologie des NK déciduales et de glandes salivaires, liens dont nous discuterons également plus tardivement (Cortez et al., 2016, 2017; Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017).

Néanmoins, différentes questions essentielles à la compréhension de cette conversion et de ses rôles physiopathologiques restent à ce jour ouvertes. Premièrement, les mécanismes intracellulaires permettant cette transdifférenciation et polarisation fonctionnelle sont peu décrits, bien que des études récentes démontrent l'importance de l'inhibition du facteur de transcription **Eomes** par les **voies de signalisation non-canoniques** du TGF $\beta$ , notamment la voie **p38/MAPK** (Cortez et al., 2016, 2017; Hawke, Mitchell, et al., 2020; Rautela et al., 2019). En ce sens, cette conversion s'opère indépendamment de **mTOR** et **SMAD4**, ce dernier agissant au contraire comme un répresseur de ce processus (Cortez et al., 2017). Deuxièmement, les descriptions d'ILC1-like dérivées de NK CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup> du sang, de trNK dans plusieurs tissus et enfin dans différents contextes suggèrent un potentiel universel des NK à pouvoir réaliser cette transdifférenciation. Pour autant, ces observations questionnent également i) sur la propension des différentes sous-populations de NK (i.e. CD56<sup>Bright</sup>/CD56<sup>Dim</sup>/Adaptatives circulantes et trNK de différents tissus) à subir cette transdifférenciation et ii) sur le potentiel rôle tenu par d'autres molécules immunosuppressives connues pour réguler les fonctions des NK, autant de paramètres qui pourraient révéler un **spectre hétérogène d'ILC1-like** inattendu. Par ailleurs, la récente mise en évidence de l'incroyable diversité des NK et ILC1s et l'absence de définition universelle, standardisée et consensuelle permettant de distinguer ces populations, tendent à suggérer que certaines populations identifiées comme des sous-populations de NK et ILC1s puissent en réalité correspondre à des populations d'ILC1-like. Ces sujets seront discutés.

La récente mise en évidence de l'**extraordinaire plasticité** des NK démontre clairement que leurs histoires individuelles conditionnent directement leurs potentiels fonctionnels et participent à l'**immense hétérogénéité**, jusqu'à lors sous-estimée, de ces cellules.



**Figure 8 : Plasticité fonctionnelle des NK.**

La fonctionnalité des NK est finement conditionnée par un ensemble de facteurs intrinsèques, indiqués ici à l'intérieur du cercle bleu (i.e. éducation, état de maturation, métabolisme), et de facteurs environnementaux. Ces facteurs pris dans leur ensemble régulent le type de fonctions assurées par les NK ainsi que leur amplitude, menant *in fine* vers des états permettant la surveillance (en vert) ou la tolérance immunitaire (en rouge).

## VI. Le cas du dialogue bidirectionnel entre NK et DCs, un axe majeur pour les réponses immunitaires

Comme évoqué tout au long de cette introduction, les NK interagissent continuellement avec leur environnement, qui conditionne la fonctionnalité et le rôle des NK, qui à leur tour le façonnent activement. Parmi ces nombreuses interactions, il en est une qui est essentielle au maintien de l'homéostasie : **le dialogue entre cellules NKs et DCs.**

### Encadré 3 : Présentation et généralités de la biologie des DC

Chez l'homme, les DCs représentent une population cellulaire hétérogène comprenant deux catégories principales sur la base de **différences ontogéniques, phénotypiques et fonctionnelles**.

Il est ainsi possible de distinguer les DC **plasmacytoïdes** (pDC), spécialisées dans les réponses antivirales via leur production d'**IFN-I**, du groupe hétérogène de **DC conventionnelles** (cDCs) professionnalisées dans la **présentation d'antigènes** et lui-même principalement composé des **cDC1, cDC2** et de la population nouvellement identifiée **DC3** (Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Segura & Segura, 2022; Villani et al., 2017).

A l'état homéostasique, ces cellules résident majoritairement au sein des **organes lymphoïdes**, bien que les **cDC** soient également observées en périphérie ou au sein des tissus en contact avec l'environnement extérieur susceptibles de rencontrer des pathogènes. Lors d'inflammation, l'ensemble des DCs sont **rapidement recrutées** sur le site concerné, détectent et internalisent les motifs PAMPs et DAMPs notamment via l'expression d'un spectre de **récepteurs innés**, comprenant les **TLRs**, variant d'une population à l'autre (Takeda et al., 2003; Takeuchi & Akira, 2010). Ainsi, sous l'influence de signaux pro-inflammatoires et en parallèle des processus d'activation, les **cDC** peuvent d'une part **migrer** au sein des ganglions lymphatiques (Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Moretta, 2002) et d'autre part se différencier en **DC matures** (Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Li et al., 2023), qui acquièrent une forte expression des molécules du **CMH** et de **costimulation** (i.e. CD80, CD86, CD40), nécessaires à l'induction de **réponses LT** (Kvedaraite & Ginhoux, 2022). A l'inverse, l'ensemble des DC peuvent adopter un **profil tolérogène (toIDC)** lorsqu'exposées à des signaux anti-inflammatoires et participer à la mise en place d'environnements **immunosuppresseifs** (Maier et al., 2020; Morante-Palacios et al., 2021; Zheng et al., 2020).

Bien que relativement rares, les DC sont ainsi essentielles aux **réponses immunitaires innées précoces** et à l'**engagement des réponses adaptatives** (Alexandre et al., 2016; Martín-Fontecha et al., 2004; Mocikat et al., 2003), notamment au travers d'**interactions bilatérales** majeures avec les NK présentées dans le paragraphe suivant et illustrées en **figure 9**.

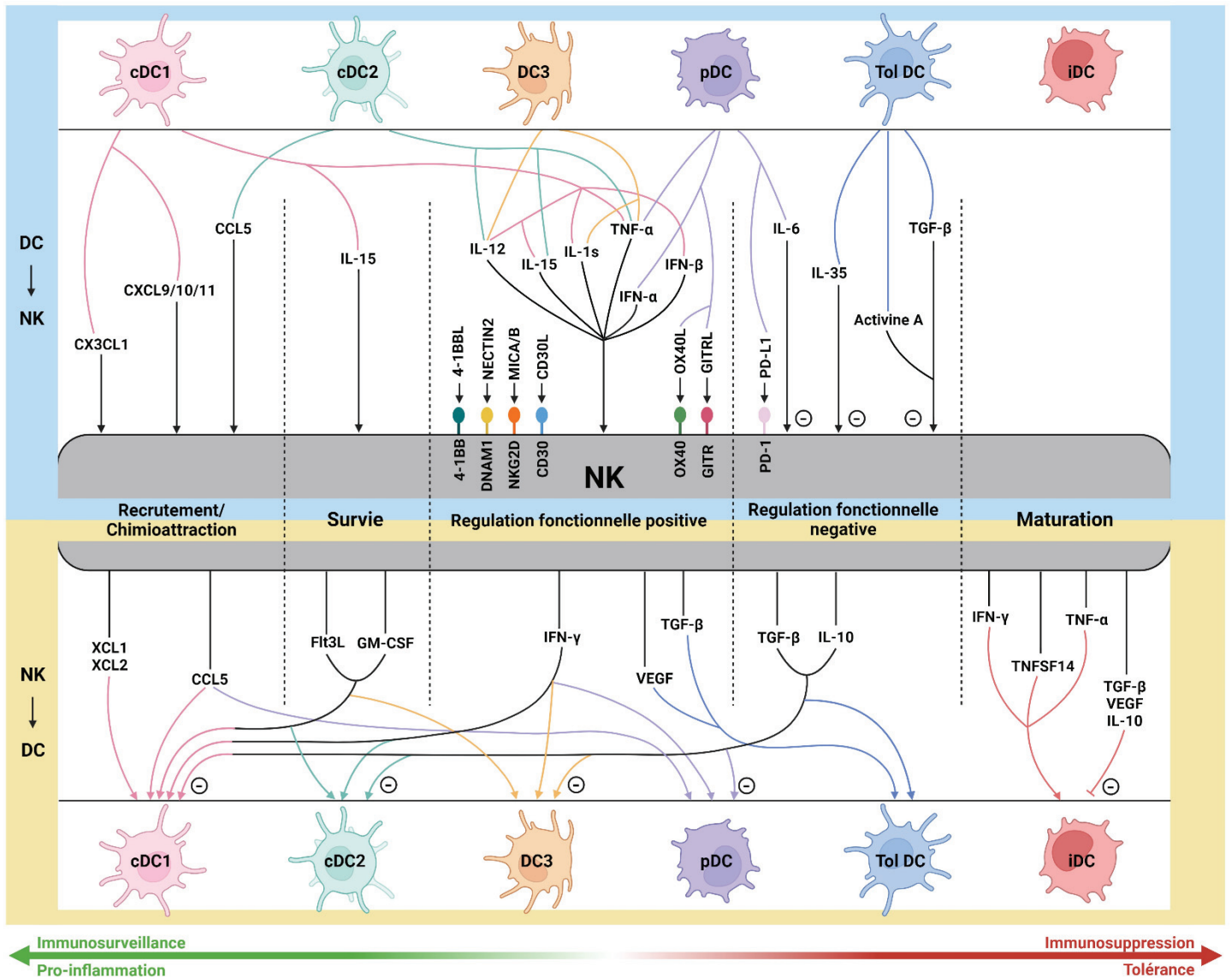
Sentinelles de l'immunité innée, les DC et les NK sont équipées pour détecter des signaux de « danger », conduisant à leur **activation précoce** en présence de pathogènes. Malgré des mécanismes d'immunosurveillance propres à chacune, les DC et les NK agissent en **binôme** afin d'assurer la mise en place d'une réponse immunitaire optimale. En effet, l'activation concomitante de ces cellules permet la mise en place d'un **dialogue bidirectionnel** menant à la mise en place de **boucles de rétrocontrôles positifs mutuels et synergiques**, supportant aussi bien leur **survie, maturation et migration/recrutement** que leurs **régulations fonctionnelles** respectives (Peterson & Barry, 2021; Thomas & Yang, 2016). Comme présenté dans l'**encadré 3** et la **figure 9**, chaque sous-population de DCs activées permet d'induire ou d'augmenter l'état d'activation des NK via la **sécrétion de facteurs cytokiniques** différents : **IL-12, -15, IFN- $\beta$**  et **TNF- $\alpha$**  pour les **cDC1** (Alexandre et al., 2016; Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Lucas et al., 2007; Mortier et al., 2008), **IL-1s, -12, -18, -23** et de **TNF- $\alpha$**  pour les **cDC2** et **DC3** (Bourdely et al., 2020; Kvedaraite & Ginhoux, 2022), et **IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$**  pour les **pDC** (Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Lund et al., 2003). De façon intéressante, les sécrétions d'IFN-I renforcent les productions d'IL-12 et -15 et l'expression de **MICA/MICB** par les DCs (Hansen et al., 2011; Jinushi et al., 2003; Mattei et al., 2001; Sköld et al., 2018). De plus, les DCs interagissent physiquement avec les NK (Bajénoff et al., 2006; Barry et al., 2018) via l'expression de ligands des récepteurs activateurs **NKp30**,

**NKG2D**, **DNAM1** et **CD30** (TNFRSF8) pour les cDC (Pende et al., 2006; Simhadri et al., 2012; Viaud et al., 2009; Vitale et al., 2005), et **GITR** dans le cas des pDC (Hanabuchi et al., 2006). En accord avec les notions présentées lors du chapitre dédié aux facteurs régulant les NK, les **cDC** interagissent de façon privilégiée avec les NK et permettent ainsi d'induire fortement leurs activation, survie et l'ensemble de leurs fonctions effectrices, tandis que les pDC présentent un rôle plus modéré dans le soutien de la cytotoxicité des NK (Gerosa et al., 2005; Hornung et al., 2002). Par ailleurs, les cDC1 et cDC2 assurent la chimioattraction des NK via la sécrétion de **CXCL9**, **CXCL10**, **CXCL11**, **CX3CL1** et de **CCL5**, respectivement (Alexandre et al., 2016; Bourdely et al., 2020; Pallandre et al., 2008; Wang et al., 2022).

A l'inverse, les différentes populations de NK permettent l'**amplification** des interactions citées ci-dessus en supportant la **maturation fonctionnelle** et la **survie** des DCs à proximité mais également le **recrutement** de DCs provenant de la périphérie. Ainsi, en réponse aux différents stimuli cités ci-dessus, les productions d'**IFN $\gamma$** , **TNF- $\alpha$**  et **TNFSF14** des NK stimulent la **maturation** des DC (Goldszmid et al., 2012; Holmes et al., 2014; Vitale et al., 2005; Walzer et al., 2005), permettant notamment l'expression des molécules du **CMH** et de **costimulation** (i.e. CD80, CD86, CD40), tout en assurant une **lyse sélective** des DC immatures au travers du processus désigné de « **DC-editing** » (Morandi et al., 2012; Walzer et al., 2005). Par ailleurs, la production précoce d'**IFN $\gamma$**  par les NK agit également sur les fonctions des DC, notamment en stimulant les sécrétions d'**IL-12** et **CXCL9** par les cDC1 (Alexandre et al., 2016; Gerosa et al., 2008). Par ailleurs, les NK activées produisent du **Fit3L** et du **GM-CSF** impliqués dans la **différenciation** et la **survie** des DC (Barry et al., 2018; Hirata et al., 2010), en plus des chimiokines permettant le recrutement des DCs telles que **XCL1/XCL2** par les NK **CD56<sup>Bright</sup>** et **CCL3**, **CCL4**, **CCL5** principalement assurées par les NK **CD56<sup>Dim</sup>** (Böttcher et al., 2018; Crozat et al., 2010). Comme évoqué précédemment, ces nombreuses interactions permettent également *in fine* l'instruction et la mise en place de réponses immunitaires, y compris **adaptatives** (Alexandre et al., 2016; Clavijo-Salomon et al., 2020; Deauvieu et al., 2015; Martín-Fontecha et al., 2004; Mocikat et al., 2003), **complexes** dépassant largement les seules cellules NK et DC, démontrant l'importance de ce dialogue pour assurer les défenses de l'organisme.

Néanmoins, ce dialogue n'est pas immuable. En effets, les **cDC1**, **cDC2** et **pDC** exposées à des populations ou cytokines (i.e. **IL-10**, **VEGF**, **TGF $\beta$** ) immunosuppressives (Long et al., 2019; Terra et al., 2018; Tung et al., 2018), ou encore à certaines **hormones stéroïdiennes** (i.e. la gonadotropine humaine (Wan et al., 2008), la progestérone (Xu et al., 2011), les corticostéroïdes ou la vitamine D3 (Farias et al., 2013; Morante-Palacios et al., 2021)), sont reprogrammées vers un profil **tolérogénique (tolDC)** (Morante-Palacios et al., 2021). Une forte diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (i.e. IL-12, -15, IFN-I, TNF- $\alpha$  etc...) et de l'expression des marqueurs de maturation MHC-II, CD40, CD80, CD86 en faveur de l'expression de **PD-L1** et **IDO1** est observée pour les tolDC qui deviennent elles-mêmes sources d'**IL-10**, **TGF $\beta$** , **IL-35** et d'**acide rétinolique** (Comi et al., 2019; Dixon et al., 2015; Morante-Palacios et al., 2021; Peng et al., 2020). Alors que le rôle immunosuppressif des tolDC via l'inhibition des populations pro-inflammatoires (Comi et al., 2019; Norian et al., 2009; Peng et al., 2020) mais également via l'induction, l'expansion et la fonctionnalité des **LTreg** (Akbari et al., 2001; Farias et al., 2013) et **LBreg** (Boldison et al., 2019; Qian et al., 2012) a bien été décrit, les interactions entre les tolDC et les NK n'ont jamais été étudiées, bien que leurs profils phénotypiques et fonctionnels suggèrent un fort potentiel à impacter directement et indirectement l'immunosurveillance médiée par les cellules NK. Au vu des notions introduites dans le paragraphe dédié à la conversion des NK en ILC1-like, il est tentant de proposer que ILC1-like et tolDC puissent induire et entretenir leurs reprogrammations et phénotypes respectifs, suggérant qu'un dialogue **tolDC/ILC1-like**, à l'instar du dialogue DC/NK classiquement décrit, puisse exister selon le contexte environnant.

Il apparaît ainsi que les activités respectives des NK et des DCs sont interconnectées, intensifiant leurs fonctions mutuelles pour catalyser les réponses immunitaires globales en cohérence avec les signaux environnementaux perçus.



**Figure 9 : Principales interactions du dialogue bilatéral NK/DC.**

Les NK et les différentes sous-populations de DC (i.e. cDC1, cDC2, DC3, pDC, tolDC, DC immatures (iDC)), lorsqu'activées, entrent dans un dialogue bilatéral au travers d'interactions physiques (ligands/récepteurs) et de sécrétions de cytokines et chimiokines. Via ces signaux, ces cellules régulent leurs survies, maturations, migrations/recrutements et états fonctionnels respectifs, permettant la mise en place de réponse immunitaires efficaces. Les effets des cDC1 (rose), cDC2 (vert), DC3 (jaune), pDC (violet), tolDC (bleu), iDC (DC immature, rouge) sur les NK (gris) sont ainsi présentés dans le cadran supérieur (bleu ciel), tandis que les effets des NK sur ces mêmes populations sont présentés dans le cadran inférieur (jaune). Les signaux sont classés en 5 catégories, selon leurs effets sur les NK ou sur les DC (i.e. Recrutement/chimioattraction, survie, Régulation fonctionnelle positive, Régulation fonctionnelle négative et Maturation).

## Chapitre 3- La relation dynamique entre cellules tumorales et NK dans le développement des cancers

Les NK sont naturellement présentes dans la **quasi-totalité des tissus** tout en étant **rapidement mobilisables** en cas de besoin pour assurer leurs rôles de sentinelles (Dogra et al., 2020). Ainsi, au travers de l'ensemble des concepts et notions préalablement présentés, ces lymphocytes sont impliqués dans de **très nombreux contextes physiopathologiques**. Dès leur découverte et description en tant que « cellules tueuses naturelles », en plus des évidences qui s'accumulent depuis lors, les NK sont perçues comme une population essentielle dans les défenses de l'organisme face aux pathogènes d'origine extérieure (i.e. virus, bactéries, parasites, helminthes) mais également face aux cellules transformées. Par ailleurs, des études plus récentes ont permis d'identifier l'importance des **fonctions non destructives** des NK lors de processus biologiques non-infectieux, telles que les **maladies auto-immunes, inflammatoires chroniques** ou lors des **phases précoces de la grossesse** évoquées précédemment. Enfin, il apparaît que certaines de ces fonctions, conservées au cours de l'évolution pour être bénéfiques dans un contexte donné, puissent être détournées et devenir délétères dans d'autres contextes. En accord avec notre expertise et nos thématiques de recherche, ce chapitre sera consacré aux cellules NK en **contextes de cancers** (Figures 10 et 11).

### Encadré 4 : La tumorigenèse, un processus multifactoriel

Les processus de tumorigenèse et de progression tumorale présentent la particularité d'être des événements **multifactoriels** et **dynamiques**, résultant à la fois de l'**accumulation progressive d'altérations intrinsèques** aux cellules en cours de transformation/transmées et d'un **remodelage profond et simultané de l'écosystème cellulaire et moléculaire attenant**, désigné **microenvironnement**. L'ensemble de ces altérations s'alimentent mutuellement et répondent aux lois de la sélection naturelle pour permettre aux cellules cancéreuses de s'**adapter aux pressions environnementales** (i.e. les différents mécanismes biologiques mis en place par l'organisme pour prévenir l'émergence de ce type de pathologie), **survivre, proliférer de façon non contrôlée** jusqu'à parfois se **disséminer** (Hanahan, 2022; Hanahan & Weinberg, 2000, 2011).

De par ces altérations, les (futures) cellules tumorales présentent une **instabilité génomique** leur permettant d'acquérir progressivement, au gré de **mutations génétiques, reprogrammations épigénétiques** et de l'**émergence de nouveaux clones tumoraux**, la capacité à soutenir une prolifération accélérée et anarchique via des dérégulations de voies de signalisations contrôlant le processus mitotique et/ou une production autosuffisante de facteurs de croissance. Parallèlement, ces cellules développent une « immortalité répliative » en détournant le processus de sénescence programmée et elles développent des résistances aux mécanismes de morts cellulaires, tels que l'apoptose. Par ailleurs, à mesure que ces processus s'intensifient et que la tumeur se développe, le caractère hypoxique de l'environnement mène à une **reprogrammation profonde du métabolisme énergétique** des cellules tumorales en faveur de la glycolyse anaérobie (Hanahan & Weinberg, 2011).

Néanmoins, notre compréhension de la pathologie démontre qu'il n'est pas raisonnable de considérer les cellules tumorales comme un élément isolé, évoluant indépendamment de son microenvironnement. Au contraire, les tumeurs représentent des tissus complexes composés de nombreuses populations cellulaires en activité, y compris non tumorales (i.e. endothéliales, immunitaires et stromales), dont les fonctions sont progressivement détournées en faveur du développement tumoral (Hanahan, 2022). En ce sens et pour faire face aux besoins énergétiques décrits ci-dessus, les cellules tumorales interagissent directement avec le système endothélial en détournant les vaisseaux préexistants (Kuczynski et al., 2019) et/ou via les processus de **néo-vascularisation** menant à la création de vaisseaux tumoraux aux caractéristiques morphologiques et fonctionnelles anormales. Premièrement, ces derniers sont caractérisés par une perméabilité accrue favorisant l'intravasation des cellules tumorales ayant subies le processus de transition épithélio-mésenchymateuse (**EMT**), induit notamment par les facteurs dérivés des cellules stromales polarisées par les cellules tumorales (Fiori et al., 2019), permettant leur survie en l'absence de jonctions adhérentes et *in fine* le processus de **désamination métastatique** (Hanahan & Weinberg, 2000; Lugano et al., 2020). D'autre part, ces vaisseaux sont dans un état anergique limitant la sensibilité aux signaux pro-inflammatoires et donc l'expression de molécules nécessaires à la transmigration de certaines cellules leucocytaires (Lugano et al., 2020). Néanmoins, les populations immunitaires font partie intégrante de l'évolution dynamique du tissu tumoral, via des interactions bilatérales qui seront présentées dans cette partie.

## I. Concept et mise en évidence de l'immunosurveillance médiée par les NK

Le **concept d'immunosurveillance**, selon lequel le système immunitaire protège naturellement l'hôte, en l'absence d'intervention thérapeutique extérieure, en reconnaissant et éliminant les cellules aberrantes et susceptibles de former une tumeur, fut formulé dès le début du XX<sup>e</sup> siècle. A la suite d'efforts colossaux, cette théorie s'est avérée être confirmée jusqu'en clinique (Hollenbeak et al., 2005; Salavoura et al., 2008) et est désormais très largement acceptée, mieux comprise et considérée en **trois phases distinctes**, « **les 3E** », décrivant l'évolution dynamique de la relation bilatérale entre cellules immunitaires et cellules cancéreuses (Dunn et al., 2004; Vesely & Schreiber, 2013). Bien que le concept des 3E, **élimination**, **équilibre** et **échappement** s'applique bien entendu à d'autres cellules immunitaires, nous le décrivons ici sous un angle NK-centré.

Au cours de ces 30 dernières années, l'utilisation de différents modèles de **tumeurs spontanées**, **induites** par application d'un carcinogène/d'un stress oncogénique ou encore **transplantées**, couplée aux approches de **déplétion spécifique des NK** ou de **molécules nécessaires à leurs fonctions effectrices** (i.e. TRAIL, Perforines, Granzymes, IFN- $\gamma$ , NKG2D, DNAM-1, NKp46) ont permis de démontrer le rôle prépondérant assuré par ces lymphocytes dans le contrôle et l'**immunosurveillance naturelle** des cellules tumorales, dès les stades précoces du processus de transformation (Cong et al., 2018; Guerra et al., 2008; Halftack et al., 2009; Hayashi et al., 2006; Iguchi-Manaka et al., 2008; Smyth et al., 2001). Chez l'homme comme chez la souris, l'infiltration et l'état d'activation des NK sont associés à un **meilleur pronostic** chez les individus atteints par différents cancers (Barry et al., 2018; Böttcher et al., 2018; Chew et al., 2012; Cursons et al., 2019; Denkert et al., 2018; Gannon et al., 2009; Peng et al., 2017; Semeraro et al., 2015). Ainsi, l'élimination des cellules dangereuses, en particulier lors des **étapes précoces** de la tumorigenèse, se fait au travers d'un **cycle d'étapes séquentielles** présenté ci-dessous et illustré en **figure 10** (Bald et al., 2020; Huntington et al., 2020).

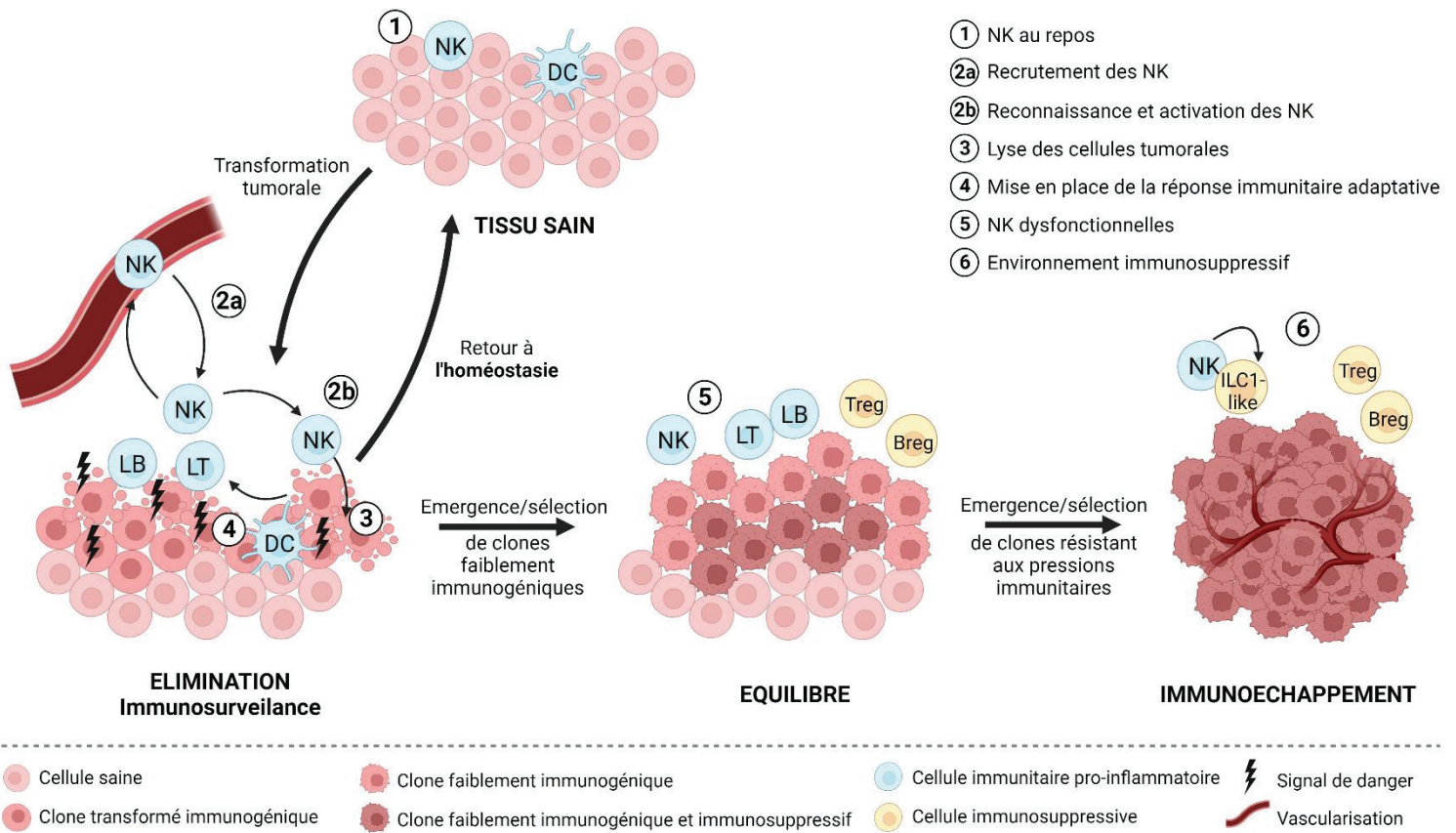
Premièrement, les cellules sentinelles de l'organisme (typiquement les trNK et trDC) ont évolué de telle sorte à percevoir les signaux de dangers associés aux processus de transformation, menant au **recrutement rapide et précoce** des NK circulantes, notamment par les cytokines CXCL9/10/12, CCL2/3/4/5/27 et CX3CL1 (Bald et al., 2020; Liu et al., 2008; Wendel et al., 2008). De manière intéressante, il a été observé que les NK infiltrent la quasi-totalité des **tumeurs solides (tiNK)** (i.e. cérébrales (Alizadeh et al., 2010; Shaim et al., 2021), pulmonaires (Bruno et al., 2013; Park et al., 2023), hépatiques (Cazzetta et al., 2021), rénales (Cazzetta et al., 2021), ovariennes (Gonzalez et al., 2021), pancréatiques, prostatiques (Gannon et al., 2009), gastro-intestinales (Delahaye et al., 2011), de l'œsophage (Wu et al., 2019), du côlon (Halama et al., 2011), de la peau (Böttcher et al., 2018; Cursons et al., 2019; De Andrade et al., 2019), du sein (Mamessier et al., 2011; Slattery et al., 2021), de la tête et du cou (Moreno-Nieves et al., 2021) ou encore dans le cas de cancers pédiatriques tels que les neuroblastomes (Semeraro et al., 2015) et néphroblastomes (Fiore et al., 2021)), malgré des fréquences d'infiltration inter-patients et inter-pathologies hautement variables. Par la suite, l'**arsenal de récepteurs** exprimés à la surface des NK permet leur **reconnaissance** des cellules dangereuses et induit leur **activation**, indépendamment de tout entraînement préalable. Cette étape s'opère selon les modèles de l'**absence du soi** et du **soi induit** (**figure 4**).

Ainsi, une grande partie des tumeurs présente une perte partielle, voir totale, de l'expression des molécules de **CMH-I**, permettant un échappement de la reconnaissance médiée par les LT tout en favorisant l'activation des NK (Anderson et al., 2021; Hazini et al., 2021; McGranahan et al., 2017). Par ailleurs, le processus de transformation tumorale génère différents stress cellulaires et la mise en place de réponses aux dommages de l'ADN, à l'origine de la surexpression de ligands des récepteurs



activateurs **NKG2D**, **DNAM-1** et **NCRs** (Chan et al., 2014; Sen Santara et al., 2023; Wolf et al., 2022). De surcroît, la quasi-totalité des signaux activateurs présentés précédemment (i.e. **IL-2**, **-12**, **-15**, **-18**, **TNF $\alpha$** , **IFN-I** (Balzasch & Cerwenka, 2023; Di Matteo et al., 2023)) soutiennent cette activation menant *in fine* à la **lyse des cellules cibles** aussi bien par la voie des **granules lytiques** que par l'engagement des **récepteurs de mort**, en accord avec les mécanismes décrits précédemment (**Figure 3**). Parallèlement, cette activation induit également la sécrétion de **cytokines** et **chimiokines pro-inflammatoires** par les NK (telles que l'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF, CCL3/4/5 etc...), permettant d'une part un renforcement du cycle NK/cellules cancéreuses décrit ci-dessus (Bald et al., 2020; Huntington et al., 2020), tout en orchestrant la mise en place de réponses immunitaires pro-inflammatoires robustes, en particulier via le **dialogue avec les DC** (Allen et al., 2018; Balzasch & Cerwenka, 2023). De façon intéressante, les NK sont la source principale de facteurs solubles permettant le recrutement et la survie des DC au sein de la tumeur (**CCL5**, **XCL1** et **Flt3L** (Barry et al., 2018; Böttcher et al., 2018)), tout en participant à leur maturation et activation, au travers de l'ensemble des interactions décrites dans le paragraphe dédié (**page 66**). Par ailleurs, la sécrétion d'IFN $\gamma$  permet une meilleure élimination des cellules tumorales par les LT en induisant l'expression des molécules du **CMH-I** par ces dernières et en permettant aux LT CD8+ et LTh1 d'atteindre leur plein potentiel anti-tumoral (Mocikat et al., 2003; Morandi et al., 2006). Les NK du sang jouent également un rôle central dans le **contrôle des cellules tumorales circulantes (cancers hématologiques et cellules métastatiques)**, comme le démontre le développement plus rapide et plus important du nombre des métastases chez les souris déficientes en NK (Lo et al., 2020; Sathe et al., 2014; Spiegel et al., 2016; Vyas et al., 2023). Cette observation se confirme également chez l'homme avec les nombreuses mises en évidence de corrélation inverse entre NK et développement de métastases (Cursons et al., 2019; Gannon et al., 2009; Gao et al., 2017; Peng et al., 2017). L'efficacité de cette surveillance s'explique premièrement par le fait que ces cellules métastatiques circulantes présentent l'avantage majeur d'être directement accessibles sans besoin d'infiltrer un tissu ou d'interagir avec le microenvironnement tumoral, mais également par leurs modifications phénotypiques induites par le **processus d'EMT**. Ces cellules présentent ainsi une **surexpression des ligands des récepteurs activateurs** et doublé d'une perte concomitante d'expression de l'E-cadhérine reconnue par le récepteur inhibiteur **KLRG1** (Chockley et al., 2018; López-Soto et al., 2013), modifications suffisantes pour permettre la reconnaissance par les NK en circulation, indépendamment des événements observables au sein de la tumeur primaire.

L'ensemble de ces interactions entre les cellules tumorales et les NK (et de manière générale avec les cellules immunitaires) permet dans un premier temps d'éliminer efficacement les cellules transformées, assurant le maintien de l'état d'homéostasie. Néanmoins, malgré cette surveillance, les organismes immunocompétents développent des cancers, démontrant l'**aspect évolutif et dynamique de la relation système immunitaire/cellules cancéreuses**.



**Figure 10 : Représentation prototypique du modèle d'immunosurveillance médié par les NK.**

Le cycle cellules NK-cancer, de l'élimination à l'échappement : Les NK sont présents dans la majorité des tissus et y assurent leur rôle de sentinelle (1). En cas d'émergence de cellules transformées, les NK assurent l'immunosurveillance au travers du cycle suivant : l'émergence de cellules dangereuses immunogéniques et de signaux de dangers/chimiokines associés induit le recrutement rapide de NK (2a), ces dernières reconnaissent (2b) et lysent (3) les cellules dangereuses tout en assurant la mise en place de réponse immunitaires adaptatives au travers de leurs fonctions de sécrétions (4), permettant *in fine* à un retour à l'homéostasie. Néanmoins, cette pression immunitaire mène à l'émergence de clones faiblement immunogéniques et permet l'installation d'un état d'équilibre (5). Pendant cette phase, l'instabilité génétique des cellules transformées conduit à l'accumulation progressive d'altérations intrinsèques et donc à l'émergence de clones résistants aux pressions immunitaires (dont NK), permettant la mise en place d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur et donc à l'immunoéchappement (6).

## II. Processus d'échappement à l'immunosurveillance médiée par les NK

Comme exposé en introduction de cette partie, les cellules tumorales acquièrent progressivement des caractéristiques leur permettant de faire face, parfois jusqu'à tirer parti, des pressions imposées par leur environnement. Ainsi, en cas d'une destruction incomplète de la tumeur, le système immunitaire devient à terme lui-même artisan de l'émergence de clones tumoraux insensibles à ses effets. Ce processus de sélection correspond ainsi à l'étape d'**immunoédition**, préalable à l'étape d'**immunoéchappement** (Cong et al., 2018; Dunn et al., 2004). Ce processus s'illustre notamment par la plus forte immunogénicité et le rejet plus efficace des tumeurs provenant de souris présentant une déficience en NK après transfert dans des souris sauvages (Elboim et al., 2010; O'Sullivan et al., 2012; Shankaran et al., 2001) ou encore par la description de l'émergence de clones métastatiques CMH-I+ suite à la pression de sélection exercée par les NK dans la circulation, malgré une expression hétérogène au sein de la tumeur primaire (Anderson et al., 2021; Garrido & Aptsiauri, 2019). Ainsi, à mesure de la progression tumorale, la **relation dynamique** entre l'**émergence de clones** et le **remodelage profond du paysage cellulaire et moléculaire du microenvironnement** entraîne une **dysfonction des NK** (figure 11).

### 1. Mécanismes de résistance des cellules tumorales face aux activités des NK

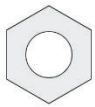
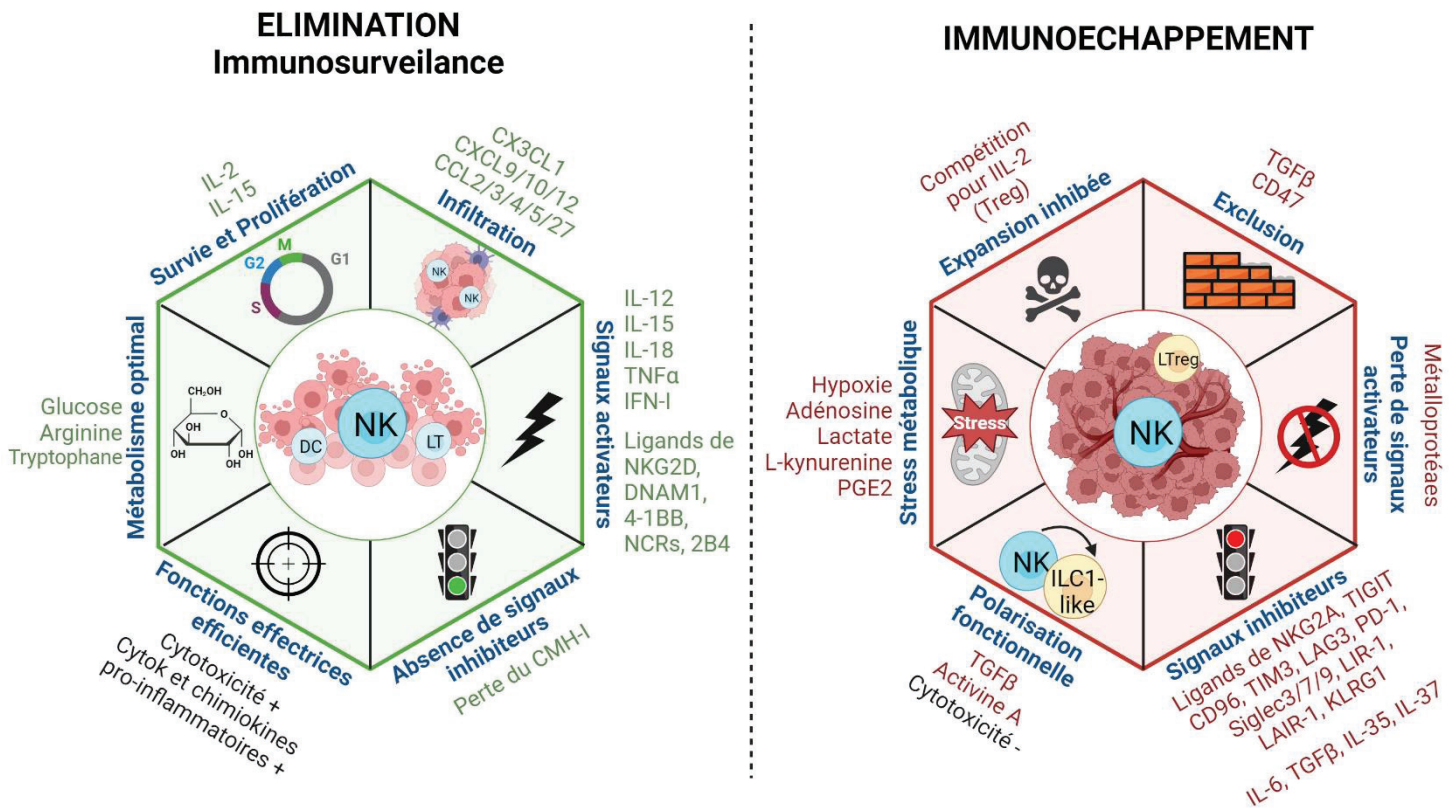
Premièrement, une littérature émergente converge vers l'identification de l'**IFN $\gamma$**  comme un acteur de l'échappement tumoral en cas de **sécrétions soutenues et prolongées**, phénomène observé au sein du microenvironnement tumoral. Ainsi, malgré des rôles essentiels lors des phases d'immunosurveillance, l'**exposition chronique** à l'**IFN $\gamma$**  mène en parallèle à la mise en place de **freins moléculaires** et **cellulaires anti-inflammatoires**, participant *in fine* à la pathogénèse et à l'immunoéchappement tumoral (Zaidi & Merlino, 2011). L'**IFN $\gamma$**  est responsable de la diminution de la reconnaissance des cellules tumorales par les cellules lymphocytaires effectrices via différents mécanismes, notamment l'**induction de l'expression de différents ligands de récepteurs inhibiteurs** et à l'induction de molécules immunosuppressives tels qu'IDO1 (Abiko et al., 2015; Heyes, 1991). L'induction du CMH-I, puissant inhibiteur des NK, sur les cellules tumorales par l'**IFN $\gamma$**  s'avère contribuer à l'immunoéchappement tumoral dans le cas de tumeurs non infiltrées en LT CD8+ (Maio et al., 1991). Par ailleurs, deux études récentes démontrent que l'**IFN $\gamma$**  (i) inhibe l'**expansion et la diversité clonale des LT CD8+ intratumoraux** (Mazet et al., 2023) mais également (ii) provoque l'élimination de **clones tumoraux** mineurs participant à la compétition intra-tumorale et qui, paradoxalement, limitent l'agressivité de la tumeur (Tshering et al., 2023). Dans ces contextes, la neutralisation des effets de l'**IFN $\gamma$**  endogène restaure les dynamiques clonales tumorales et lymphocytaires, corrélées à une **meilleure survie sans récurrence** (Tshering et al., 2023) et réponse aux immunothérapies (Mazet et al., 2023). Ces données entrent en cohérence avec les démonstrations que les expositions prolongées à l'**IFN $\gamma$**  induisent l'émergence de clones tumoraux **peu immunogènes**, moins reconnus par les cellules immunitaires et donc désormais insensibles à leurs effets (Takeda et al., 2017), notamment via une **expression diminuée de néoantigènes** (Beatty & Paterson, 2000; Morel et al., 2000) ou encore l'induction de leur conversion en cellules présentant des **caractéristiques souches** (Beziaud et al., 2023).

Parallèlement, et malgré des nuances à considérer entre les types de cancers mais également de par l'existence d'une hétérogénéité clonale intratumorale importante, le consensus observé au sein des tumeurs tend ainsi à une **diminution significative** de l'expression de l'ensemble des **ligands de récepteurs activateurs** en faveur d'une **surexpression** de ligands de récepteurs inhibiteurs. Ainsi, les cellules tumorales **sous-expriment** les ligands des récepteurs activateurs **NKG2D** (Le Maux Chansac et

al., 2005), **NCRs** (Le Maux Chansac et al., 2005), **LFA-1** (Saga et al., 2019), **2B4** (Elias et al., 2014), **CD2** (Yan et al., 2022). Par ailleurs, des **métalloprotéases** (i.e. ADAM-10, -17) assurent la **protéolyse** et la **transformation en facteurs solubles** des ligands de NKG2D, NKp30 et DNAM1 exprimés à la surface des cellules tumorales (De Andrade et al., 2018; Schlecker et al., 2014; Waldhauer et al., 2008), participant ainsi là encore à occulter les cellules tumorales des NK tout en induisant l'endocytose et la dégradation de ces récepteurs par ces lymphocytes (Groh et al., 2002; Gutierrez-Silerio et al., 2023), et l'altération des fonctions de cytotoxicité (Mamessier et al., 2011). Ces mécanismes se trouvent être renforcés par la sécrétion de ligands solubles de ces mêmes récepteurs par les cellules tumorales, tels que la **galectine-3** et **BAG6** (Mamessier et al., 2011; Reiners et al., 2013; Wang et al., 2014). A l'inverse, la surexpression des ligands de **CD94/NKG2A** (Liu et al., 2023; Sarkar et al., 2015), **PD-L1**, **LAG3** (Anderson et al., 2016), **LIR-1** (de Kruijf et al., 2010; Hazini et al., 2021) et **Siglec-3/7/9** (Hudak et al., 2014) a été décrite dans de très nombreux cancers. Dans cette même logique, une expression plus importante des ligands de **TIGIT/CD96/CD112R**, qui pour rappel entrent en compétition avec le récepteur **DNAM1** tout en présentant une affinité plus forte pour ces derniers, a également été rapportée (Carlsten et al., 2009; Chiang & Mellman, 2022). L'ensemble de ces modifications phénotypiques participent ainsi à la dérégulation signalétique des NK (Le Maux Chansac et al., 2005). Enfin, les **interactions cellules cancéreuses/plaquettes** jouent également un rôle dans cette stratégie, permettant notamment la dissémination métastatique (Kopp et al., 2009). En effet, une fois dans la circulation, les cellules tumorales sont rapidement recouvertes par des plaquettes à leur surface, qui assurent un triple rôle. Ces dernières assurent aussi bien la **protéolyse de ligands de NKG2D/NKp30** via l'expression de métalloprotéases (Maurer et al., 2018; Zocchi et al., 2012) que la sous-expression de ces récepteurs par les NK via leur sécrétion de **TGFβ** (Kopp et al., 2009). Enfin, l'internalisation des plaquettes par les cellules tumorales mène à la surexpression d'HLA-E, ligand de **NKG2A** (Liu et al., 2023).

Au-delà d'inhiber les mécanismes de reconnaissance et d'activation des NK, les clones tumoraux complètent leurs processus d'adaptation de telle sorte à résister aux capacités lytiques résiduelles des NK. Ainsi, l'étude de lignées tumorales ou de cellules isolées de tumeurs a mis en évidence la **perte d'expression de facteurs pro-apoptotiques** (i.e. pro-caspases 8 et 10, Bax/Bak etc...), au profit de la **surexpression de facteurs anti-apoptotiques** (tels que les membres de la famille Bcl-2 et XIAP (Sordo-Bahamonde et al., 2020)). Par ailleurs, les métalloprotéases citées précédemment permettent également la **lyse de FasL** à la surface des NK (Kayagaki et al., 1995), permettant sa libération sous forme soluble désormais anti-apoptotique (Hohlbaum et al., 2000; Mariani et al., 1995). Ainsi, ces caractéristiques résultent *in fine* à une moindre sensibilité aux différentes voies de cytotoxicité des NK.

Face à cette sélection, les clones tumoraux émergeant des phases d'élimination et d'immunoédition présentent des **caractéristiques phénotypiques façonnées pour éviter toute reconnaissance par les NK**. Au-delà de ces adaptations intrinsèques, les cellules cancéreuses acquièrent dans le même temps des fonctions immunosuppressives à l'origine d'une réorganisation totale de leur microenvironnement afin que ce dernier devienne non plus une menace, mais un support à leur développement.



**Caractéristiques** des NK aux différentes étapes de la tumorigenèse et facteurs environnementaux influençant positivement ou négativement leur fonctionnalité

**Figure 11 : L’environnement tumoral altère les caractéristiques des NK et induit leur dysfonction**

L’environnement tumoral altère les caractéristiques des NK et induit leur dysfonction : les interactions entre les cellules tumorales et les cellules NK sont complexes et évoluent au cours de la tumorigenèse. Ainsi, l’état de fonctionnalité des NK est conditionné à chaque étape (i.e. élimination à gauche, immunoéchappement à droite) par de nombreux facteurs environnementaux positifs (en vert) ou négatifs (en rouge). Cytok : cytokines.

*2. Des altérations profondes et coordonnées de l’ensemble du microenvironnement tumoral*

Comme nous l’avons exposé précédemment, la fonctionnalité des NK est directement conditionnée par leur environnement direct, qui se trouve être profondément remanié à différents égards dans le contexte tumoral. Premièrement, les NK sont progressivement **maintenues en périphérie de la tumeur** (Lavin et al., 2017; M. D. Park et al., 2023), à la marge d’invasion tumorale (Garrido et al., 2017). Ce phénomène s’explique par une **inhibition de la production de chimiokines** nécessaires au recrutement de nouvelles NK (Bald et al., 2020; Portale & Di Mitri, 2023), mais également par la modification TGFβ-médiée du **répertoire de récepteurs aux chimiokines** exprimés à la surface de ces lymphocytes (Castriconi et al., 2013; Lavin et al., 2017). De par cette raison spatiale, les NK ne peuvent pas exercer leurs rôles cytotoxiques sur les cellules tumorales, d’autant que certaines études suggèrent que les clones tumoraux n’exprimant plus le CMH-I sont généralement

localisés au centre de la tumeur. Parallèlement, les **modifications physico-chimiques** du cœur de la tumeur, en complément du **remaniement profond de son paysage cellulaire** au profit de **cellules immunosuppressives**, agissent de concert pour induire une **dysfonction progressive** des NK réussissant malgré tout à infiltrer ces tissus. Cet état est défini par une dégradation importante des capacités d'activation, de survie, de prolifération et à assurer leurs **fonctions effectrices** de **sécrétion** et de **cytotoxicité** (Cózar et al., 2021; Platonova et al., 2011; Tong et al., 2022) (**figure 11**), comme le mettent en évidence les approches comparatives des capacités fonctionnelles des NK à différents stades de développement de tumeurs (Cong et al., 2018; Di Matteo et al., 2023; Oniki et al., 2006), ou encore les études *ex vivo* de NK isolées de tumeurs fraîches (X. Zheng et al., 2019).

Nous avons discuté de l'importance de l'**état métabolique**, reflet de la disponibilité des **niveaux d'oxygène**, de **métabolites** et **nutriments**, dans la fonctionnalité des NK. Cependant, les modifications structurelles observées au cœur des tumeurs au cours de leur développement leur confèrent un caractère **hypoxique** (Balzasch & Cerwenka, 2023), qui participe en tant que tel à l'inhibition des NK (Ni et al., 2020; X. Zheng et al., 2019), mais induit également une **reprogrammation métabolique** des cellules cancéreuses qui la composent en faveur de la glycolyse anaérobie (**Encadré 4**) (Heiden et al., 2009). Cette voie métabolique génère une consommation démesurée du **glucose** environnant (Pérez-Tomás & Pérez-Guillén, 2020; Terrén et al., 2019), nécessaire au fonctionnement optimal des NK, et résulte en un rejet de **lactate** (Pérez-Tomás & Pérez-Guillén, 2020), déchet métabolique inducteur de l'**apoptose** de ces mêmes lymphocytes (Harmon et al., 2019; Husain et al., 2013). Par ailleurs, la surexpression globale, aussi bien par les cellules tumorales elles-mêmes que par les cellules du microenvironnement, d'enzymes telles qu'**IDO1** (Mulder et al., 2021; Munn & Mellor, 2016), les couples **COX/PGE synthase**, l'**arginase 1/iNOS** (Lamas et al., 2012; Oberlies et al., 2009) et **CD39/CD73** (Baghbani et al., 2021), participe à la déprivation d'**aminoacides** (tels que le tryptophane (Romani et al., 2008; Shin et al., 2013) et d'**arginine** (Lamas et al., 2012; Oberlies et al., 2009)) tout en induisant l'accumulation de **métabolites immunosuppressifs** comme la **L-kynurenine** (Romani et al., 2008; Shin et al., 2013), la **PGE2** (Bayerl et al., 2023; Bonavita et al., 2020; Böttcher et al., 2018) et l'**adénosine** (Chambers et al., 2018; Lokshin et al., 2006; Ohta, 2016). Des tiNK exprimant eux-mêmes CD39 et/ou CD73 ont d'ailleurs été décrits dans différents cancers, notamment sous l'action de l'hypoxie (Chambers et al., 2022; Neo et al., 2020; Zhang et al., 2019; Y. Zheng et al., 2020). Dans ce contexte, les tiNK présentent un **stress métabolique aigu** caractérisé par leurs mitochondries plus petites fragmentées (X. Zheng et al., 2019), une **respiration mitochondriale**, un **métabolisme des acides gras** et une **glycolyse altérée**, impactant l'ensemble de leurs activités cellulaires (Balzasch & Cerwenka, 2023; Cong et al., 2018; Slattery et al., 2021). De plus, les stimulations **chroniques** et **continues** des NK observées dans ces contextes par l'IL-15 et des ligands de récepteurs activateurs, et associées à une activation prolongée de mTOR, participent également à l'apparition de ces altérations métaboliques dans les NK (Bou-Tayeh et al., 2021; Cong et al., 2018; Elpek et al., 2010; Felices et al., 2018; Merino et al., 2019).

Par ailleurs, le système immunitaire est naturellement programmé pour limiter toute réponse pro-inflammatoire trop importante qui pourrait provoquer des dommages tissulaires similaires à ceux observés lors de maladie auto-immunes ou d'orage cytokinique. Ainsi, en support de la **reprogrammation métabolique globale du microenvironnement** et des **fonctions immunosuppressives acquises par les clones tumoraux** à l'issue de la sélection Darwinienne décrite plus tôt, des **boucles de rétrocontrôle négatif** sont mises en place via le système immunitaire lui-même pour contrebalancer l'inflammation locale via les **cellules régulatrices**. Premièrement, les boucles de rétrocontrôles négatifs dus à l'**exposition chronique** de cytokines pro-inflammatoires s'observent également sur les cellules du microenvironnement. Ainsi, **CXCL9** présente des activités duelles et

stimule l'**infiltration** et la **maintenance de cellules immunosuppressives** (Moreno Ayala et al., 2023) tandis que l'**IFN $\gamma$**  et le **TNF $\alpha$**  promeuvent le phénotype, la prolifération et les fonctions immunosuppressives des **LTreg** (Qu et al., 2022; Z. Wang et al., 2006; Zaragoza et al., 2016) et des **MDSC** (Zhao et al., 2012), liant les NK à la progression tumorale et à la dissémination métastatique (Lund, 2023). Conjointement, les cellules tumorales sécrètent activement les cytokines immunosuppressives l'**IL-6** (Wu et al., 2019; Y. Zheng et al., 2020), **-8** (Wu et al., 2019), **-10** (Itakura et al., 2011; Stringaris et al., 2014), du **TGF $\beta$**  (Mamessier et al., 2011; Szczepanski et al., 2011) ou encore de l'**IL-35** d'après de récentes études (Hao et al., 2018; T. Zhang et al., 2021; Zhu et al., 2020). Ces cytokines participent au remodelage du microenvironnement tumoral au travers de **trois effets majeurs** permettant aux populations d'assurer des **rôles directs autonomes**, tout en **coopérant** pour se supporter mutuellement et générer un **environnement immunosuppresseur s'autoentretenant** :

- 1) Elles assurent le **recrutement**, l'**activation** et le **maintien des populations immunosuppressives**, à savoir les LTreg (DeNardo et al., 2009; Fu et al., 2004), LBreg (Boldison et al., 2019; K. M. Lee et al., 2014; S. Li et al., 2022), MDSC (Grover et al., 2021), tolDC (Boldison et al., 2019; Harimoto et al., 2013), TAM (« cancer-associated macrophages ») (Lin et al., 2023; L. S. Peng et al., 2017) et CAF (« cancer-associated fibroblasts ») (Caligiuri & Tuveson, 2023)). Ces populations, elles-mêmes sources d'**IL-10** (Boldison et al., 2019; Comi et al., 2019; Sawant et al., 2019), **TGF $\beta$**  (Ghiringhelli et al., 2005; K. M. Lee et al., 2014; Liénart et al., 2018; H. Li et al., 2009), **IL-35** (Dixon et al., 2015; C. C. Lee et al., 2018; S. Li et al., 2022; Sawant et al., 2019; R. X. Wang et al., 2014), et **IL-37** dans le cas des LTreg (Sarhan et al., 2018), intensifient le processus.
- 2) Elles médient l'**inhibition directe** de l'ensemble des populations impliquées dans le processus d'immunosurveillance, telles que les NK, DC et LT effecteurs et donc leurs interactions respectives (Boldison et al., 2019; Clavijo-Salomon et al., 2020; Farias et al., 2013; Harimoto et al., 2013; Moreno Ayala et al., 2023; L. S. Peng et al., 2017; Slattery et al., 2021; Tang et al., 2015). Ainsi, l'inhibition de ces interactions cellulaires, cumulée à la consommation accrue de l'IL-2 par les Lreg (Gasteiger et al., 2013), conduisent à une **raréfaction des facteurs pro-survie/pro-prolifération** des NK (i.e. IL-2 et -15) (Park et al., 2023). Face à ces diverses pressions du microenvironnement tumoral, l'expression des facteurs de transcription **Eomes** et **Tbet** (Da Silva et al., 2014; Gill et al., 2012), pourtant si importants à la fonctionnalité, l'expansion et la persistance des NK est significativement diminuée (Wong et al., 2023). Ces observations font écho aux altérations phénotypique des NK, en particulier dans l'expression de leurs récepteurs régulateurs. Ainsi, dans de nombreux cancers, l'expression des récepteurs activateurs **NKG2D** (Mamessier et al., 2011; Ohs et al., 2017), **NKp30** (Gutierrez-Silerio et al., 2023; Liu et al., 2022; Mylod et al., 2023), **NKp44** (Costello et al., 2012), **NKp46** (Costello et al., 2012; Fend et al., 2016; Stringaris et al., 2014), **NKp80** (Thomas et al., 2008), **DNAM1** (Guillerey et al., 2015; Ohs et al., 2017), **2B4** (Carlsten et al., 2009) et **CD16** (Carlsten et al., 2009; Carrega et al., 2008; Romee et al., 2013) se voit diminuée, en faveur d'une augmentation concomitante de celle des récepteurs inhibiteurs **NKG2A** (Stringaris et al., 2014; C. Sun et al., 2017), **CD96** (H. Sun et al., 2019; Q. Zhang et al., 2018), **TIGIT** (Ohs et al., 2017; Q. Zhang et al., 2018), **TIM-3** (Seo et al., 2017; X. Zheng et al., 2019), **CD200R** (Coles et al., 2011; Morgan et al., 2022), **LAG3** (Ohs et al., 2017), **PD-1/PD-L1** (Hasim et al., 2022; Pesce et al., 2017; Vari et al., 2018; X. Zheng et al., 2019) dont l'engagement renforce l'inhibition de l'expression de leurs homologues activateurs et qui s'avèrent être corrélées à de **mauvais pronostics** dans de nombreuses indications (Costello et al., 2012; Fend et al., 2016; Mylod et al., 2023; Y. P. Peng et al., 2013; H. Sun et al., 2019).

3) Enfin, elles assurent la **polarisation fonctionnelle** de nombreuses populations cellulaires arborant initialement des fonctions anti-tumorales vers un profil supportant le processus d'immunoéchappement, observable dans le cas des LT (Collison et al., 2010, 2012), LB (R. X. Wang et al., 2014), macrophages (Gonzalez-Junca et al., 2019), DCs (Esebanmen & Langridge, 2017) ou encore NK avec la description récente du processus de **transdifférenciation en cellules ILC1-like CD9+CD49a+CD103+** sous l'influence du **TGFβ** (Cortez et al., 2017; Gao et al., 2017) (plus amplement décrite en **page 63**). Bien qu'aucun lien de cause à effet n'ait été démontré entre ces différentes notions, il semble intéressant de mettre en relation les faits que i) le processus de conversion NK/ILC1-like au sein de tumeurs soit directement impliqué dans l'immunoéchappement tumoral (Cortez et al., 2017; Gao et al., 2017), ii) le TGFβ ait été décrit pour polariser les NK circulantes en NK présentant de fortes similitudes avec des **NK déciduaux (dNK) *in vitro*** (Bruno et al., 2013; Cerdeira et al., 2013; Keskin et al., 2007) et enfin iii) que les dNK présentent la particularité d'être **peu cytotoxiques**, de sécréter de nombreux **facteurs de croissance/pro-angiogéniques** (i.e. VEGF-A, VEGF-C, PlGF, IL-8 etc...) et participent au caractère tolérogène du tissu (Hanna et al., 2006; Kopcow et al., 2005; Tao et al., 2021). Ces observations pourraient suggérer que cette conversion ne se limite pas à une perte de fonctions effectrices, mais induit également l'acquisition de nouvelles propriétés immunosuppressives. En support à cette hypothèse, une étude a révélé la capacité des NK à exprimer CD9 après coculture avec des cellules tumorales, et démontré une perte de cytotoxicité et de sécrétion d'IFNγ en faveur d'une sécrétion accrue d'IL-8 dépendante de CD9 (Gonzalez et al., 2021), tandis que l'existence de tiNK produisant des facteurs pro-angiogéniques et de l'IL-10 a été rapportée dans le cancer du poumon (Bruno et al., 2013), de la prostate (Gallazzi et al., 2021) et de foie (Zecca et al., 2021).

Au-delà des sécrétions de cytokines inhibitrices, les cellules immunosuppressives entrent également en coopération avec les cellules tumorales pour sécréter différents facteurs solubles permettant la **séquestration au sein de la matrice extracellulaire** de facteurs activateurs. Ainsi, les « leurres » **IL-1R2** (Chen et al., 2022; Yuan et al., 2021; L. Zhang et al., 2020) et **IL-18BP** (Park et al., 2023), se liant respectivement aux IL-1α/β et -18 et empêchant donc leur interaction avec les NK, ont été détectés en contexte de cancer. De plus, l'**IL-37** inhibe directement les voies de signalisation en aval des récepteurs d'IL-1s (Dinarello et al., 2016; Lunding et al., 2015; Nold-Petry et al., 2015; Sarhan et al., 2018), tout en présentant une affinité plus importante pour le récepteur l'IL-18Rα partagé avec l'IL-18 et favorise donc la ligature de cette dernière à l'**IL-18BP** (Bufler et al., 2002; S. Li et al., 2015), résultant *in fine* en une diminution des fonctions antitumorales des NK (Molgora et al., 2017; Sarhan et al., 2018).

Ainsi, les tumeurs reflètent des pathologies dynamiques, caractérisées par un remodelage profond, voire complet, du paysage cellulaire et moléculaire qui constitue leur microenvironnement. Ces nombreuses et diverses modifications, issues d'une sélection Darwinienne, agissent de concert pour assurer la progression tumorale. De ce fait, l'échappement de la surveillance médiée par les NK est rendu possible par l'accumulation et la synergie de différents facteurs, à savoir : (i) une **exclusion** des NK en périphérie de la tumeur, (ii) des **altérations métaboliques sévères**, (iii) des taux de **prolifération et survie diminués**, (iv), une élimination de l'ensemble des sources de signaux activateurs en faveur de **facteurs inhibiteurs**, (v) une **altération de leur phénotype** et capacité à percevoir les signaux de leur environnement, (vi) une **conversion en cellules ILC1-like**, l'ensemble de ces éléments convergeant vers (vii) une **perte progressive de leurs fonctions effectrices** (**figure 11**).



### III. Intérêt clinique et ciblage thérapeutique

Comme évoqué précédemment, l'essor observé au début des années 2010 des stratégies visant à cibler les cellules immunitaires, sous l'impulsion des premiers résultats cliniques spectaculaires des anticorps bloquant les « **immune checkpoint** » (ICB) (Robert et al., 2011), a représenté une fracture dans la prise en charge clinique de nombreux cancers. Néanmoins, malgré les progrès prodigieux de ces dernières années, le développement de nombreux autres anticorps (Scott et al., 2023) et l'émergence des schémas thérapeutiques combinatoires, les patients tirant un réel bénéfice clinique de ces approches restent minoritaires, soulignant l'**importance d'identifier des stratégies thérapeutiques complémentaires** aux immunothérapies actuelles principalement développées dans l'objectif de stimuler les LT.

En raison de leurs nombreuses propriétés anti-tumorales, à savoir une cytotoxicité directe, notamment à l'encontre de cellules tumorales CMH-I négatives insensibles aux effets des LT, ainsi qu'une sécrétion d'un large spectre de facteurs solubles immunomodulateurs, les NK présentent un haut potentiel thérapeutique (André et al., 2018; Guillerey et al., 2016). Comme présenté précédemment, le remodelage progressif du microenvironnement tumoral impacte les profils épigénétiques, transcriptomiques et métaboliques des NK, induisant (i) **leur exclusion du tissu tumoral** via l'inhibition conjointe de leur infiltration et de leur expansion, (ii) **l'altération de leur phénotype** et de leur perception de l'environnement et enfin (iii) la **perte de fonctions** nécessaires à l'immunosurveillance jusqu'à leur polarisation fonctionnelle avec l'acquisition de propriétés participant à la progression tumorale. Ainsi, un intérêt récent et grandissant de la part des équipes académiques et industrielles s'est porté sur le développement d'approches thérapeutiques permettant de tirer parti **directement ou indirectement** des propriétés anti-tumorales des NK, comme en témoignent les **2109** essais cliniques ciblant les NK, dont **675** actifs ou en préparation, recensés à ce jour (<https://clinicaltrials.gov/>). L'ensemble de ces stratégies thérapeutiques a ainsi pour objectif de répondre aux trois problématiques majeures évoquées ci-dessus, en permettant l'infiltration et l'expansion des NK, leur reconnaissance des cellules cibles et enfin en empêchant leur dysfonction ou en restaurant leurs fonctions (**Figure 12**).

#### 1. Ciblage direct des NK

##### 1.1. Les immunothérapies basées sur l'utilisation d'anticorps orientés contre les récepteurs activateurs ou inhibiteurs

L'utilisation d'anticorps monoclonaux agonistes et antagonistes ciblant respectivement les récepteurs activateurs et inhibiteurs des NK, dans le but de moduler leurs fonctions *in vivo*, représente l'une des stratégies thérapeutiques les plus investiguées à ce jour en clinique.

###### 1.1.1. Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire négatifs

Les anticorps ciblant les ICB représentent la deuxième catégorie de molécules la plus approuvée par la FDA au cours du 21<sup>ème</sup> siècle malgré leur entrée tardive sur le marché en 2011, témoignant de leur potentiel thérapeutique et de leur faible toxicité (Scott et al., 2023). Ainsi, l'expression des récepteurs **PD-1**, **PD-L1**, **LAG-3** ou encore **TIM-3** par les NK au sein du microenvironnement tumoral (**page 74**) leur permet de bénéficier des effets thérapeutiques d'ICB historiquement désignés pour cibler les LT, et largement évalués/utilisés en clinique dans des cancers solides et hématologiques. Ainsi, différentes études précliniques ou réalisées à partir d'échantillons de

patients recueillis lors d'essais cliniques (NCT01968109, NCT02643550) mettent en évidence que les blocages des axes **PD-1/PD-L1** (Nivolumab, Pembrolizumab, Durvalumab) (Barry et al., 2018; Dong et al., 2019; Hsu et al., 2018; Zemek et al., 2019) et **LAG-3/CMH-II** (Relatlimab) (Huuhtanen et al., 2023; Sordo-bahamonde et al., 2021) induisent une forte réponse anti-tumorale des NK. De façon intéressante, différents essais cliniques présentent désormais comme objectif la description phénotypique et fonctionnelle des NK de patients lors de ces traitements (NCT03628859, NCT03951415, NCT04349293), ce qui devrait constituer une source précieuse d'informations pour une meilleure compréhension de l'implication de ces cellules dans ces réponses cliniques. Le nombre de molécules ciblant ces axes augmente de façon exponentielle au cours de ces dernières années et leurs évaluations précliniques prennent de plus en plus en compte l'implication des NK dans leur développement, suggérant des avancées intéressantes à venir (Chocarro et al., 2022).

Par ailleurs, le ciblage de **NKG2A** par des anticorps tels que le Monalizumab s'avère également cibler efficacement les NK, en plus des LT (André et al., 2018). Bien que correctement tolérée par les patients, cette molécule présente des effets limités en monothérapie (Galot et al., 2021; Tinker et al., 2019) (NCT02459301, NCT03088059). Néanmoins, son intérêt thérapeutique émerge en cas de **combinaisons thérapeutiques** (André et al., 2018; Herbst et al., 2022; Manguso et al., 2017; Salomé et al., 2022) menant à son évaluation au sein de plusieurs essais cliniques de phase II et III en combinaison avec des ICB ciblant l'axe PD-1/PD-L1 (NCT03833440, NCT05221840, NCT02671435), des anticorps tels que le Cetuximab (anti-EGFR) (NCT04590963), l'Oleclumab (anti-CD73) (NCT05061550) ou encore en combinaison avec de la chimiothérapie (NCT05061550), dans des indications telles que les cancers du poumon, du colon et de la tête et du cou. Par ailleurs, le blocage par anticorps d'autres récepteurs inhibiteurs coexprimés par les NK et LT, tels que **TIM-3** (Da Silva et al., 2014; Xu et al., 2015), **siglec-7** et **-9** (Bénac et al., 2018; Daly et al., 2022; Jandus et al., 2014) ou encore l'axe **TIGIT/CD96/CD155** (Barrow et al., 2018; Cho et al., 2023; Liu et al., 2022; Sun et al., 2019; Wang et al., 2021; Zhang et al., 2018), seuls ou en combinaison à d'autres molécules thérapeutiques, présentent des résultats précliniques encourageants pour redynamiser les fonctions effectrices des NK en contexte d'immunoévasion. Ces cibles représentent donc certainement la prochaine génération d'ICB qui sera évaluée en clinique.

Parallèlement, des anticorps ciblant spécifiquement les récepteurs inhibiteurs exprimés à la surface des NK sont également à l'étude. Ainsi, au vu de l'importance des KIR inhibiteurs dans la biologie des NK, le développement d'anticorps antagonistes pan-KIR a été parmi les premières immunothérapies conçues pour cibler spécifiquement ces cellules. Ainsi, un antagoniste des KIRs inhibiteurs **KIR2DL1**, **KIR2DL2** et **KIR2DL3** (Lirilumab) a démontré des résultats précliniques intéressants en combinaison avec le Retuximab (anti-CD20) ou l'immunomodulateur Lénalidomide (Benson et al., 2011; Romagné et al., 2009), qui ne se sont pas confirmés en clinique, y compris en cas de combinaisons avec des ICB (NCT01687387, NCT01714739, NCT02481297, NCT02399917, NCT03203876, NCT02599649, (Vey et al., 2017)). En accord avec ces résultats, différentes études suggèrent que l'exposition chronique/continue au Lirilumab génère une désensibilisation et donc dysfonction des NK (Carlsten et al., 2009; Vey et al., 2017), menant à l'abandon de son développement faute d'efficacité. **KIR3DL3** a récemment été investigué comme une cible thérapeutique, avec la preuve de concept de son potentiel thérapeutique démontrée dans différents modèles de souris humanisées (Bhatt et al., 2021; Wei et al., 2021).

### 1.1.2. Les agonistes de récepteurs activateurs et catalyseurs du processus de cytotoxicité

L'exemple le plus décrit et utilisé en clinique à ce jour d'anticorps permettant d'induire ou renforcer l'activation des NK *in vivo* correspond aux **anticorps IgG** présentant une forte affinité pour les cellules tumorales, tout en permettant l'engagement du récepteur **CD16a** à la surface des NK via le fragment Fc, menant à un rapprochement physique du couple cellulaire et au processus d'ADCC. Ainsi, il est admis que l'efficacité du **Rituximab** (anti-CD20, lymphome B), du **Trastuzumab** (anti-HER2, cancers du sein et de l'estomac), du **Cetuximab** (anti-EGFR, cancers du côlon et de la tête et du cou), du **Daratumumab** (anti-CD38), de l'**Elotuzumab** (anti-SLAMF7, myélome multiple), est en grande partie liée aux activités anti-tumorales des NK (Beano et al., 2008; Collins et al., 2013). Des études adossées à des essais cliniques rapportent notamment un lien entre le niveau de réponse/résistance au Trastuzumab et au Daratumumab et la fonctionnalité des NK chez les patients (NCT02751255, (Beano et al., 2008; Verkleij et al., 2023)). Par ailleurs, l'efficacité du Lacutamab ciblant **KIR3DL2**, exprimé à la surface des cellules tumorales de lymphome T (Bagot et al., 2019), est en cours d'évaluation au sein de deux essais cliniques de phase II, seul ou en combinaison à des chimiothérapies (NCT04984837, NCT03902184). De façon intéressante, certains de ces anticorps ne se limitent pas à l'engagement du **CD16a** et présentent un intérêt double en vue de l'activation des NK. Ainsi, **SLAMF7** agissant en récepteur activateur à la surface des NK, l'Elotuzumab permet l'activation des NK via les deux récepteurs activateurs engagés (Campbell et al., 2018; Collins et al., 2013). De même, des études précliniques montrent que des anticorps dirigés contre MICA/MICB dans le but d'inhiber leur protéolyse au sein du microenvironnement permettent d'augmenter l'engagement concomitant de **NKG2D** et **CD16a** (De Andrade et al., 2018; Park et al., 2023). En lien avec ce dernier point, la stratégie visant à cibler directement des récepteurs activateurs via des anticorps monovalents s'est également fortement développée, avec l'apparition émergente d'agonistes du récepteur **4-1BB** (Cheng et al., 2022).

Le constat des résultats positifs présentés ci-dessus doublé de l'objectif clinique majeur d'améliorer l'adressage, l'infiltration intratumorale et la reconnaissance des cellules transformées par les NK, a mené au développement de nouvelles générations d'**anticorps à spécificités multiples**. Ainsi sont apparus progressivement des molécules **bispécifiques (Bi-KE)**, « Bispecific Killer cell Engager ») composées de deux parties variables présentant chacune une forte affinité pour un récepteur activateur de NK (i.e. CD16, NKp30, NKp46, NKG2D, 4-1BB, SLAMF7) ou pour un antigène spécifiquement exprimé à la surface des cellules tumorales (i.e. CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD38, CD123, CD200, PD-L1, EGFR, BCMA, ErbB2, EpCam, HER2, GPC3, B7-H3, mésothéline) (Demaria et al., 2021; Kennedy et al., 2023; Muik et al., 2022; Tichet et al., 2023; Wingert et al., 2021). Des versions améliorées **trispécifiques (Tri-KE)** (Colomar-Carando et al., 2022; Gauthier et al., 2023; Vallera et al., 2016) et plus récemment **tétra-spécifiques** (Demaria et al., 2022) de ces molécules ont été développées. Ces catégories de molécules combinent des fragments reconnaissant différents récepteurs NK, différents antigènes tumoraux ou encore des agonistes des récepteurs de l'IL-2 ou -15 pour permettre **une survie, prolifération et activation accrue et spécifique** des NK en comparaison à leur homologue Bi-KE (Vallera et al., 2016). Ainsi, de nombreuses molécules à **spécificités multiples** combinant les différents fragments évoqués précédemment, la plus complexe à ce jour ayant des affinités pour **NKp46-CD16-IL-2R-CD20** (Demaria et al., 2022), sont à l'heure actuelle à l'essai et présentent des effets prometteurs dans de nombreuses indications ((Colomar-Carando et al., 2022; Gauthier et al., 2023; Muik et al., 2022; Sasse et al., 2022; Tichet et al., 2023; Wingert et al., 2021), NCT03214666, NCT05086315, NCT05839626, NCT03917381).

## 1.2. Les immunothérapies basées sur les cytokines

Comme présenté dans cette introduction, les cytokines pro-inflammatoires jouent un rôle prépondérant dans la biologie des NK, en participant aussi bien à leur **développement, survie, prolifération** qu'à l'induction de leurs **fonctions de sécrétion** et de **cytotoxicité**, servant de rationnel à l'injection de ces facteurs dans le but d'expandre et d'activer les fonctions anti-tumorales des NK de patients directement *in vivo*. Dans ce contexte, cinq cytokines majeures sont des candidats prometteurs à ce jour : l'**IL-2, IL-15, IL-12, IL-18** et **IL-21**. Malgré des résultats précliniques encourageant dans le cas des IL-12, -18 et -21 (Ardolino et al., 2014; Ohs et al., 2017; Seo et al., 2017), nous nous concentrerons sur l'IL-2 et -15 qui ont atteint les stades cliniques.

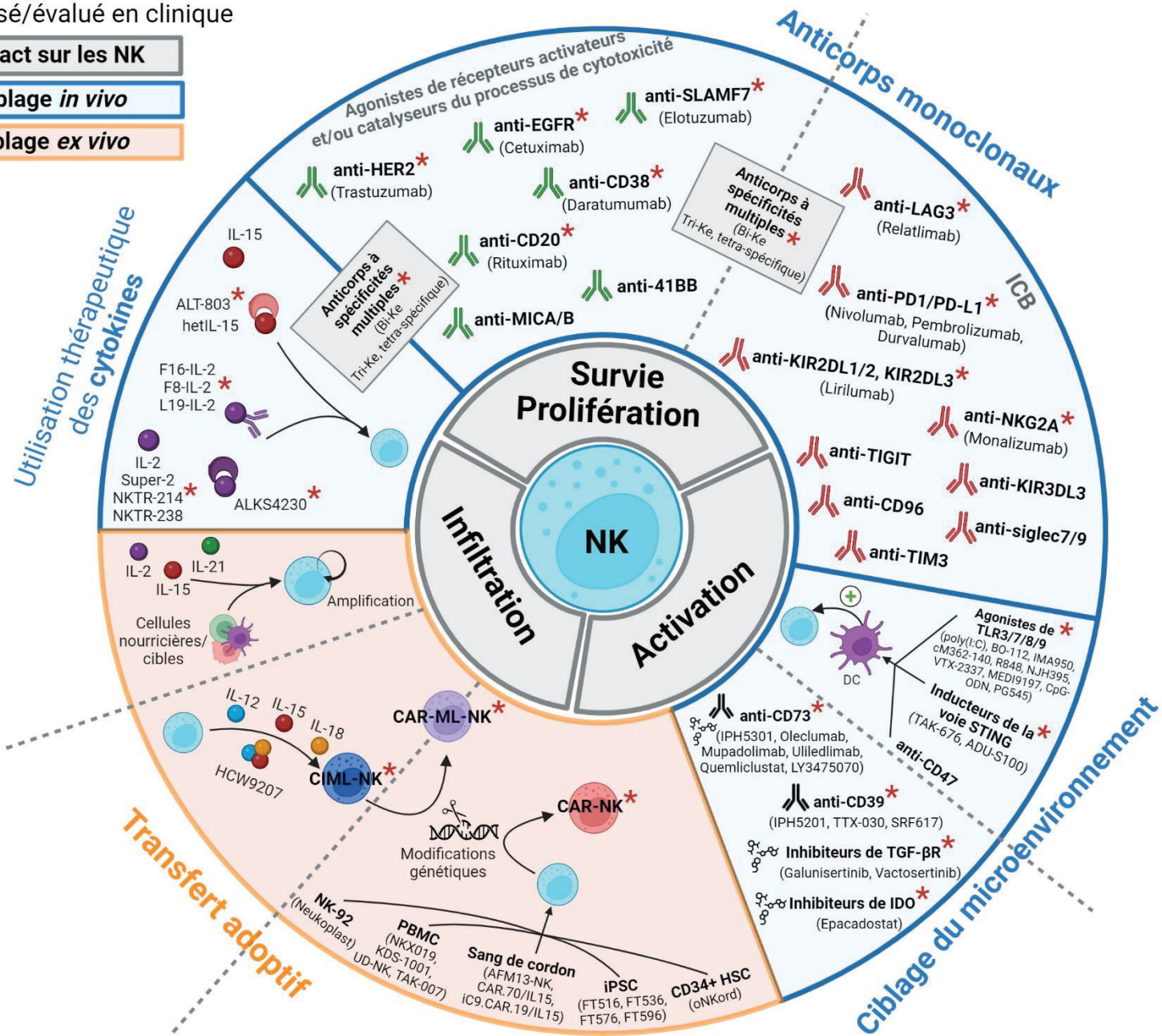
Historiquement, l'**IL-2** est la première cytokine à avoir ouvert la voie de cette stratégie thérapeutique dans le cadre de cancers rénaux et mélanomes (Rosenberg, 2014). Néanmoins, l'expression forte et constitutive de la sous-unité  $\alpha$  du récepteur à l'IL-2 (IL-2R $\alpha$ , CD25) par les LTreg, impliquée dans leur expansion en présence de cette cytokine, a longtemps représenté un obstacle important à son utilisation en clinique (Hernandez et al., 2022). A l'inverse, l'**IL-15** agit sur les NK indépendamment de l'IL-2R $\alpha$  et s'affranchit des effets indésirables évoqués précédemment, tout en assurant une expansion et l'activation spécifique des NK (**Figure 5**). Pour autant, les essais cliniques évaluant l'efficacité d'injections de cette cytokine ont toutefois révélé des premiers résultats décevants avec une efficacité limitée (NCT01021059).

Face à ces résultats, différentes équipes ont développé des **variants** de ces cytokines dans le but de moduler leurs propriétés tels que des **mutants de l'IL-2 (mutéines)** présentant une affinité préférentielle pour IL-2R $\beta$ /CD122 (NKTR-214/BEMPEG, NKTR-358) et des protéines fusions cytokine/anticorps de trois catégories : les **immunocytokines** (L19-IL-2, F16-IL-2, F8-IL-2), les **anticorps à spécificités multiples** évoqués précédemment et enfin les molécules consistant en un **complexe entre l'IL-2 et IL-2R $\alpha$**  (ALKS 4230). L'ensemble de ces constructions permettent un adressage sélectif aux cellules d'intérêt ainsi qu'une demi-vie plus longue, et ont pu démontrer des effets indésirables significativement réduits ainsi qu'une augmentation de la prolifération et des activités des NK (Bentebibel et al., 2019) se traduisant *in fine* par l'induction de réponses anti-tumorales dans de nombreux modèles précliniques (Ardolino et al., 2014; Hutmacher et al., 2019; Lopes et al., 2020; Olivo Pimentel et al., 2021; Shimizu et al., 2023). Ainsi, ces molécules font désormais l'objet de nombreux essais cliniques, y compris de phase III dans le cas du NKTR-214, seules ou en combinaisons (NCT04830124, NCT03282344, NCT03635983, NCT02076646, NCT02957019, NCT03705403, NCT02983045). Similairement, une protéine fusion consistant en un complexe entre l'IL-15 et IL-15R $\alpha$  et qualifiée de « **superagoniste** » de par ses propriétés améliorées (Rubinstein et al., 2006; Stellas et al., 2023) (Anktiva/ALT-803/N-803, hetIL-15) a, là encore, présenté une balance efficacité/effets secondaires largement améliorée avec des effets notables sur l'activation et l'expansion des NK ((Chertova et al., 2013; Wrangle et al., 2018), NCT02523469, NCT03759184, NCT02689453, NCT03388632, NCT03905135, NCT01898793). Cette dernière est ainsi engagée dans de nombreux essais cliniques, y compris de phase III (NCT01727076, NCT05096663, NCT03022825). De façon intéressante, différentes études mettent en évidence que des injections intermittentes de cette IL-15 complexée permettent de maintenir ses effets thérapeutiques (Stellas et al., 2023) sans induire les altérations fonctionnelles des NK décrites en cas d'exposition continue (**page 62**).

Ainsi, les approches et méthodes permettant d'optimiser l'efficacité des cytokines tout en limitant leurs effets aspécifiques et indésirables ont fortement évolué au cours de ces dernières années et devraient permettre le développement de stratégies similaires à partir de nouvelles cytokines activatrices (Rossari et al., 2023).

\*: Utilisé/évalué en clinique

- Impact sur les NK
- Ciblage *in vivo*
- Ciblage *ex vivo*



**Figure 12 : Stratégies thérapeutiques anti-tumorales ciblant directement et indirectement les NK**

Des stratégies thérapeutiques de plus en plus nombreuses, variées et complémentaires permettent de cibler les cellules NK et leur activité anti-tumorale. Ces stratégies visent à accroître le nombre de NK intratumoraux (en stimulant leur infiltration, survie et/ou prolifération) et à stimuler l'ensemble de leurs fonctions anti-tumorales. Certaines approches consistent à amplifier, stimuler et/ou modifier génétiquement les cellules NK *ex vivo* (indiquées en orange) en vue d'un transfert adoptif au sein de patients, tandis que d'autres sont utilisées directement *in vivo* (indiquées en bleu). Les NK peuvent être ciblées directement, ou indirectement via des molécules ciblant le microenvironnement. Ces approches peuvent être combinées entre elles ou avec d'autres thérapies. BiKEs: Bi-specific Killer Engagers, TriKEs: Tri-specific Killer Engagers, PBMCs: Peripheral Blood Mononuclear Cells, CAR-NK: Chimeric Activating Receptor NK cells, CIML: "Cytokine-Induced Memory-like", CAR-ML: CAR-Memory-like, ICB: "Immune Checkpoint Blockade", iPSC: "induced-Pluripotent Stem Cells". DC : Cellules Dendritiques.

### 1.3. Transferts adoptifs des NK

Le transfert adoptif de cellules immunitaires consiste en la **manipulation *in vitro*** de ces cellules afin d'augmenter leur nombre, d'améliorer leurs réactivités ou d'adapter certaines de leurs caractéristiques, en vue de les injecter aux patients dont le système immunitaire n'assure plus ses fonctions. Au cours de ces dernières années, l'intérêt pour les **thérapies cellulaires** s'est décuplé des suites des premiers succès cliniques de thérapies à base de transfert adoptif de cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T cells). Malgré des résultats révolutionnaires, ces thérapies s'accompagnent de limitations majeures liées à des effets indésirables importants (i.e. syndrome de libération cytokiniques, neurotoxicité etc...) ainsi qu'à l'obligation d'utiliser des LT autologues, rendant inéligibles de nombreux patients lymphopéniques (Berrien-Elliott et al., 2023). Face à ces problématiques, la mise en évidence de la très bonne **tolérabilité** de transferts adoptifs de NK, y compris **allogéniques**, en cas de transplantations de cellules hématopoïétiques les identifie comme une alternative thérapeutique pertinente permettant de les positionner en acteurs majeurs des thérapies cellulaires (Giebel et al., 2003; Ruggeri et al., 2002; Venstrom et al., 2012).

Les premières approches basées sur le transfert adoptif de NK « sauvages » ont présenté des effets thérapeutiques limités (Ishikawa et al., 2004). Face à ce constat, les stratégies actuelles s'axent principalement autour de trois problématiques, à savoir d'**augmenter l'expansion**, la **fonctionnalité** et la **persistance** des NK *in vivo*, au travers de différentes approches. Premièrement, investiguer et comparer différentes sources de cellules (i.e. **lignées cellulaires** ((Cao et al., 2021), Neukoplast, NK-92/5.28.z), **PBMC** (NKX019/101, KDS-1001, UD-NK, TAK-007), **sang de cordon** (AFM13-NK, CAR.70/IL15, iC9.CAR.19/IL15) et enfin différenciées *in vitro* à partir de **cellules souches** ou **progénitrices** (iPSC, FT516/536/576/596)), chaque type d'échantillon présentant ses avantages et limites (Berrien-Elliott et al., 2023). Deuxièmement, identifier les **protocoles d'expansion *ex vivo*** optimaux (utilisation de facteurs de survie/prolifération et de cellules nourricières) et/ou permettant de conditionner une **réactivité antitumorale maximale** (genèse de CIML). Enfin, réaliser des **modifications génétiques** (CAR-NK) pour adapter les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles de ces cellules.

#### 1.3.1. Les CIML et ML :

Comme abordé précédemment, l'activation courte (12-16h) et aigüe *ex vivo* par l'action combinée des **IL-12**, **IL-15**, **IL-18** confère aux NK-CIML des **propriétés épigénétiques, transcriptomiques, métaboliques** et donc **fonctionnelles** se traduisant par des **activités anti-tumorales** et un **potentiel prolifératif à long terme** significativement augmentés. De nombreuses données préliminaires issues de modèles de cancers différents (i.e. LAM et LAL à cellules T, myélome multiple, lymphome, mélanome, ou encore dans des modèles de cancer de l'ovaire et de foie) suggèrent l'intérêt thérapeutique des NK CIML (Boieri et al., 2017; Bonanni et al., 2019; Romee et al., 2012, 2016; Uppendahl et al., 2019; Zhuang et al., 2019). En ce sens, les **premiers essais cliniques** s'intéressant à leurs potentiels thérapeutiques après transfert adoptif ont mis en évidence la prolifération et le maintien de l'hyper-réactivité de ces cellules *in vivo* au sein de patients ainsi qu'une absence d'effets secondaires toxiques non gérables ((Berrien-Elliott et al., 2020, 2022; Romee et al., 2016; Shapiro et al., 2022), NCT02782546, NCT01898793), associés à des réponses cliniques chez 5 des 9 patients inclus (Romee et al., 2016). Depuis, cette stratégie est évaluée dans de nombreux essais cliniques (WU-NK-101, NCT02782546, NCT03068819, NCT04024761, NCT04290546, NCT04354025, NCT04634435, NCT05470140) et la création de réactifs de grades cliniques telles qu'une protéine fusion assurant l'engagement des récepteurs d'IL-12, IL-15 et IL-18 (HCW9207, (Becker-Hapak et al., 2021)) devraient d'avantage faciliter le développement de cette approche.

### 1.3.2. Les NK génétiquement modifiées :

A l'image des CAR-T, l'ingénierie des NK (CAR-NK) par des approches virales, non virales ou par technique de CRISPR/Cas9 offre de nombreuses possibilités afin d'améliorer leur réactivité *in vivo* au sein du microenvironnement tumoral (Elmas et al., 2022; Naeimi Kararoudi et al., 2022). Premièrement, ces modifications peuvent être à l'origine de la surexpression de molécules diverses, telles que des récepteurs reconnaissant des **antigènes tumoraux** similaires à ceux présentés dans la partie dédiée aux anticorps thérapeutiques (Albinger et al., 2022; Berrien-Elliott et al., 2023; Cao et al., 2021; Liu et al., 2020; Shah & Mailankody, 2020), la surexpression de **récepteurs activateurs** (Chockley et al., 2023; Xiao et al., 2019) ou enfin l'expression de **récepteurs à l'IL-2 et -15**, voire de ces **cytokines elles-mêmes** afin de soutenir une survie, expansion et activation via des effets autocrines (ONKT103/104) (Liu et al., 2018; Lu et al., 2022). A l'inverse, ces cellules peuvent également être modifiées pour ne plus exprimer des gènes associées à la perte de fonctionnalité intratumorale, tels que des **récepteurs aux molécules immunosuppressives** (i.e. TGF- $\beta$ , adénosine), des récepteurs inhibiteurs (i.e. NKG2A, TIGIT, PD-L1, KIR) (Bexte et al., 2022; Chambers et al., 2022; Laskowski et al., 2022) ou encore des molécules intracellulaires, tel que le répresseur de réponse à l'IL-15 **CIS** (Bernard et al., 2022; Delconte et al., 2016; Zhu et al., 2020) (ONKT102/103/104/105). La diversité des modifications géniques associée à l'engouement porté à cette approche de thérapie cellulaire ont mené à une explosion des essais cliniques de phase I et II dédiés à l'étude de leur tolérabilité et efficacité (NCT04887012, NCT04796675, NCT05213195, NCT05008575, NCT03383978, NCT05410717, NCT04847466, NCT05092451, pour ne citer qu'eux).

Désormais, les essais cliniques tendent à tirer parti des avantages apportés par l'ensemble de ces approches. Ainsi, la genèse récente de **NK CIML modifiées génétiquement (CAR-ML-NK)**, cumulant ainsi une **activité anti-tumorale** et des **capacités de maintenance, d'infiltration intratumorale et de reconnaissance des cellules cancéreuses optimisées** émerge comme une piste thérapeutique prometteuse (Dong et al., 2022; Gang et al., 2020). Par ailleurs, des combinaisons entre CAR-NK ou de CIML, superagoniste ALT-803 et anticorps induisant l'ADCC ont pu être proposées en clinique dans le cadre de différentes indications (NCT01898793, NCT02782546, NCT05618925, NCT04390399).

## 2. Ciblage indirect des NK et combinaisons thérapeutiques

### 2.1. Modulation du microenvironnement et des populations DC accessoires

L'établissement d'un microenvironnement immunosuppresseur participe largement à la perte des fonctions d'immunosurveillance des NK, jusqu'à parfois rendre inefficace les approches thérapeutiques citées ci-dessus. Ainsi, certaines stratégies consistent à éliminer les sources de signaux inhibiteurs ou, à l'inverse, permettre l'engagement d'interactions cellulaires importantes aux fonctions d'immunosurveillance des NK, en vue de permettre un environnement propice aux effets thérapeutiques de ces cellules. Dans ce contexte, nous nous concentrerons sur les stratégies développées en vue de réguler deux versants majeurs de la biologie NK, et que nous évoquons lors de nos travaux, avec d'une part **l'inhibition des effets médiés par les membres immunosuppresseurs de la famille du TGF- $\beta$**  (page 51) et d'autre part **la réactivation du dialogue NK/DC** (page 66).

Ainsi, les effets positifs sur les fonctions des NK de l'inhibition du **TGF- $\beta$**  et de l'**Activine A** ont été largement décrits lors d'études précliniques (Otegbeye et al., 2018; Rautela et al., 2019; Shaim et al., 2021), et semblent se confirmer en clinique dans le cas d'**inhibiteurs sélectifs de TGF- $\beta$ R** (Galunisertib,

Vactosertib) (Santini et al., 2019). Ces molécules sont ainsi à l'étude dans de nombreuses indications solides et hématologiques, seules ou en combinaisons (NCT02240433, NCT02178358, NCT01246986, NCT02452008, NCT03206177, NCT02672475, NCT02688712, NCT01582269, NCT01682187, NCT02906397, NCT02538471, NCT02734160, NCT02423343, NCT03143985, NCT03074006). De par la découverte récente de la conversion des NK en ILC1-like, aucune donnée clinique ne démontre de lien entre l'inhibition de ce processus et l'amélioration du pronostic des patients, malgré des évidences précliniques allant en ce sens (Gao et al., 2017). Par ailleurs, l'inhibition d'autres molécules responsables du caractère immunosuppresseur du microenvironnement, et indirectement de la sécrétion de TGF- $\beta$ , telles que les enzymes **CD39** (IPH5201, TTX-030, SRF617), **CD73** (Oleclumab, Mupadolimab, Uliledlimab, Quemliclustat, IPH5301, LY3475070) et **IDO** (Epacadostat), représentent elles aussi des cibles d'intérêt et sont actuellement testées en clinique (NCT04336098, NCT04306900, NCT05742607, NCT05143970, NCT02042430, NCT03516708, NCT03414229, NCT03006302, NCT03358472, NCT04148937).

A l'inverse, le ciblage indirect des NK au travers d'**injections intratumorales** de molécules activant les **DC** émerge comme une autre piste thérapeutique (Marabelle et al., 2014). Ainsi, l'injection locale d'inducteurs de la voie **STING** (i.e. cGAMP, dinucléotides cycliques, TAK-676, ADU-S100) induit une forte sécrétion d'**IFN-I** par les cellules myéloïdes intratumorales, responsable de l'activation des NK (Berger et al., 2022; Da et al., 2022; Knelson et al., 2022; Marcus et al., 2018; Nicolai et al., 2020; Sundararaman & Barbie, 2018). Des évidences précliniques identifient le blocage du récepteur **CD47** (SIRP $\alpha$ ) à la surface des DC comme une autre stratégie résultant dans l'induction de la voie STING, des fonctions DC et *in fine* du recrutement et de l'activation des NK (Deuse et al., 2021; Wang et al., 2022). Ces effets apparaissent d'ailleurs maximisés lors d'utilisation conjointe de ces molécules à l'IL-2 ou des inhibiteurs de l'axe PD-1/PD-L1 (Nicolai et al., 2020) et sont actuellement évalués en clinique (NCT04420884, NCT04879849, NCT02675439, NCT03172936). De plus, l'injection intratumorale d'**agonistes de TLR** exprimés par les DC émerge comme une thérapie capable de mobiliser les réponses anti-tumorales médiées par les NK, comme le démontrent des études réalisées à partir d'agonistes de **TLR3** (poly(I:C), BO-112, IMA950, cM362-140) ((Akazawa et al., 2007; Matsumoto et al., 2015; Zemek et al., 2019), NCT04420975, NCT03665545, NCT05557240, NCT02549833), **TLR7/8** (R848, NJH395, VTX-2337, MEDI9197) ((Hart et al., 2005; Khanna et al., 2021; Mullins et al., 2019), NCT03696771) et **TLR9** (CpG-ODN, PG545) ((Alizadeh et al., 2010; Lemech et al., 2023), NCT05061017).

## 2.2. Implication des NK dans l'efficacité de thérapies conventionnelles

Au cours de ces dernières années, l'implication des NK dans les mécanismes d'action de certaines stratégies thérapeutiques n'ayant pourtant pas pour objectif premier de réguler le système immunitaire apparaît dans certains cas comme un paramètre de réponse.

Premièrement, les thérapies responsables de **stress cellulaire** et/ou de l'**activation de la réponse aux dommages à l'ADN** (Cerboni et al., 2013; Gasser et al., 2005), telles que les **chimiothérapies** (Acebes-Huerta et al., 2016; Feng et al., 2016; K. S. Kim et al., 2022; Siew et al., 2015; Soriani et al., 2014), **radiothérapies** (Heo et al., 2015; J. Y. Kim et al., 2006), les **inhibiteurs d'histone désacétylase** (Diermayr et al., 2008; Lu et al., 2022), les **inhibiteurs de kinases** (Huang et al., 2011) ou du **protéasome** (Niu et al., 2017) induisent une surexpression de **ligands de NKG2D** et **DNAM1** par les cellules tumorales, tandis que l'expression du **CMH-I** est diminuée par les cellules tumorales traitées par inhibiteurs de kinases et du protéasome (Bommarito et al., 2016; Hage et al., 2019), permettant leur reconnaissance et lyse par les NK. Récemment, des preuves de concept *in vitro/in vivo* démontrent



que des petites molécules cytotoxiques couramment utilisées en clinique dans de nombreuses indications, telles que les **BH3 mimétiques** ou l'elraglusib, **un inhibiteur de GSK-3**, sensibilisent les cellules tumorales aux effets cytotoxiques des NK (Huntington et al., 2023; Pan et al., 2022). Par ailleurs, l'infiltration et le phénotype des NK représentent un biomarqueur prédictif de réponses à différents **inhibiteurs de tyrosine kinases** (Dasatinib et Imatinib) (Hansen et al., 2019; Ilander et al., 2014; Rusakiewicz et al., 2016), qui induisent eux-mêmes l'expansion et l'activation de ces lymphocytes (Hansen et al., 2019; D. H. Kim et al., 2009; Mustjoki et al., 2009; Ohyashiki et al., 2012). Enfin, la description du processus de **mort cellulaire immunogénique** par lequel des cellules cancéreuses mourantes présentent des signaux responsables de la mise en place de **réponses immunitaires adaptatives**, s'avère être induit par de nombreux agents cytotoxiques (i.e. chimiothérapies, hormonothérapies, radiothérapies, thérapies ciblées) et constitue désormais un critère important dans l'utilisation de ces molécules (Galluzzi et al., 2020; Kroemer et al., 2022). L'une des caractéristiques majeures de cette mort cellulaire est l'**externalisation de la calréticuline** (Obeid et al., 2006), qui de façon très intéressante, a été très récemment identifiée comme le premier **ligand endogène activateur du récepteur NKp46** (Sen Santara et al., 2023), liant de fait et de façon inattendue les NK à la surveillance de ce processus (Kasikova et al., 2019; Truxova et al., 2020).

L'ensemble de ces points révèle ainsi un intérêt clinique fort pour le potentiel anti-tumoral des NK. Le futur de ces approches repose ainsi sur quatre axes principaux, à savoir (i) identifier les stratégies permettant l'**infiltration** et la **résidence** intratumorale des NK, (ii) l'**identification d'antigènes** d'intérêt permettant l'adressage des NK, (iii) la description de facteurs permettant d'**améliorer l'expansion, l'activation** et la **persistance *in vivo*** des NK, (iv) l'approfondissement de notre compréhension des **mécanismes participant à leur dysfonction** au sein du microenvironnement tumoral. De surcroît, notre compréhension actuelle des mécanismes de surveillance médiés par les NK mis en regard des modes d'actions de thérapies conventionnelles constitue un rationnel fort à la mise en place de **combinaisons thérapeutiques** (Galluzzi et al., 2020; Yang et al., 2021), qui devraient constituer la prochaine étape de la prise en charge des cancers en clinique.

## Chapitre 4- Régulateurs cytokiniques des NK, une liste d'acteurs qui s'allonge.

Comme nous l'avons détaillé dans les précédentes parties, les cytokines interviennent à toutes les étapes de la biologie des NK, dès leur développement jusqu'au contrôle fonctionnel des populations matures afin de permettre une adaptation de leurs caractéristiques, rôles et niveau d'activation en accord avec les besoins de l'environnement. Depuis la découverte de ces cellules, la liste des cytokines impliquées dans leur régulation n'a cessé de croître, permettant une **meilleure compréhension des réponses immunitaires médiées par les NK** lors de contextes physiopathologiques et donc le **développement de nouvelles stratégies thérapeutiques**. Mes travaux s'ancrent donc dans cette dynamique, avec la caractérisation des effets des **IL-33** et **IL-35**, deux cytokines impliquées dans la régulation des réponses immunitaires, mais dont les effets sur la biologie des NK restent, respectivement, peu et non décrits. Les caractéristiques et fonctions de ces deux cytokines seront présentées à travers ce chapitre.

### I. L'interleukine-33 (IL-33), signal d'alarme pour le système immunitaire

L'IL-33 appartient à la famille des IL-1s, regroupant de nombreux membres et présentée dans l'**encadré 5**. Historiquement, l'IL-33 a initialement été identifiée comme un régulateur puissant des **réponses immunitaires de type 2**, avec la mise en évidence précoce que l'administration d'IL-33 résulte en l'infiltration d'éosinophiles, la sécrétion des cytokines IL-5 et -13 (Kondo et al., 2008) ou encore l'identification des LTh2 comme première population exprimant constitutivement le récepteur à l'IL-33, ST2/IL1RAcP (ST2) (Schmitz et al., 2005). Depuis, une meilleure compréhension des processus de régulation de l'IL-33 et de son récepteur ST2, qui apparaissent comme **hautement dépendants du contexte**, a permis d'élargir le spectre de populations cellulaires répondant à cette alarmine, identifiant désormais l'IL-33 comme un médiateur important des **réponses immunitaires de type 1**. Dans cette partie, nous nous concentrerons sur la présentation des caractéristiques moléculaires de cette cytokine, des nombreux processus régulant son activité et enfin, sans minimiser l'importance de cette cytokine dans d'autres contextes physiopathologiques, nous nous concentrerons sur les rôles de l'IL-33 en **contexte tumoral**.

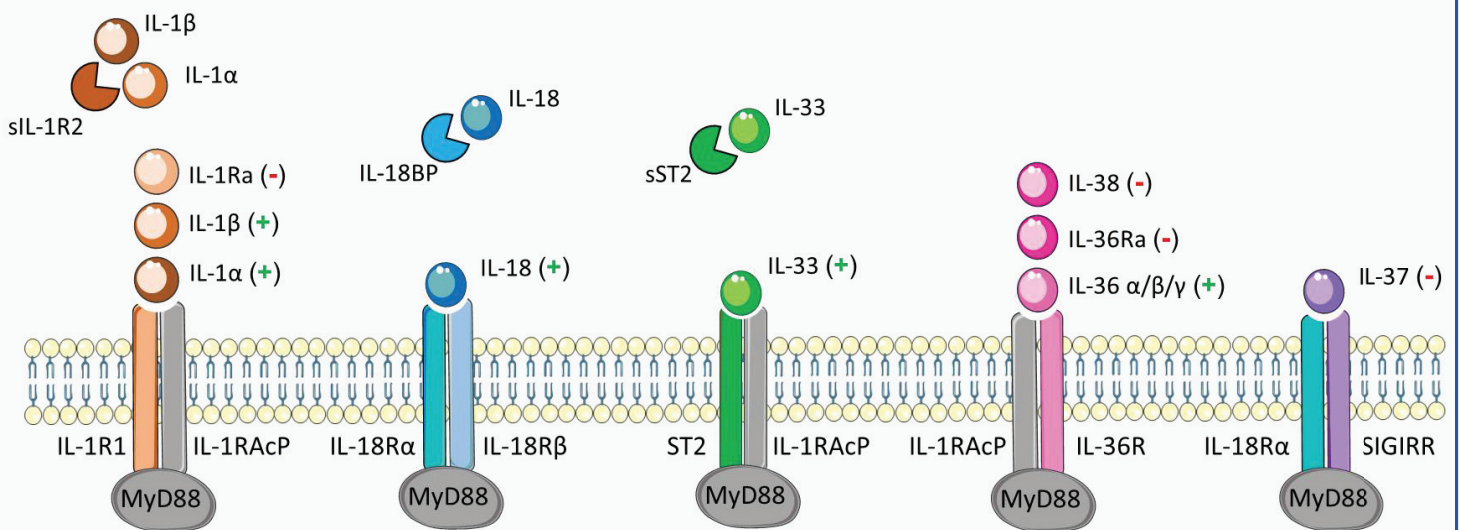
## Encadré 5 : L'IL-33, membre de la famille des IL-1s

La famille des IL-1s est composée de :

- 7 cytokines **agonistes pro-inflammatoires** : **IL-1 $\alpha$ / $\beta$** , **-18**, **-33**, **-36 $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$** ,
- 6 membres **antagonistes** : **IL-1Ra**, **IL-36Ra**, **sST2**, **IL-18BP**, **sIL-1R2**,
- 2 facteurs **immunosuppresseurs**, l'**IL-37** et **-38**.

Ces facteurs solubles présentent des structures protéiques tri-dimensionnelles similaires caractérisées par la présence d'un ensemble de feuillets  $\beta$  dans leur domaine actif et, dans le cas des **IL-1 $\alpha$ / $\beta$** , **IL-18**, **IL-33**, **IL-36 $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$** , **IL-37** et **IL-38**, reconnaissent chacun un récepteur hétérodimérique spécifique (**illustrés ci-dessous**). Les cytokines de la famille des IL-1s transduisent un signal intracellulaire via le recrutement de l'adaptateur **MyD88** et l'activation des voies **NF- $\kappa$ B**, des **MAPK** et de **mTOR**.

De façon intéressante, les membres antagonistes et facteurs immunosuppresseurs participent à la régulation de l'inflammation en inhibant, notamment, l'interaction des cytokines pro-inflammatoires avec leurs récepteurs. Ainsi, **IL-1Ra**, **IL-36Ra**, **IL-37** et **IL-38** entrent en compétition avec les IL-1 $\alpha$ / $\beta$ , -36 $\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$  et -18 pour la fixation aux récepteurs IL-1R1, IL-36R et IL-18R $\alpha$ . Les molécules **sST2**, **IL-18BP** et **sIL-1R2** agissent quant à elles en se liant directement et respectivement aux cytokines IL-33, IL-18 et IL-1 $\alpha$ / $\beta$ , empêchant ainsi leur fixation aux récepteurs **ST2**, **IL-18R $\alpha$**  et **IL-1R1** par encombrement stérique. De plus, l'IL-37 inhibe les effets d'autres IL-1s par activation de STAT3.



Les effets activateurs des **IL-1 $\alpha$ / $\beta$**  et **-18** sur les NK sont largement décrits, tandis que ceux des **IL-33**, **-36 $\gamma$**  et **-37** n'ont été rapportés que très récemment, et bien que n'étant que partiellement compris, renforcent l'importance de cette famille de cytokines dans la biologie des NK (**page 44**).

## 1. L'IL-33, une alarmine nucléaire à l'expression finement régulée

### 1.1. Structure génique et protéique

Chez l'homme comme chez la souris, le gène codant l'IL-33 se situe sur le chromosome 9, est composé de 8 exons et est sous le contrôle d'un promoteur localisé en amont de l'exon 2 (Cayrol & Girard, 2018; Dwyer et al., 2022). De plus, un promoteur unique à l'homme se trouve devant l'exon 1 et contient une région qualifiée d'« **élément de réponse stimulé par l'interféron (IFN)** » ainsi que plusieurs **sites d'activation par l'IFN $\gamma$**  (Tsuda et al., 2017). Ces deux promoteurs mènent à l'expression d'une même forme protéique (Cayrol & Girard, 2018; Dwyer et al., 2022; Tsuda et al., 2017) aux domaines N-terminal et C-terminal hautement conservés et séparés par un domaine central de liaison. Le premier est principalement composé d'un signal de **localisation nucléaire (NLS)** ainsi que d'un **domaine de liaison à la chromatine (CBD)**, permettant l'adressage et la **rétenion nucléaire** de cette cytokine immédiatement après synthèse (Carriere et al., 2007; Travers et al., 2018). Le domaine C-terminal quant à lui, présente une forte homologie structurale avec ses équivalents au sein des autres IL-1s (« IL-1-like domain ») et confère à l'IL-33 ses fonctions cytokiniques ainsi que sa spécificité pour son récepteur, **ST2 (Encadré 5, Figure 13.A)** (Cayrol & Girard, 2018; Dwyer et al., 2022).

### 1.2. Sources cellulaires et régulations

Afin d'assurer ses rôles de **signal d'alarme précoce** en cas de **stress cellulaire**, plus largement abordés par la suite, de nombreux processus de régulation sont mis en place afin d'assurer une présence extracellulaire adaptée et raisonnée de l'IL-33. Ainsi, les **niveaux d'expression**, la **localisation subcellulaire**, le **relargage**, la **bioactivité** ou encore **l'accessibilité de l'IL-33 à son récepteur** apparaissent hautement dépendants du contexte.

#### 1.2.1. Une expression régulée

L'**IL-33** est exprimée constitutivement par des **cellules épithéliales** (Pascual-Reguant et al., 2017; Pichery et al., 2012; Wang et al., 2023) et (**myo**)**fibroblastiques** (Aparicio-Domingo et al., 2021; Dahlgren et al., 2019; Mahapatro et al., 2016; Ninomiya et al., 2022; Park et al., 2023; Waddell et al., 2021), les **péricytes** (Sponheim et al., 2010), les **ostéoclastes** (Schulze et al., 2011), les **adipocytes** (Wood et al., 2009), différentes **cellules du système nerveux** (cellules gliales, neuronales et astrocytaires) (Gadani et al., 2015; Nguyen et al., 2020; Vainchtein et al., 2018) et enfin, chez l'homme uniquement, par les cellules **endothéliales** (Manetti et al., 2010; Moussion et al., 2008; Pichery et al., 2012). Cette expression se trouve enrichie au sein des tissus en contact avec l'environnement extérieur (i.e. peau, poumons, tractus gastro-intestinal), plus susceptibles de rencontrer des pathogènes. Différentes études controversées (Cayrol & Girard, 2022) rapportent l'expression de cette cytokine par des cellules myéloïdes, et méritent davantage d'investigations malgré de récents résultats intéressants concernant les cDC (Hung et al., 2020, 2021).

Malgré une expression constitutive à l'état basal, l'expression de l'IL-33 n'en reste pas moins régulée en contexte pathologique, et peut être augmentée lors de **stress tissulaires et cellulaires** ou en réponse à des **stimuli pro-inflammatoires**, tels que les cytokines (IFN $\gamma$  (Seltmann et al., 2013), TNF $\alpha$  (Lee et al., 2016), l'IL-1 $\alpha/\beta$  (Lee et al., 2016), l'IL-4 et IL-13 (Dahlgren et al., 2019), l'IL-17 ou encore l'IL-33 elle-même (Hardman et al., 2013), cette dernière participant à la surexpression de ses propres inducteurs. En ce sens, différentes études démontrent que l'IL-33 renforce significativement les effets thérapeutiques de traitements connus pour moduler le microenvironnement (Clark et al., 2021; Hung

et al., 2020), des DAMPs (HMGB1, l'ATP (Fu et al., 2016; Jiao et al., 2023; Paris et al., 2014)), des agonistes de TLR (LPS, Poly(I:C) (Jin et al., 2020; Lee et al., 2016; Pichery et al., 2012)) ou encore lors d'infections parasitaires (Clark et al., 2021). Ainsi, une surexpression de cette alarmine est observée au sein des cellules épithéliales muco-sales et intestinales en cas de traitement par irradiation/chimiothérapies, d'infections ou de développement de maladie du greffon contre l'hôte (GvHD), respectivement (Le Goffic et al., 2011; Pascual-Reguant et al., 2017; Reichenbach et al., 2015). Des observations similaires ont été réalisées à partir de kératinocytes en cas de dermatite atopique (Savinko et al., 2012) et de cellules épithéliales des conduits respiratoires de patients souffrant d'asthme ou de bronchopneumopathies chroniques obstructives (COPD) (Reichenbach et al., 2015) mais également de souris exposées à des pathogènes et allergènes (Hardman et al., 2013; Kearley et al., 2015; Xia et al., 2015; Yasuda et al., 2012). Par ailleurs, les fibroblastes/myofibroblastes et péricytes présentent une forte expression d'IL-33 lors de processus inflammatoires et de réparation tissulaire (Aparicio-Domingo et al., 2021; Lee et al., 2016; Marvie et al., 2010; Sponheim et al., 2010).

### 1.2.2. Absence de peptide signal et libération non conventionnelle

A l'inverse d'autres IL-1s, l'IL-33 présente les particularités de (i) **ne pas contenir de peptide signal** (Liew et al., 2016) permettant sa libération par les voies de sécrétions classiques impliquant le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi et (ii) d'être **indépendante de l'activation par l'inflammasome** (Kita, 2022). Cette caractéristique renforce sa **séquestration nucléaire** qui représente un axe de régulation de son activité en soi (Travers et al., 2018), comme le démontre l'induction d'une inflammation systémique léthale au sein de modèles murins transgéniques présentant une absence de sa séquence NLS (Bessa et al., 2014) ou encore la démonstration que le parasite *H. polygyrus* limite les effets de l'IL-33 via la sécrétion d'HpARI qui renforce son interaction avec l'ADN (Osborn et al., 2017). Pour autant, cette alarmine est détectable dans le milieu extracellulaire dans bon nombre de contextes, et ses effets directs par l'engagement de son récepteur ST2 sont bien démontrés. De ce fait, les mécanismes de relargage de l'IL-33 du noyau vers le milieu extracellulaire ont été extensivement étudiés, et bien que la compréhension du processus reste incomplète, différents scénarios sont à ce jour proposés (**Figure 13.A**).

Premièrement, les agents et pathogènes causant la **nécrose**, la **nécroptose** et de manière générale des **dommages tissulaires et cellulaires**, induisent le **relargage passif** de l'IL-33 sous sa **forme complète et fonctionnelle** dans le milieu extracellulaire (Cayrol & Girard, 2009; Jeon et al., 2023; Lüthi et al., 2009; Rickard et al., 2014; Shlomovitz et al., 2019). Ainsi, cette voie de relargage a pu être observée des suites de **lésions** pulmonaires induites par infections virales (Jackson et al., 2014; Kearley et al., 2015), exposition à des allergènes (Scott et al., 2018) ou à de l'acide oléique (Lefrançais et al., 2012), de lésions à la moelle épinière (Gadani et al., 2015) ou de l'épiderme (Galand et al., 2016; Imai et al., 2014; Sundnes et al., 2015), ou encore en cas de **lyse cellulaire mécanique** (Cayrol & Girard, 2009) ou d'exposition à des **inducteurs de nécrose** (Lüthi et al., 2009; Palm et al., 2013; Rose et al., 2015).

En complément, de nombreuses études suggèrent des **mécanismes actifs de sécrétions** de l'IL-33. Ces mécanismes requièrent ainsi une translocation de l'IL-33 vers le cytoplasme puis son export vers le milieu extracellulaire sans perte d'intégrité membranaire. En ce sens, une approche *in vitro* récente démontre que l'induction de la **pyroptose** induit une translocation cytoplasmique de l'IL-33 dépendante du **calcium** (Ca<sup>2+</sup>), suivie par sa libération par des pores membranaires formés par la **Gasdernine D** (Momota et al., 2020). Cette description est en accord avec différentes observations précédentes rapportant un lien entre les **sécrétions d'ATP**, induite en cas de pyroptose, l'augmentation corollaire des concentrations intracellulaires calciques et la libération de l'IL-33

(Kouzaki et al., 2011; Snelgrove et al., 2014; Zhang et al., 2011). Par ailleurs, la sécrétion de l'IL-33 par des **cellules vivantes**, et donc indépendante de morts cellulaires inflammatoires responsables de perte d'intégrité membranaire, a été décrite. Ainsi, des études récentes ont respectivement pu mettre en évidence une **isoforme tronquée** (IL-33<sup>Δ34</sup>) présentant un domaine N-terminal partiel permettant sa localisation cytoplasmique en contexte d'inflammations pulmonaires (Gordon et al., 2016; Katz-Kiriakos et al., 2021) ainsi que l'existence de **granules de stress** induits en cas d'exposition à des allergènes et permettant la translocation cytoplasmique de l'IL-33 (Chen et al., 2022). Ces études ont également décrit des sécrétions d'IL-33 médiées, respectivement, via l'exocytose d'**exosomes** (Katz-Kiriakos et al., 2021) ou grâce à la formation de pores membranaires formés ici encore par la **Gasdermine D**, activées par les signalisations en aval de récepteurs activés par des protéases allergéniques (Chen et al., 2022). Dans un fonctionnement similaire à la Gasdermine D, une étude suggère l'implication de pores membranaires formés à partir de la **perforine-2** pour la libération extracellulaire de l'IL-33 par les cDC (Hung et al., 2020). Enfin, les **stress mécaniques** semblent également induire le relargage de l'IL-33 de façon indépendante de la mort cellulaire, au travers de mécanismes encore indéterminés (Cayrol & Girard, 2009; Chang et al., 2017; Kakkar et al., 2012).

Bien que l'implication respective de ces différentes voies dans le relargage de l'IL-33 reste à être évaluée chez l'homme, l'IL-33 soluble est ainsi détectée dans le sérum de patients atteints par de nombreuses pathologies inflammatoires chroniques, telles que l'**asthme**, le psoriasis et **dermatite atopique**, l'**arthrite rhumatoïde**, la **dégénérescence maculaire** ou encore dans de **nombreux contextes tumoraux** (Askoura et al., 2022; Dong et al., 2021; Hu et al., 2017; Jovic et al., 2022; Mitsui et al., 2016; Xi et al., 2016).

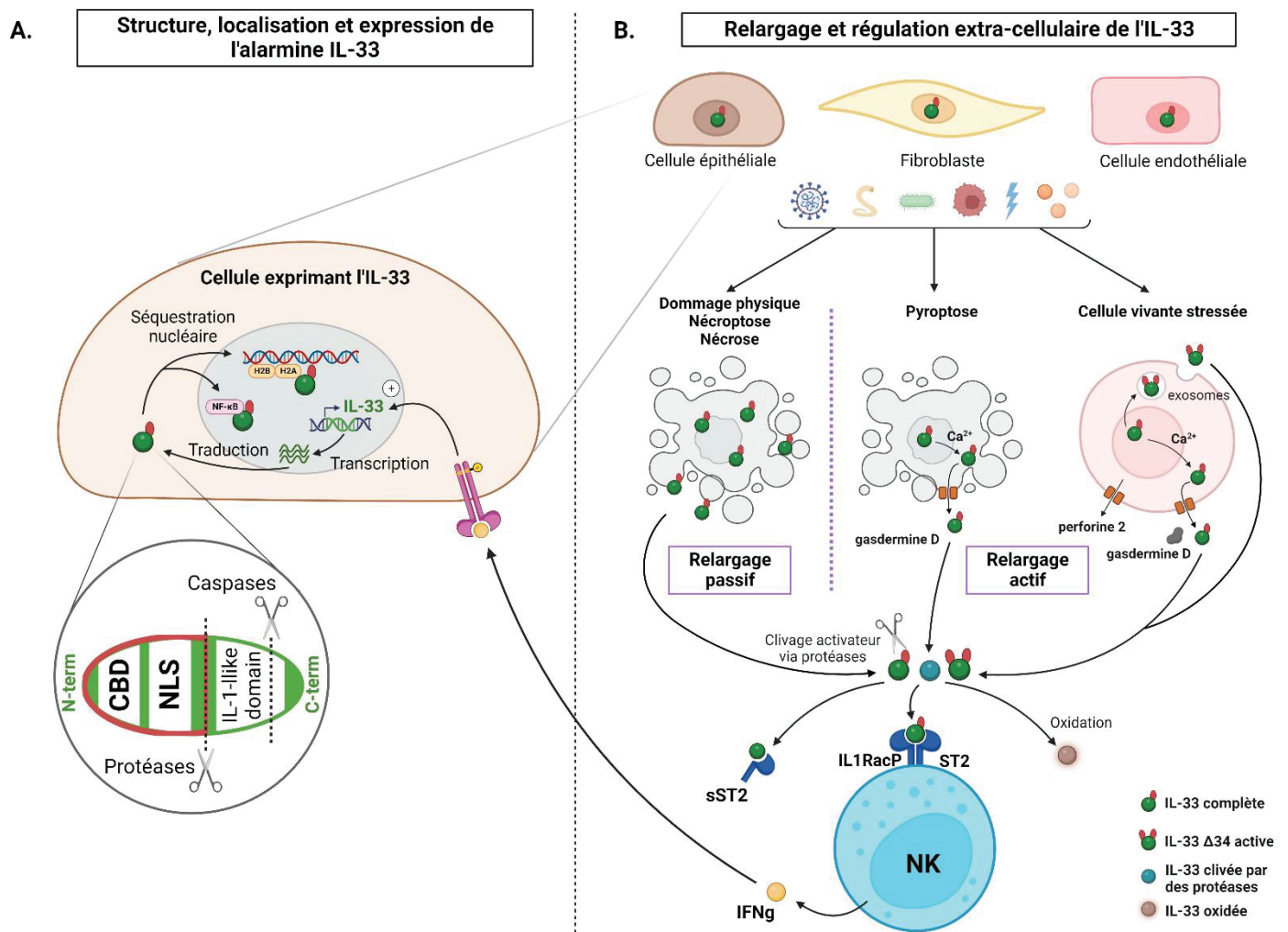
### 1.2.3. Modifications post-traductionnelles et bioactivité de l'IL-33

Comme évoqué précédemment, la forme complète de l'IL-33 et son isoforme IL-33<sup>Δ34</sup> sont fonctionnelles. Néanmoins, l'IL-33 présente différents **sites de clivage par des protéases** permettant des **modifications post-traductionnelles** régulant, positivement comme négativement, son activité biologique (**Figure 13.B**).

Ainsi, l'IL-33 présente différents sites **de clivages par des protéases localisés dans le domaine central**, liant les domaines N- et C-terminaux. Ces sites sont notamment reconnus suite au relargage de l'IL-33 dans la matrice extracellulaire par des protéases exprimées par les neutrophiles (Chymase, Tryptase) et les mastocytes (Elastase, Cathepsin G), lorsque ces derniers sont présents dans l'environnement local, et permettent la genèse de formes matures de l'IL-33 à la **bioactivité significativement augmentée** (Cayrol & Girard, 2018; Lefrançois et al., 2012; Lefrançois et al., 2014; Scott et al., 2018). De façon intéressante, ces maturations protéolytiques ont également été décrites en l'absence de ces cellules immunitaires, démontrant les implications supplémentaires de la calpaïne et plus récemment de la thrombine ou encore des protéases allergènes exogènes (Hayakawa et al., 2009; Huang et al., 2022; Scott et al., 2018).

A l'inverse différents acteurs interviennent dans la régulation négative de l'IL-33. Premièrement, cette alarmine présente également un site de clivage reconnu par les **caspases-1** (impliquée dans l'inflammasome), **-3** et **-7** (impliquées dans l'apoptose) dans son **domaine IL-1-like**, qui pour rappel est nécessaire à son interaction avec ST2 et donc à ses activités biologiques. Cette protéolyse inhibitrice permet ainsi son inactivation lors de l'apoptose, évitant sa libération en contexte physiologique, ainsi que lors de l'activation de l'inflammasome contrairement aux IL-1 $\beta$  et -18 (Cayrol & Girard, 2009; Lüthi et al., 2009; Madouri et al., 2015). En complément, l'IL-33 extracellulaire libre est rapidement **oxydé** au niveau de résidus cystéines, induisant la formation de ponts disulfures et une modification

importante de sa conformation tridimensionnelle (Cohen et al., 2015) ou **neutralisée** par le **variant soluble du récepteur ST2 (sST2)** (Akimoto et al., 2023; Chang et al., 2020; Lipsky et al., 2012), deux processus empêchant son interaction avec son récepteur membranaire. L'expression de sST2 par de nombreuses cellules apparaît d'ailleurs fortement liée aux contextes menant à la sécrétion d'IL-33 décrits précédemment, et est détectable dans le sérum de patients présentant diverses pathologies inflammatoires (Akimoto et al., 2023; Billiar et al., 2019; Chang et al., 2020).



**Figure 13 : Structure, expression, libération et régulation de l'IL-33.**

**(A)** L'IL-33, une alarmine nucléaire : A l'homéostasie, l'IL-33 est constitutivement exprimée dans des cellules non hématopoïétiques (i.e. cellules endothéliales, épithéliales, (myo)fibroblastiques), et peut être surexprimée en cas d'exposition à l'IFNγ. Dès la traduction des ARNm codant l'IL-33, cette dernière est adressée au noyau cellulaire via son domaine NLS pour y être séquestrée. Elle y interagit directement avec les histones (H2A et H2B) grâce à son domaine CBD et peut également interagir avec le facteur de transcription NF-κB. **(B)** L'IL-33 est finement régulée. L'IL-33 nucléaire peut être libérée dans le milieu extracellulaire en réponse à divers stress (i.e. infections diverses, allergène, pression mécanique ou en réponse à des cytokines pro-inflammatoires). Cette libération peut se faire d'une part de façon passive suite à la perte d'intégrité de la membrane plasmique en cas de dommages ou de mort cellulaires (i.e. nécrose, nécroptose) et d'autre part via des processus actifs depuis le noyau vers le cytoplasme (épissage alternatif et processus encore inconnu impliquant du Ca<sup>2+</sup>) et depuis le cytoplasme vers le milieu extracellulaire (exosomes ou via des pores formés par la gasdermin D ou la perforine 2). Une fois dans le milieu extracellulaire, l'IL-33 active peut être clivée par des protéases, permettant d'accroître

sa bioactivité. A l'inverse, son activité peut être limitée via l'oxydation ou la fixation avec le récepteur soluble sST2, mécanismes empêchant la fixation de l'IL-33 sur le récepteur ST2 membranaire. De plus, en cas d'apoptose, l'IL-33 est rendue inactive par clivage par des caspases au niveau de son domaine actif (« IL-1-like domain »). CBD : « Chromatin Binding Domaine », NLS : « Nuclear Localization Signal », N-term : N-terminal, C-term : C-terminal, H2A/H2B : Histones H2A et H2B.

### 1.3. L'expression du récepteur ST2

Comme évoqué précédemment et dans l'**encadré 5**, le couple IL-33/ST2 est spécifique, et à ce jour aucun autre récepteur pour l'IL-33 ou ligand pour ST2 n'a été proposé. De ce fait, un point particulièrement important dans la compréhension des rôles de l'IL-33, entièrement dépendants de ST2, réside dans la compréhension de la **régulation contextuelle** de ce récepteur, qui est différente selon la population cellulaire considérée.

Ainsi, et en accord avec le fait que cette cytokine ait été initialement associée aux réponses immunitaires de type 2, ST2 est **fortement et constitutivement exprimé** par les cellules qui induisent ce type de réponse. Ainsi, ST2 est observé dès l'état basal sur les **basophiles** (Pecaric-Petkovic et al., 2009; Suzukawa, Iikura, et al., 2008), **éosinophiles** (Pecaric-Petkovic et al., 2009; Suzukawa, Koketsu, et al., 2008), **neutrophiles** (Alves-Filho et al., 2010; Jin et al., 2020), **mastocytes** (Enoksson et al., 2011; Morita et al., 2015), **LTh2** (Löhning et al., 1998; Schmitz et al., 2005), certains **LTreg tissulaires** (Arpaia et al., 2015; Schiering et al., 2014; Vasanthakumar et al., 2015) et est considéré comme un marqueur de lignage d'**ILC2** (Ricardo-Gonzalez et al., 2018; von Moltke et al., 2017; Xu et al., 2017). ST2 semble également être exprimé, bien qu'à des niveaux nettement plus faibles, par les **DC** (Park et al., 2017; Rank et al., 2009), **monocytes/macrophages** (Griesenauer & Paczesny, 2017; Kurowska-Stolarska et al., 2009) et **NKT** (Bourgeois et al., 2009). Son expression est néanmoins **régulée** au sein de ces cellules et se trouve augmentée en cas d'activation par exposition à l'IL-3 et à l'IL-33 elle-même pour les basophiles (Pecaric-Petkovic et al., 2009), à l'IL-12 pour les NKT (Bourgeois et al., 2009; Smithgall et al., 2008), l'IL-1 $\beta$  et la rapamycine dans le cas des cDC (Turnquist et al., 2008) et enfin lors d'expositions aux IL-4/IL-13 (Joshi et al., 2010; Kurowska-Stolarska et al., 2009) ou au LPS (Joshi et al., 2010; Ohno et al., 2011) pour les **monocytes/macrophages**.

A l'inverse, il a été décrit que l'expression de ST2 est **inductible et transitoire** dans les populations qui induisent les réponses de type 1, car **dépendante d'activation préalable ou concomitante par des stimuli pro-inflammatoires**. Ainsi, ST2 a été observé à la surface des **LT CD8+** (Bonilla et al., 2012; Marx et al., 2023; Yang et al., 2011), **LTh1** (Baumann et al., 2015), **LTh17** en cas d'infections virales (Baumann et al., 2015), d'activation du TCR (Pascual-Reguant et al., 2017; Yang et al., 2011), d'exposition à l'IL-12 (Baumann et al., 2019; Blom & Poulsen, 2012; Yang et al., 2011) ou de privation de nutriments (Dreis et al., 2019), et plus récemment des **NK** et **ILC1 murins** en contexte d'infections parasitaires ou lors d'exposition à l'IL-12 ou au TNF $\alpha$  (Bourgeois et al., 2009; Clark et al., 2021; Kearley et al., 2015; Qi et al., 2020; Smithgall et al., 2008).

Enfin, bien que l'expression et la régulation de ST2 sur les compartiments non-immunitaire soient moins décrites, les cellules épithéliales, stromales et endothéliales sont elles aussi directement sensibles aux effets de cette alarmine (Aoki et al., 2010; Cao et al., 2018; Choi et al., 2009; Gautier et al., 2016; Maywald et al., 2015; Wang et al., 2022).

Ces observations démontrent ainsi l'**importance du contexte et de l'environnement** pour orienter les effets biologiques médiés par l'IL-33.



## 2. Dualité de l'IL-33 dans la régulation de l'immunosurveillance tumorale

Des rôles intracrines et intranucléaires de l'IL-33 dans la régulation d'expressions géniques, au travers d'interactions avec divers acteurs (i.e. les facteurs de transcription NF- $\kappa$ B (Ali et al., 2011; Lee et al., 2016) et IRF1 (Wang et al., 2023), la kinase FAK (Serrels et al., 2017) ou encore les promoteurs des gènes de l'IL-6, IL-13 et de ST2 (Ni et al., 2015; Shao et al., 2014)), ont été rapportés dans des cellules l'exprimant. Néanmoins, ces observations sont controversées (Cayrol & Girard, 2022; Gautier et al., 2016; Travers et al., 2018). En accord avec nos questions biologiques, nous nous concentrerons ici sur les **effets extracellulaires** de cette cytokine médiés par **l'engagement de son récepteur membranaire ST2** et l'induction des voies de signalisation **MAPK** (p38, JNK, ERK1/2), **NK- $\kappa$ B** et **mTOR** (Dwyer et al., 2022; Salmond et al., 2012) au sein des cellules cibles (**page 44, Figure 5**).

Ainsi, l'IL-33 est présente dans la majorité des types de cancers où elle participe au recrutement, à la survie, à la prolifération et aux activités de nombreuses populations cellulaires aux rôles parfois opposés. Cette pléiotropie participe ainsi à la mise en place d'une **balance dynamique et versatile entre effets pro- et anti-tumoraux conditionnée par les acteurs cellulaires et moléculaires présents au sein du microenvironnement (Figure 14)**.

### 2.1. Expression d'IL-33 dans les tumeurs

L'IL-33 est exprimée constitutivement dans les cellules épithéliales, endothéliales, péricytes et (myo)fibroblastiques au sein du TME (Andersson et al., 2018; L. Chen et al., 2020; S. F. Chen et al., 2013; Cui et al., 2015; Mager et al., 2015; Maywald et al., 2015; Rössle et al., 2016). Les nombreux stress cellulaires et tissulaires subis lors du développement tumoral, tels que la nécrose, les pressions mécaniques et l'inflammation locale, participent à la surexpression et à la libération de l'IL-33 au sein du TME. De ce fait, l'IL-33 est détectée au sein des tumeurs primaires ou des métastases de nombreux cancers, tels que les **cancers gastriques**, du **colon** (Maywald et al., 2015), du **poumon** (Akimoto et al., 2016; M. S. Kim et al., 2015), de la **tête et du cou**, du **sein** (J. Y. Kim et al., 2021; Liu et al., 2014), de l'**ovaire** (Saied & El-Etreby, 2017), de l'**utérus** (Wu & Zhang, 2016), de **foie** (Z. Wang et al., 2023; Yang et al., 2016; Zhang et al., 2012), de la **tête et du cou** (S. F. Chen et al., 2013), ou encore au sein de **mélanomes** (Hatzioannou et al., 2020), avec une expression généralement augmentée par rapport au tissu sain. Les niveaux d'IL-33 semblent également plus élevés dans le sérum de patients atteints par de nombreux cancers, bien que sa fonctionnalité, nécessaire à d'éventuels rôles systémiques, reste inconnue (Hu et al., 2013; M. S. Kim et al., 2015; Liu et al., 2014; Sun et al., 2011; Zeng et al., 2016). De façon intéressante, et malgré une description inverse dans le modèle de tumeurs mammaires 4T1 (Jovanovic et al., 2014), les expressions de l'IL-33 et de ST2 semblent diminuer au cours de la progression tumorale, comme le démontre l'étude de **stades tardifs** de cancer du poumon (Akimoto et al., 2016; M. S. Kim et al., 2015), du foie (Z. Wang et al., 2023; Yang et al., 2016), du colon (Cui et al., 2015; O'Donnell et al., 2015), des intestins (Mertz et al., 2015), de la prostate (Saranchova et al., 2016) ou de l'utérus (L. Wang et al., 2014).

Ces données démontrent ainsi la présence de l'IL-33 dans le TME et suggèrent un rôle dynamique au cours des différents stades de la progression tumorale.

### 2.2. Des fonctions pro- et anti-tumorales de l'IL-33

De par le profil d'expression de ST2 par le paysage cellulaire et immunitaire, l'IL-33 est impliquée dans la régulation fonctionnelle de cellules aussi bien immunosuppressives qu'aux fonctions

pro-inflammatoires. Cette pléiotropie observée dans différents contextes d'infections est également évidente au cours du développement tumoral et complexifie la compréhension de l'axe IL-33/ST2 dont les effets apparaissent comme hautement contextuels. Néanmoins, certains mécanismes essentiels aux fonctions de l'IL-33 ont pu être identifiés.

### 2.2.1. Des fonctions pro-tumorales

De nombreuses études rapportent des effets pro-tumoraux de l'axe IL-33/ST2, aussi bien en agissant directement sur les cellules tumorales en stimulant différentes caractéristiques intrinsèques essentielles à la progression tumorale qu'en permettant la mise en place d'un environnement immunosuppresseur via la stimulation de cellules stromales et immunitaires régulatrices.

#### 2.2.1.a. Impact direct sur les cellules tumorales

L'IL-33 semble promouvoir le **processus de transformation** en stimulant l'expression de gènes oncogéniques tels que SOX9 dans un modèle de cholangio-carcinomes et BRD4 dans le pancréas (Alonso-Curbelo et al., 2021; Yamada et al., 2015). Également, elle stimule la **prolifération** de lignées de cancer du sein et du colon (Kim et al., 2021; Li et al., 2018), ainsi que le **métabolisme glycolytique** des cellules tumorales du modèle de cancers du poumon en induisant la surexpression du transporteur de glucose membranaire **GLUT1** (Wang et al., 2016). Cette alarmine promeut l'expression de métalloprotéases permettant l'**invasion/migration** des cellules cancéreuses colorectales et de gliome (Liu et al., 2014; Zhang et al., 2017), mais également le processus d'**EMT** dans des modèles de cancer de la tête et du cou (Chen et al., 2013) ou encore l'acquisition de **propriétés souches** dans le sein et le côlon (Fang et al., 2017; Hu et al., 2017). En ce sens, des cellules primaires de cancer du côlon préalablement stimulées par IL-33 injectée *in vivo* présentent une croissance tumorale et capacité d'invasion plus importante (Maywald et al., 2015; Mertz et al., 2015; Pastille et al., 2019).

#### 2.2.1.b. Rôles dans la mise en place d'un microenvironnement immunosuppresseur

Au travers de fonctions impliquées dans la réparation tissulaire et la mise en place de réponses de type 2 ou régulatrices, l'IL-33 participe au remodelage du TME vers un profil immunosuppresseur en agissant sur de nombreuses populations régulatrices exprimant constitutivement ST2. Ainsi, l'IL-33 participe directement et indirectement au **recrutement**, à la **prolifération**, à l'**activation** et à la **polarisation vers un profil immunosuppresseur** de ces populations.

Tout d'abord, dans un modèle de cancer gastrique, l'IL-33 stimule l'activation de **mastocytes** et leurs sécrétions de GM-CSF, CCL3 et IL-6 responsables de l'attraction de **macrophages immunosuppresseurs** participant au processus angiogénique et à la croissance tumorale (Eissmann et al., 2019). Ces observations rentrent en cohérence avec le fait qu'au sein du TME, l'IL-33 oriente les macrophages vers un profil immunosuppresseur et stimule leur production de **PGE2** (Fang et al., 2017), d'**Arg1** (Andersson et al., 2018) et de **TGFβ** (Taniguchi et al., 2020). De même, l'IL-33 participe indirectement à la différenciation LT CD4<sup>+</sup> naïfs vers un profil **LTh2** via différents mécanismes, tels que l'inhibition des sécrétions d'IL-12 par les DCs au profit d'IL-6 et IL-10 (Jovanovic et al., 2014; Rank et al., 2009), l'induction des sécrétions d'IL-4 et IL-6 par les **basophiles** (De Monte et al., 2016; Rivellesse et al., 2014; Schneider et al., 2009) et enfin la surexpression de PD-L1 à la surface des ILC2 (Schwartz et al., 2017). L'IL-33 est également importante pour les fonctions immunosuppresseuses médiées par les **LTreg** exprimant ST2. Premièrement, elle promeut le **recrutement** et l'**expansion** des LTreg, aussi bien directement, qu'indirectement (Jevtovic et al., 2020; Son et al., 2020). Cette alarmine apparaît

essentielle pour le maintien des fonctions immunosuppressives médiées par ces cellules, comme le démontre l'étude de modèles déficients en IL-33 ou en ST2, y compris en cas de délétion spécifique au sein des LTreg (Hatzioannou et al., 2020; Li et al., 2019; Pastille et al., 2019; Son et al., 2020). De plus, les productions du facteur de croissance **AREG** par les LTreg ST2+ et les ILC2, stimulent directement la croissance tumorale (Halvorsen et al., 2019). En ce sens, les analyses transcriptomiques, phénotypiques et fonctionnelles des LTreg ST2+ intratumoraux, en comparaison à leurs homologues ST2-, démontrent un **état d'activation** et un **potentiel migratoire** accrus de ces cellules favorisant leur fonction et leur accumulation au sein du TME (Li et al., 2019; Mertz et al., 2015; Pastille et al., 2019). En complément, l'IL-33 supporte indirectement l'expansion et l'activation des populations LTreg en stimulant les sécrétions d'IL-2 (Matta et al., 2014). Dans cette même logique, l'IL-33 est également associée au recrutement de **MDSC** productrices de **TGFβ** (Jovanovic et al., 2014).

Ainsi, le recrutement et l'activation de ces différentes populations immunosuppressives se traduit par une **inhibition corollaire de populations aux fonctions anti-tumorales**. De ce fait, la délétion génétique de ST2 spécifiquement au sein de LTreg permet une infiltration augmentée de LT CD8+ et une diminution de la croissance tumorale (Li et al., 2019), avec la mise en place de processus inverses en cas de traitement par IL-33 exogène (Jevtovic et al., 2020). Parallèlement, et de façon surprenante au vu de résultats que nous discuterons dans le paragraphe suivant, l'activation des **ILC2** par l'IL-33 mène à une inhibition des fonctions de sécrétions et de cytotoxicité des NK, via l'expression de l'enzyme **CD73** (Long et al., 2018) mais également par l'intermédiaire des **éosinophiles** (Schuijs et al., 2020). En complément, les NK présentent des fonctions antitumorales plus importantes dans des souris déficientes pour ST2 (Jovanovic et al., 2014), tout comme les souris déficientes en IL-33 présentent une infiltration intratumorale de LT CD4+ et CD8+ augmentée (Hatzioannou et al., 2020).

Par ailleurs, ces cellules immunosuppressives régulent également les cellules stromales et endothéliales sous l'action de l'IL-33, en faveur du développement tumoral. Ainsi, les MDSC, macrophages, LTreg ainsi que les **CAF** sont également des sources importantes de **VEGF** en réponse à l'IL-33, favorisant la néo-angiogenèse (Jovanovic et al., 2014; Milosavljevic et al., 2016; Yang et al., 2016; Zhang et al., 2017). En lien avec cette observation, la présence d'IL-33 dans les tumeurs a été associée à une augmentation du nombre de micro-vaisseaux sanguins et lymphatiques (Cui et al., 2015). Par ailleurs, l'IL-33 induit la sécrétion de **CXCL3** par les macrophages immunosuppressifs, stimulant les fonctions pro-tumorales des CAF (Sun et al., 2022), mais également l'expression de **métalloprotéases** par ces deux types cellulaires, renforçant les capacités de migration et d'invasivité des cellules tumorales (Andersson et al., 2018; Ariyoshi et al., 2017).

### 2.2.2. Un acteur à part entière de l'immunosurveillance anti-tumorale

A l'inverse des résultats précédents, la croissance tumorale est accélérée dans des souris déficientes en IL-33 par rapport aux souris contrôles, suggérant un **rôle anti-tumoral de l'IL-33** dans certains contextes (Malik et al., 2016; Moral et al., 2020). En ce sens, de nombreuses études démontrent une implication de l'IL-33 dans l'immunosurveillance anti-tumorale via le recrutement et l'activation de populations immunitaires (**Figure 14**).

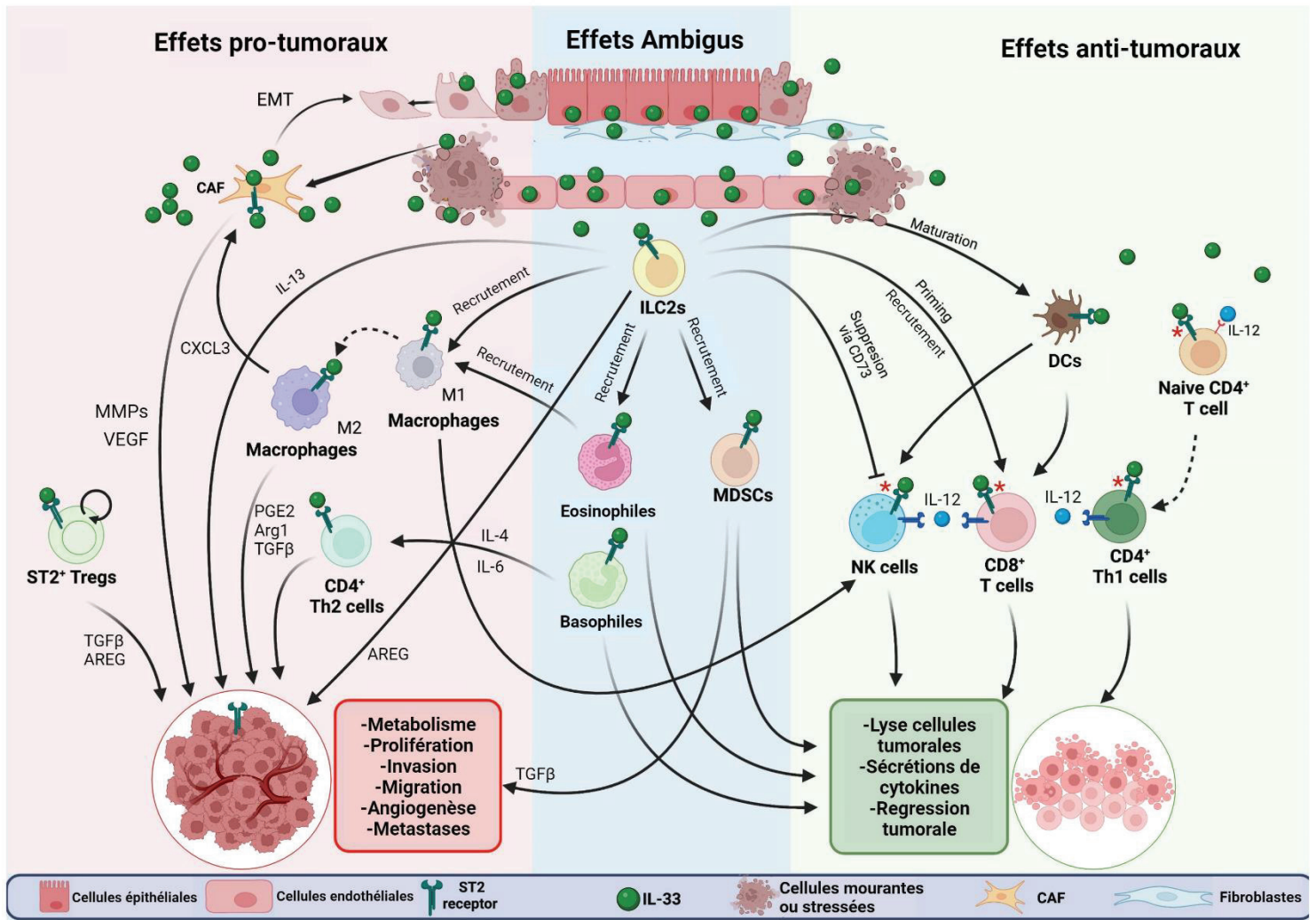
Tout d'abord, l'IL-33 participe à l'**accumulation** et à l'**activation** des différentes populations de **lymphocytes cytotoxiques**. Premièrement, différentes études rapportent l'importance de l'IL-33 endogène dans les sécrétions d'IFN $\gamma$  par les **LT CD4+** et **CD8+** au sein de modèles de cancers du côlon et du foie (Jin et al., 2018a; Xia et al., 2019). Les modèles de surexpression, ou d'injection d'IL-33 exogène, confirment ces observations avec la mise en place de réponses anti-tumorales effectives médiées par le recrutement et l'activation des **LT CD8+**, **LT CD4+** et des **NK** dans des modèles de

mélanome, de cancer du sein, de poumons et de foie (K. Gao et al., 2013; X. Gao et al., 2015; Jin et al., 2018b; Kallert et al., 2017; Qi et al., 2020; Song et al., 2023; Xu et al., 2020). Dans ces contextes, l'IL-33 participe également à la **maturation des DCs** et à l'induction de **leur dialogue avec les NK et LT CD8+ *in vivo*** menant à l'activation de ces dernières (Dominguez et al., 2017; Qin et al., 2016; Xu et al., 2020), bien qu'il ne soit pas démontré que cet effet soit direct. En lien avec ce dernier point, la présence d'IL-12, notamment sécrétée par les DCs, semble être un facteur déterminant pour permettre à l'IL-33 de stimuler les lymphocytes cytotoxiques de façon optimale, comme le suggère différentes observations récentes réalisées en contexte d'infections virales ou parasitaires (Baumann et al., 2019; Clark et al., 2021; Marx et al., 2023). Ainsi, malgré son implication indirecte dans l'induction du profil LTh2, l'IL-33 participe également directement à la différenciation des LT CD4+ naïfs en **LTh1**, de façon dépendante de l'IL-12 (Komai-Koma et al., 2016). De façon intéressante, l'utilisation de virus génétiquement modifiés infectant les cellules stromales exprimant l'IL-33 et permettant la délivrance intratumorale d'antigènes tumoraux pour l'induction de LT spécifiques, a démontré un effet thérapeutique important dépendant de cette alarmine (Kallert et al., 2017). En support de ces données, l'utilisation de l'IL-33 en tant qu'adjuvant d'un vaccin antitumoral stimule la production d'IFN $\gamma$  et de TNF $\alpha$  par les LT CD4+, ainsi que les fonctions cytotoxiques de LT CD8+, responsables d'une régression tumorale rapide et complète *in vivo* (Villarreal et al., 2014).

Les **ILC2** et **éosinophiles** participent positivement également aux réponses anti-tumorales médiées par l'IL-33. Premièrement, l'IL-33 endogène est nécessaire à l'infiltration intratumorale d'ILC2 qui à leur tour participent au recrutement et à l'activation de **DC** et **LT CD8+** dans des modèles de cancers du pancréas et du côlon, permettant de diminuer la croissance tumorale (L. Chen et al., 2020; Moral et al., 2020; Wan et al., 2021). De plus, l'IL-33 permet la mise en place d'une réaction en chaîne en stimulant les sécrétions d'IL-5 par les ILC2 qui participent au recrutement intratumoral des éosinophiles, assurant à leur tour des fonctions antitumorales en réponse à l'IL-33 (Ikutani et al., 2012; Johansson et al., 2018; Qi et al., 2020; Wagner et al., 2020). Dans de tels contextes, les éosinophiles présentent une meilleure survie et exercent aussi bien une cytotoxicité directe envers les cellules tumorales, qu'un rôle de support envers les lymphocytes cytotoxiques via la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, comme le démontrent des observations réalisées à partir de modèles de cancer de poumon, de foie, de sein, de côlon et de mélanome (Andreone et al., 2019; Blomberg et al., 2023; Hollande et al., 2019; Kienzl et al., 2020; Lucarini et al., 2017). De façon intéressante, cet axe IL-33/ILC2/Eosinophiles permet également de recruter les NK au sein de la tumeur via la production de CCL5, et dont les fonctions antitumorales sont également stimulées par l'IL-33 (Qi et al., 2020).

Ces données, parfois contradictoires, illustrent le rôle duel de l'IL-33 sur la régulation de la réponse immunitaire en contexte tumoral, conséquence directe des fonctions pléiotropes de l'IL-33. Cette complexité est également observable dans l'impact pronostique de l'IL-33 : son expression est corrélée à un mauvais pronostic dans les cancers de la tête et du cou, de l'utérus, de l'ovaire et du côlon (S. F. Chen et al., 2013; Fang et al., 2017; Tong et al., 2016; Wu & Zhang, 2016), mais est de bon pronostic dans le cancer du pancréas, de la prostate, du rein, du foie et des glandes salivaires (Moral et al., 2020; Rössle et al., 2016; Saranchova et al., 2016).

Pour concilier ces résultats, il semble fort probable que l'IL-33 assure des fonctions différentes, voire opposées, **en fonction du tissu dans lequel la tumeur évolue, des populations et cytokines (pro-inflammatoires vs immunosuppressives) présentes dans le microenvironnement tumoral lors de sa libération mais également en fonction du stade tumoral, précoce ou avancé.**



**Figure 14 : Rôles anti- et pro-tumoraux de l'IL-33 en contexte de cancer** (adaptée de (Yeoh et al., 2022)).

L'IL-33 est exprimée par les cellules endothéliales, épithéliales et (myo)fibroblastiques intratumorales. De nombreuses populations cellulaires expriment ST2, conférant un caractère pléiotrope à l'IL-33 et lui permettant de réguler la tumorigenèse par de multiples mécanismes. Ainsi, elle peut promouvoir la croissance tumorale en agissant directement sur les cellules cancéreuses pour favoriser leur métabolisme, migration, prolifération et phénotype de cellule souche. Elle agit également sur les cellules stromales telles que les (myo)fibroblastes pour induire la sécrétion de MMPs et de VEGF, favorisant la migration des cellules tumorales ou l'angiogenèse, respectivement. Enfin, elles régulent l'activité de cellules immunitaires immunosuppressives (macrophages protumoraux, LTregs, MDSC, neutrophiles) aux fonctions pro-tumorales ainsi que celle de populations immunitaires de type-1 (LTh1, LT CD8<sup>+</sup>, NK) responsables de réponses immunitaires anti-tumorales. Enfin, elle régule également l'activité des basophiles, ILC2 et éosinophiles, dont les rôles dans l'immunosurveillance sont plus ambigus. MMPs : métalloprotéases. EMT : Transition épithélio-méenchymateuse. \* : Expression de ST2 induite et transitoire.

### 3. L'IL-33, un candidat pour des stratégies thérapeutiques anti-tumorales ?

Comme nous l'avons évoqué, les cytokines font partie intégrante de l'arsenal thérapeutique dans la lutte contre les cancers, soit déjà en clinique soit en phase de développement. Ces dernières peuvent être utilisées directement sous leur forme naturelle ou sous forme de protéines fusions afin d'en améliorer les propriétés ou de biaiser leur adressage vers un sous-type cellulaire d'intérêt (Bi-KE, Tri-Ke, molécules tétra-spécifiques). Enfin, les cytokines peuvent être utilisées dans le cadre de thérapies cellulaires pour optimiser les protocoles d'**expansion**, de **pré-activation (NK-CIML) *ex vivo*** ou encore lors de modifications génétiques pour permettre l'expression de la cytokine, ou de son récepteur, par les lymphocytes cytotoxiques directement.

A ce jour, l'IL-33 n'a jamais été utilisée en clinique dans le cadre de traitements anti-cancers. En effet, les effets pléiotropes de l'IL-33 présentés précédemment rendent complexe l'interprétation des données précliniques évaluant son potentiel thérapeutique et ont pendant longtemps limité l'émergence d'un rationnel fort pour l'utilisation de cette molécule en clinique. Néanmoins, une littérature émergente tend à identifier certains contextes dans lesquels l'utilisation de l'IL-33 pourrait constituer une approche intéressante pour **favoriser les réponses immunitaires anti-inflammatoires médiées par les lymphocytes cytotoxiques**. En ce sens, différentes études démontrent que l'IL-33 renforce significativement les effets de thérapies connues pour moduler le microenvironnement.

Une première étude préclinique a démontré un intérêt de l'IL-33 en tant qu'adjuvant dans des stratégies de vaccination anti-virale (Villarreal et al., 2014). Plus récemment, il a été démontré que l'injection d'**IL-33 exogène potentialise les effets anti-tumoraux des ICB** anti-CTLA-4 ou ciblant l'axe PD-1/PD-L1 dans des modèles de leucémie (Qin et al., 2016), de mélanome (He et al., 2021), de cancer du sein (Blomberg et al., 2023), du pancréas (Moral et al., 2020) et du côlon (Chen et al., 2020), jusqu'à atteindre des rémissions complètes dans certains cas. Ces thérapies induisent également une **surexpression de l'IL-33 au sein du TME** (Chen et al., 2020), ce qui apparait particulièrement intéressant puisqu'au-delà d'effets additifs de l'IL-33 exogène, certaines études ont démontré que **l'IL-33 endogène est requise pour une réponse optimale aux ICB** (Blomberg et al., 2023; Chen et al., 2020). Par ailleurs, une étude récente rapporte un rôle majeur de l'IL-33 endogène dans la mise en place de réponses immunitaires anti-tumorales au sein de patients traités par **5-fluorouracil**, allant jusqu'à proposer l'expression de l'IL-33 comme un biomarqueur de réponse à cette thérapie (Song et al., 2023). Des résultats similaires ont été rapportés dans le cadre de patients traités par l'anticorps **Cetuximab** (Zhang et al., 2021).

Différents éléments tendent à positionner l'IL-33 comme un candidat pertinent dans le cadre de thérapies cellulaires. Premièrement, le transfert adoptif de **LT modifiés génétiquement pour coexprimer l'IL-33** et l'IL-2 permet la mise en place de réponses immunitaires anti-tumorales prometteuses dans différents modèles précliniques (Brog et al., 2022; Corria-Osorio et al., 2023). Par ailleurs, l'utilisation de l'IL-33 *ex vivo* permettrait de s'affranchir de ses potentiels effets délétères sur les cellules immunosuppressives. En ce sens, l'IL-33 s'avère être un agent prometteur dans le cadre de protocole d'expansion de LT  $\gamma\delta$  *ex vivo* (Duault et al., 2017), bien que des études similaires sur d'autres populations de lymphocytes cytotoxiques restent manquantes. Enfin, bien qu'aucune donnée en ce sens n'ait encore été rapportée, la proximité des effets médiés par l'IL-18 et l'IL-33 sur les NK nous amène à penser que cette dernière pourrait constituer un candidat potentiel pour la genèse de **NK CIML** (page 61).

## II. L'Interleukine-35 (IL-35), un puissant agent immunosuppresseur

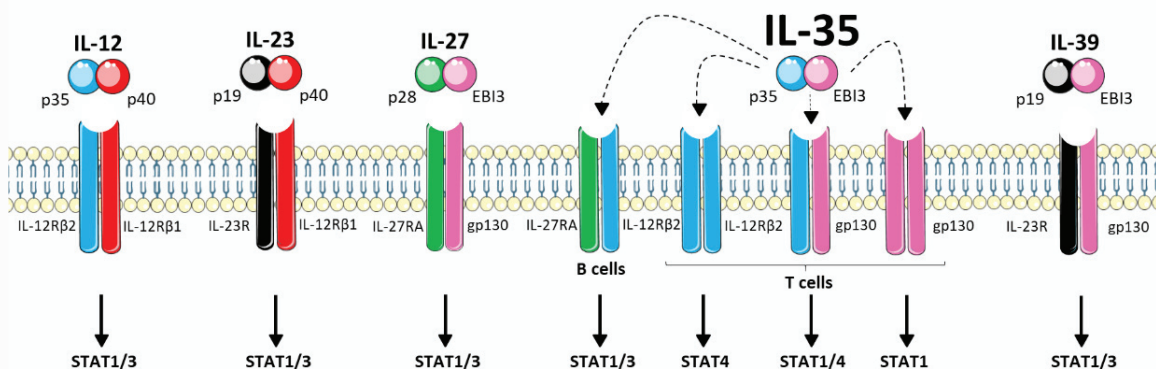
L'IL-35 appartient à la famille de l'IL-12, un groupe de cytokines hétérodimériques partageant certaines similitudes structurales, présentées dans l'**encadré 6**. Historiquement, la sous-unité **EBI3** (Epstein-Barr virus-induced gene 3) a été découverte en 1996, ouvrant la porte à de nouveaux axes de recherche (Devergne et al., 1996). L'année suivante, l'étude de modèles cellulaires surexprimant cette dernière a permis l'identification d'un nouveau complexe protéique soluble, composé d'**EBI3** et de la sous-unité **p35**, qualifié de « probable immunorégulateur » (Devergne et al., 1997). Ce n'est que 10 ans plus tard que les premières descriptions fonctionnelles de ce complexe, désigné comme **IL-35**, ont été réalisées en démontrant son importance dans les fonctions immunosuppressives des LTreg (Collison et al., 2007). Depuis, notre compréhension des propriétés de ce facteur mais également de son implication dans les processus physiopathologiques s'est étendue, avec des descriptions dans le cadre de **pathologies auto-immunes, inflammatoires et allergiques** ou encore dans de nombreux **cancers**, au travers de **fonctions invariablement immunosuppressives**.

Au cours de nos travaux, nous nous sommes intéressés aux effets de l'IL-35 sur les **NK humaines primaires**, dans une démarche de **découverte** et de **compréhension de l'axe IL-35/NK, indépendamment de tout contexte pathologique**, bien qu'à terme cet axe puisse s'avérer intéressant en contexte tumoral.

### Encadré 6 : L'IL-35, membre de la famille des IL-12

La famille de l'IL-12 est composée des **cytokines hétérodimériques IL-12, IL-23, IL-27, IL-35 et IL-39** résultant des différentes combinaisons possibles entre les **sous-unités  $\alpha$  p19, p28 et p35** et **sous-unités  $\beta$  p40 et EBI3**, illustrées ci-dessous. Ces cytokines sont des acteurs majeurs de la régulation des réponses immunitaires et, malgré leurs similitudes structurales, assurent des rôles différents médiés par l'engagement de leurs **récepteurs spécifiques** et l'induction des **voies de signalisation JAK-STAT**, via la phosphorylation (**pSTAT**) des **STAT1/3/4**, selon le couple cytokine/récepteur considéré. L'IL-35 murine présente la singularité d'exercer ses fonctions biologiques au travers de quatre récepteurs différents. L'IL-12 et l'IL-35 présentent respectivement des rôles **pro-** et **anti-inflammatoires** clairs, tandis que les effets de l'IL-23 et -27 semblent plus ambigus et dépendants du contexte. De par l'implication de la sous-unité gp130 dans les récepteurs des IL-27, IL-35 et IL-39, ces dernières sont également considérées comme des membres de la superfamille de l'IL-6.

Par ailleurs, d'autres structures cytokiniques apparentées ont pu être étudiées, telles que le monomère p28 (IL-30) et homodimères p40/p40, antagonistes des récepteurs gp130/gp130 et IL-12R $\beta$ 1/IL-12R $\beta$ 2 respectivement, ou encore l'hétérodimère p28/p40 (IL-Y), néanmoins les effets biologiques de ces dernières sont moins décrits et méritent davantage d'investigations.



Les effets activateurs des **IL-12, -23 et -27** sur les NK ont été décrits au cours de la **page 43**, tandis que l'implication des **IL-35 et -39** dans la biologie des NK primaires humaines reste inconnue.

## 1. Structure, récepteurs et voies de signalisation

L'IL-35 est un complexe protéique formé de la **sous-unité  $\alpha$  p35**, partagée avec l'IL-12, et de la **sous-unité  $\beta$  EB13**, partagée avec l'IL-27 et l'IL-39 (Ye et al., 2021). Contrairement à la sous-unité  $\beta$  p40, EB13 ne forme pas de ponts disulfures avec la sous-unité  $\alpha$  avec laquelle il s'associe, générant des complexes protéiques (i.e. IL-27 et IL-35) comparativement moins stables dans le milieu extracellulaire que l'IL-12 et -23 (Lupardus & Garcia, 2008; Reitberger et al., 2017; Ye et al., 2021).

Le chevauchement structurel observé entre les membres de la famille de l'IL-12 est également observé au sein des récepteurs avec lesquels ils interagissent. Ainsi, de façon atypique, l'**IL-35 murine** a été décrite pour interagir avec **plusieurs récepteurs dimériques différents** composés des **sous-unités IL-12R $\beta$ 2** partagée avec le récepteur de l'IL-12 et de l'IL-23, **gp130** partagée avec les récepteurs de l'IL-27 et -39 (mais également avec de nombreux membres de la famille de l'IL-6), et enfin de la sous-unité **IL-27R $\alpha$**  également impliquée dans la structure du récepteur à l'IL-27 (Hasegawa et al., 2016; Kang et al., 2020). A ce jour, trois récepteurs à l'IL-35 ont été décrits à la surface des **LT murins**, à savoir les **homodimères IL-12R $\beta$ 2/IL-12R $\beta$ 2** et **gp130/gp130** ainsi que l'**hétérodimère IL-12R $\beta$ 2/gp130**, respectivement responsables de la formation et de l'activation des complexes **pSTAT4/pSTAT4**, **pSTAT1/pSTAT1** et **pSTAT4/pSTAT1** (Collison et al., 2012; Ye et al., 2021). Ainsi, bien que l'ensemble de ces récepteurs soit fonctionnel, il apparaît que l'engagement de l'axe **IL-12R $\beta$ 2/gp130/pSTAT1/pSTAT4** permet à l'IL-35 murine d'assurer des fonctions immunosuppressives maximales sur les LT (Collison et al., 2012). Par ailleurs, un quatrième récepteur **IL-12R $\beta$ 2/IL-27R $\alpha$**  exprimé par les **LB** et responsable de la phosphorylation et de l'hétérodimérisation de **pSTAT1/pSTAT3** [4], [10] a été rapporté. Certains aspects relatifs à l'expression des récepteurs de l'IL-35 restent néanmoins inconnus. Premièrement, l'affinité de l'IL-35 pour ses différents récepteurs n'est, à ce jour, pas décrite. Par ailleurs, malgré des effets biologiques démontrés, l'expression des récepteurs et voies de signalisation induites par l'IL-35 au sein de cellules humaines n'ont été abordés qu'en de rares occasions. De façon intéressante, des effets médiés par la voie de signalisation **pSTAT1/pSTAT3**, indépendamment de pSTAT4, ont été rapportés au sein de **LT humains**, suggérant un certain degré de variabilité dans les récepteurs et/ou voies de signalisation engagés inter-espèce (Liu et al., 2019; Ma et al., 2016). De même, les récepteurs exprimés à la surface d'autres types cellulaires répondant à l'IL-35 restent à ce jour inconnus. Enfin, bien qu'une surexpression d'IL-12R $\beta$ 2 au sein de lymphocytes/DC activés (Presky et al., 1996; Szabo et al., 1997; Wu et al., n.d.) ou de cellules cancéreuses en contexte inflammatoire (Lee et al., 2018) soit démontrée, une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents à l'expression et à l'éventuelle régulation des récepteurs de l'IL-35 serait d'intérêt.

## 2. Sources cellulaires et contexte d'expression de l'IL-35

L'IL-35 est sécrétée par les **voies de sécrétions classiques** impliquant le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi (Egwuagu et al., 2015; Ye et al., 2021). Plus récemment, il a été démontré que cette dernière pouvait également être libérée dans l'environnement extracellulaire au sein de **vésicules extracellulaires** (Sullivan et al., 2020).

A l'inverse des autres membres de l'IL-12 produite principalement par les **CPAg activées** (i.e. **cDCs, monocytes/macrophages, LB**) (Bluman et al., 1996; Chace et al., 1997; Gerosa et al., 2008; Verreck et al., 2004; Vignali & Kuchroo, 2012; Yoshida et al., 1994), l'IL-35 présente la particularité d'être produite par un spectre plus large de populations immunitaires, y compris lymphoïdes. Initialement, l'IL-35 a été décrite comme une cytokine produite par les **LTreg** et par les **iTr35** (« IL-35-producing induced



regulatory T cell ») (Collison et al., 2007, 2010, 2012), puis par les **plasmocytes/LBreg/iBreg** (Li et al., 2022; Shen et al., 2014; K. Wang et al., 2018; R. X. Wang et al., 2014). De façon intéressante, ces populations sont distinctes de celles sécrétant de l'IL-10 (Sawant et al., 2019; Shen et al., 2014; Wei et al., 2017). Depuis, la liste des cellules présentant le potentiel d'exprimer l'IL-35 s'est allongée avec des descriptions concernant les **macrophages immunosuppresseurs** (Lee et al., 2018), les **toIDC** (Dixon et al., 2015; Zheng et al., 2020), les **LTreg CD8+** (Olson et al., 2012), les **granulocytes** (Dwyer et al., 2023), les **trophoblastes** (Devergne et al., 2001; J. Liu et al., 2019; Lombardelli et al., 2022; Mao et al., 2013) ou encore, de façon surprenante, les **cellules cancéreuses** (Hao et al., 2018; Huang et al., 2017; Nicholl et al., 2014).

Bien que les signaux et contextes précis induisant l'expression de l'IL-35 ne soient pas encore entièrement élucidés, l'expression de cette dernière semble **induite et dépendante de signaux extérieurs** (Bardel et al., 2008). Dans le cas des **LTreg murins**, la sécrétion de l'IL-35 est sous le contrôle du facteur de transcription **FOXP3** et semble optimale en cas d'engagement du **TCR** (Collison et al., 2007; Gavin et al., 2007; Wei et al., 2017). Les **contacts physiques entre LT effecteurs et LTreg** renforcent cette sécrétion, suggérant l'implication d'autres molécules de surface dans le processus (Collison et al., 2009). De plus, l'**IL-33** a récemment été identifiée comme un signal inducteur de l'expression d'EBI3 et de p35 au sein des LTreg ST2+ pulmonaires (Faustino et al., 2020). Les **plasmocytes/LBreg** et **toIDC** quant à eux, voient leur expression d'IL-35 induite en cas de stimulations simultanées du récepteur **CD40** et des **TLR2** ou **TLR4** (Dixon et al., 2015; Li et al., 2022; X. Liu et al., 2018; Shen et al., 2014). De plus, cette expression peut être significativement augmentée au sein des **plasmocytes/LBreg** lors d'engagement du **BCR** ou encore en cas d'exposition à des **agonistes de la voie STING**, de façon IRF3-dépendante (Li et al., 2022). Les signaux responsables de la sécrétion de l'IL-35 par d'autres types cellulaires ne sont pas connus. De plus, l'IL-35 présente la particularité d'induire sa propre expression, permettant la mise en place de boucles de rétrocontrôle positif. Ainsi, au travers de mécanismes décrits au sein du prochain paragraphe, certains **LT et LB exposés à l'IL-35** acquièrent des caractéristiques régulatrices et la capacité d'eux-mêmes sécréter cette dernière (Collison et al., 2010, 2012; Ma et al., 2016; R. X. Wang et al., 2014) (**Figure 15**).

### 3. Fonctions biologiques et retombées physiopathologiques de l'IL-35

Outre sa découverte relativement récente limitant le développement de certains outils d'analyse, en particulier chez l'homme, le caractère dimérique de l'IL-35 ainsi que de ses récepteurs (dont les sous-unités sont codées par des gènes différents) doublé du fait que ces sous-unités soient partagées avec les autres membres de la famille de l'IL-12, aux rôles parfois diamétralement opposés, complexifie l'étude de cette molécule et oblige à une vigilance accrue pour l'interprétation de certains résultats. Ainsi, il est parfois difficile d'exclure définitivement une implication des cytokines IL-12, IL-27 ou IL-39 lors d'approches bio-informatiques ou d'utilisation de modèles murins présentant une délétion constitutive des gènes *Ebi3* ou *Il12a* (p35). Néanmoins, ces approches complétées par les **études *in vitro* et *in vivo* utilisant de l'IL-35 recombinante** et des **modèles cellulaires surexprimant cette dernière**, ou à l'inverse via l'utilisation d'**anticorps neutralisants** et de modèles présentant des **délétions constitutives ou spécifiques au sein de cellules d'intérêt** permettent une meilleure compréhension de l'ensemble des fonctions biologiques de l'IL-35, et de leurs implications au cours de nombreux processus physiopathologiques.

### 3.1. Emergence d'un nouvel agent immunosuppresseur

A l'inverse d'autres cytokines de la famille de l'IL-12, l'IL-35 présente des fonctions biologiques **invariablement immunosuppressives**, tout contexte confondu, sur l'ensemble des cellules qui y sont sensibles, aussi bien chez l'homme que chez la souris (**Figure 15**).

L'ensemble des modèles présentés en introduction de ce paragraphe ont permis de mettre en évidence que les effets immunosuppresseurs de l'IL-35 sont principalement médiés par les signalisations induites lors de l'engagement de ses récepteurs. Toutefois, il a été récemment montré que l'IL-35 entre en **compétition avec l'IL-12**, limitant la fixation de cette dernière à l'IL-12R $\beta$ 2, et donc l'induction de voies de signalisation pro-inflammatoires (Mahfooz et al., 2023). A ce jour, aucune compétition avec les cytokines signalisant via gp130 n'a été décrite.

Premièrement, l'IL-35 **inhibe des réponses immunitaires de type 1** en agissant directement sur les populations immunitaires qui en sont responsables, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Ainsi, l'IL-35 **inhibe la prolifération** les LTh CD4+CD25- (Collison et al., 2007, 2010; Hao et al., 2018; Ma et al., 2016; Osuna-Gómez et al., 2023; Shen et al., 2014), des **LT CD8+** (Bettini et al., 2012; Turnis et al., 2016), des **LT  $\gamma\delta$**  (Ren et al., 2023) et des **LB non régulateurs** (Wang et al., 2014). L'IL-35 agit également sur les fonctions effectrices de ces lymphocytes en **inhibant les sécrétions d'IFN $\gamma$**  par les LT CD4+CD25-, LT CD8+ (Hao et al., 2018; Shen et al., 2014; Turnis et al., 2016; Wang et al., 2014; Wei et al., 2017), de **TNF $\alpha$**  par les LT CD4+ et CD8+ (Li et al., 2022; Turnis et al., 2016), d'**IL-17** par les LT CD4+CD25- et LT  $\gamma\delta$  (Faustino et al., 2020; Hao et al., 2018; Niedbala et al., 2007; Shen et al., 2014; Wang et al., 2014; Wei et al., 2017), de **GM-CSF** par les LT CD4+CD25- (Shen et al., 2014) ou encore d'IL-18 par les **NKB** (S. Liu et al., 2021). Dans cette même logique, les **capacités cytotoxiques** des LT CD8+ et  $\gamma\delta$  sont diminuées en cas d'exposition à l'IL-35 (Li et al., 2022; Ren et al., 2023; X. Shao et al., 2017; Yang et al., 2022). En accord avec ces observations, l'IL-35 promeut l'**exhaustion des LT CD8+ et  $\gamma\delta$** , comme le démontre la surexpression de **PD-1**, **LAG3** et **TIM3** à leur surface (Ren et al., 2023; Sawant et al., 2019; Sullivan et al., 2020; Turnis et al., 2016; Yang et al., 2022). En complément, une étude récente rapporte une augmentation de la prolifération, des capacités de sécrétions (i.e. IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) et de l'expression de granzyme B par les **NK murins** issues de souris présentant une ablation génétique de l'IL-35 ou lors de sa neutralisation par anticorps (Li et al., 2022). Enfin, bien que distinctes, les populations de LT sécrétrices d'IL-35 collaborent avec celles responsables des sécrétions d'IL-10 afin d'inhiber de façon optimale les réponses inflammatoires, et les différentes caractéristiques décrites ci-dessus (Sawant et al., 2019; Wei et al., 2017).

Deuxièmement, l'IL-35 induit la **conversion de populations au potentiel pro-inflammatoire en population immunosuppressives**, renforçant significativement les effets décrits précédemment. Ainsi, l'IL-35 régule fortement les processus de différenciation et la plasticité des LTh conv CD4+CD25- aussi bien humains que murins. Lorsqu'exposées à l'IL-35, ces cellules voient leurs différenciations en LTh1 et LTh17 fortement inhibées (Y. Liu et al., 2014; Niedbala et al., 2007; Yan et al., 2022) en faveur d'une conversion phénotypique et fonctionnelle en cellules **iTr35** immunosuppressives (Collison et al., 2010, 2012; Hao et al., 2018; J. Liu et al., 2019; Ma et al., 2016). Chez la souris, cette conversion est dépendante de pSTAT1/pSTAT4 tandis que chez l'homme elle semble médiée par l'hétérodimère pSTAT1/pSTAT3 (Collison et al., 2010; Hao et al., 2018; J. Liu et al., 2019; Ma et al., 2016). Un processus similaire est mis en place au sein des **plasmocytes/LB murins** via la fixation du récepteur **IL-12R $\beta$ 2/IL-27R $\alpha$**  et l'induction consécutive de la voie pSTAT1/pSTAT3, permettant leur **conversion vers un profil régulateur**. De façon intéressante, la fixation des régions promotrices des gènes *Ebi3* et *I12a* par les pSTAT induit l'expression d'IL-35 au sein de ces cellules, renforçant le phénomène de conversion ainsi que leurs fonctions immunosuppressives nouvellement acquises (Collison et al., 2012; Wang et al.,

2014). En complément, l'IL-35 participe à la polarisation des **DCs en tolDC**, elles-mêmes sources d'IL-35 (Dixon et al., 2015; Haller et al., 2017; X. Liu et al., 2018), ou encore des **monocytes/macrophages** et des **neutrophiles** vers des phénotypes immunosuppresseurs de type **M2** et **N2**, respectivement (He et al., 2021; Luo et al., 2022; Zou et al., 2017).

Enfin, l'IL-35 stimule directement l'**expansion** et les **fonctions immunosuppressives des populations régulatrices**, naturelles et nouvellement converties, entérinant l'ensemble du processus permettant la mise en place d'une tolérance immunitaire. Ainsi, l'IL-35 stimule l'expansion des LTreg et LBreg (Li et al., 2022; Wang et al., 2014) tout en permettant aux différentes populations décrites jusqu'alors d'atteindre le **plein potentiel immunosuppresseur**, via des effets aussi bien autocrines que paracrines, comme le démontre l'augmentation de la prolifération des LTreg suite au transfert adoptif de LBreg préalablement exposés à l'IL-35 (Bettini et al., 2012; Collison et al., 2007, 2010; Dixon et al., 2015; Li et al., 2022; Y. Shao et al., 2021).

Ces processus permettent ainsi la mise en place de boucles de **rétrocontrôle positif autocrines et paracrines**, mais également la mise en place de **collaborations inter-populations immunosuppressives** renforçant la tolérance immunitaire globale de l'ensemble de l'écosystème immunitaire.

## 3.2. Implication de l'IL-35 dans de nombreux contextes physiopathologiques

De par la variété des populations cellulaires sécrétant l'IL-35 et au travers de l'ensemble des fonctions immunosuppressives décrites ci-dessus, cette cytokine est impliquée dans de nombreux processus physiopathologiques. En effet, l'IL-35 joue un rôle important dans le maintien d'une tolérance immunitaire nécessaire au bon déroulement de la **grossesse** ou permettant d'éviter le développement de **pathologies auto-immunes et inflammatoires**. De ce fait, une diminution de son expression a été associée à l'émergence et/ou l'aggravation de nombreuses pathologies induites par la trop forte activité de populations immunitaires effectrices. A l'inverse, les fonctions immunosuppressives de cette cytokine apparaissent délétères dans le cadre d'**infections** ou de **cancers**. A ce jour, malgré de nombreuses études précliniques, les observations réalisées chez l'homme ainsi que leurs portées limitées méritent davantage d'investigations.

### 3.2.1. Cancers et infections : Les rôles délétères de l'IL-35

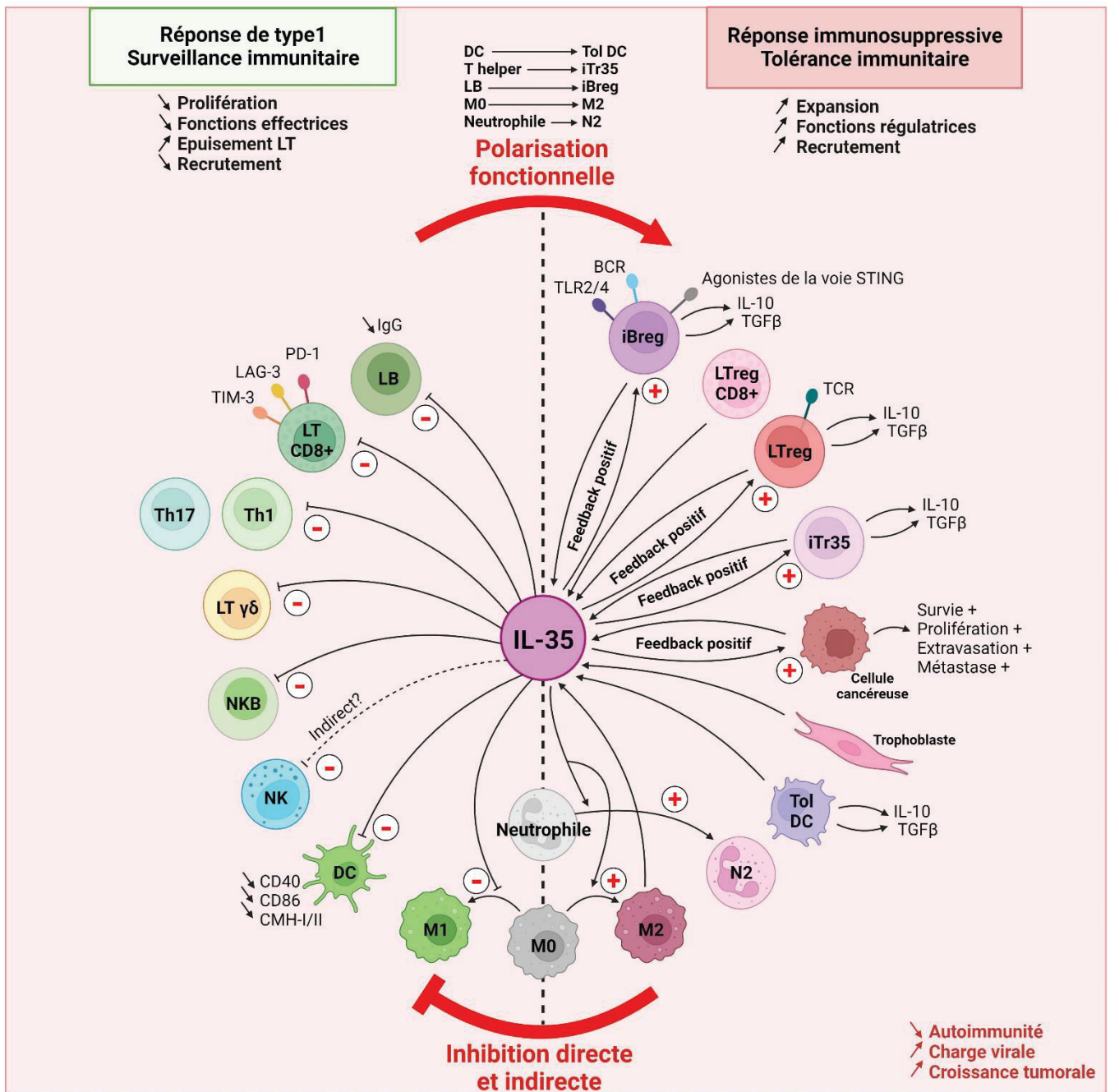
Comme évoqué précédemment au cours de cette introduction, les populations immunitaires effectrices jouent un rôle crucial dans la lutte contre les infections et les cancers. Néanmoins, ces populations deviennent progressivement dysfonctionnelles à mesure de la progression de ces pathologies, au travers de mécanismes encore imparfaitement compris. Les différentes études dédiées à la compréhension de l'IL-35 tendent à démontrer une implication de cette dernière dans ce processus.

Premièrement, des niveaux plus élevés d'IL-35 ont été rapportés dans les cancers du **sein** (Hao et al., 2018; Lee et al., 2018a; Zhao et al., 2017), du **pancréas** (Huang et al., 2017), du **côlon** (Ma et al., 2016), de la **prostate** (Chatrabnous et al., 2019; C. Zhou et al., 2017; Zhu et al., 2020), du **foie** (Fu et al., 2016; X. Liu et al., 2021), du **poumon** (Heim et al., 2019; Z. Li et al., 2022; Nishino et al., 2011) ou encore dans les **lymphomes B**, l'**AML** (Q. Tao et al., 2015) et le **mélanome** (Z. Wang et al., 2013), et sont associés dans la très grande majorité des cas à un **mauvais pronostic**. De façon similaire, l'IL-35 est également

surexprimée dans le sérum de patients atteints d'**hépatite B (HBV)** et **C (HCV)** (S. Liu et al., 2017; Shao et al., 2017; Y. Zhou et al., 2015), de **grippe A** (L. Wang et al., 2016), de **mononucléose** (Gao et al., 2022), de **COVID-19** (El Kazafy et al., 2023), ainsi qu'en cas de **sepsis** (Cao et al., 2015), avec des niveaux généralement corrélés avec la charge virale (S. Liu et al., 2017; Shao et al., 2017; Taghinejad et al., 2020; Y. Zhou et al., 2015) ou la sévérité de la pathologie (Cao et al., 2015; Gao et al., 2022). En complément, les différentes **populations sécrétrices d'IL-35**, telles que les LTreg, iTr35, LBreg et macrophages sont **enrichies au sein du TME** (Lee et al., 2018b; S. Li et al., 2022; Pylayeva-Gupta et al., 2016; Sawant et al., 2019; Turnis et al., 2016; K. Wang et al., 2018). De plus, différentes études récentes rapportent la sécrétion d'IL-35 directement par les cellules tumorales dans les cancers du sein et du pancréas (Hao et al., 2018; Huang et al., 2017; Nicholl et al., 2014). Par ailleurs, l'induction endogène d'iTr35 a également été observée *in vivo* des suites d'**infections parasitaires** (Collison et al., 2010) tandis que l'étude de PBMC de patients atteints par HBV et d'individus contrôles rapporte la présence de LT CD4+ et de LBreg exprimant l'IL-35 spécifiquement chez les patients ((F. Liu et al., 2011; Y. Y. Liu et al., 2021), NCT03734783).

D'un point de vue mécanistique, l'IL-35 induit une **accumulation intratumorale des populations immunosuppressives** (i.e. MDSC, LTreg, LBreg) (Huang et al., 2018; Z. Wang et al., 2013, 2021; Zhu et al., 2020), tout en participant à l'**exclusion** et à la **dysfonction** des lymphocytes cytotoxiques (i.e. LT CD8+ et CD4+, NK) via l'inhibition de leurs récepteurs aux chimiokines (Mirlekar et al., 2020) ainsi que leurs proliférations et fonctions effectrices (S. Li et al., 2022; X. Liu et al., 2021; Mirlekar et al., 2018; Turnis et al., 2016; Z. Wang et al., 2013). Ces effets s'accompagnent de l'induction simultanée d'un phénotype d'exhaustion PD1+LAG3+TIM3+ sur les LT CD4+, CD8+ et  $\gamma\delta$  (X. Liu et al., 2021; Ren et al., 2023; Sawant et al., 2019; Turnis et al., 2016). L'IL-35 participe également à la progression tumorale en **agissant directement sur les cellules cancéreuses**, d'une part en stimulant leur **survie** et **prolifération** (Nicholl et al., 2014; Pylayeva-Gupta et al., 2016) et d'autre part en participant à la propagation métastatique. En effet, les effets combinés de l'IL-35 sur les MDSC et monocytes, dont elle stimule le **caractère pro-angiogénique** (Huang et al., 2018; Z. Wang et al., 2013), et sur les cellules cancéreuses, sur lesquelles elle induit l'expression d'**ICAM-1** permettant l'adhésion aux cellules endothéliales (Huang et al., 2017), participent aux processus d'extravasation des cellules tumorales. De plus, l'IL-35 sécrétée par les macrophages présents aux sites métastatiques participe à inverser le processus d'EMT via la voie pSTAT6/GATA3, permettant la colonisation de l'environnement par les cellules cancéreuses (Lee et al., 2018a). De façon cohérente, l'utilisation d'anticorps bloquant l'IL-35 s'est révélée avoir des effets thérapeutiques dans divers modèles de cancers tels que ceux du **pancréas**, du **côlon**, de la **prostate** et de **mélanome**, en limitant la croissance de tumeur primaire (Huang et al., 2018; S. Li et al., 2022; Nicholl et al., 2014; Turnis et al., 2016; Zhu et al., 2020) ou le nombre de métastases pulmonaires (Turnis et al., 2016).

Bien que moins nombreuses, des observations allant dans la même direction sont observées en contexte d'infections, dans lesquels l'utilisation d'IL-35 recombinante permet une augmentation de la réplication d'HBV (N. N. Tao et al., 2018) tandis qu'un défaut de production d'IL-35 par les LBreg et LTreg augmente la survie de souris en cas d'infection bactérienne (Shen et al., 2014; Sullivan et al., 2020). L'utilisation d'anticorps neutralisant l'IL-35 (p35) dans des modèles de **sepsis induits par infection bactérienne** confirme ces résultats avec une diminution de la dissémination bactérienne ainsi qu'une augmentation des niveaux de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (Cao et al., 2015).



**Figure 15 : L'IL-35 est un puissant agent immunosuppresseur.**

L'IL-35 est produite par de nombreuses populations immunosuppressives (i.e. LBreg, CD8+ LTreg, LTreg, iTr35, cellules cancéreuses, trophoblastes, tolDC, M2). Cette cytokine permet d'assurer la tolérance immunitaire via trois actions principales : (i) l'inhibition fonctionnelle des populations immunitaires responsables des réponses de type 1 (présentées à gauche), (ii) la polarisation fonctionnelle de certaines de ces populations vers un profil tolérogène (précisés en haut) et enfin (iii) en soutenant l'expansion, le recrutement et les fonctions régulatrices de populations immunosuppressives (présentées à droite). L'ensemble de ces effets participent ainsi à une diminution de l'inflammation, permettant de résoudre certaines pathologies auto-immunes, ou à l'inverse à la progression de la pathologie en cas d'infection ou de cancer.

### 3.2.2. Maladies auto-immunes et grossesse : Les rôles nécessaires de l'IL-35

A l'inverse, toute activation trop importante et/ou non régulée du système immunitaire est délétère à l'organisme. De ce fait, les populations immunitaires immunosuppressives jouent un rôle clef afin d'assurer une tolérance immunitaire, nécessaire à l'homéostasie en dehors d'exposition à un pathogène. Un exemple frappant de ce processus correspond à la déplétion de LTreg, qui résulte en la mise en place rapide de **réactions inflammatoires et auto-immunes léthales** chez la souris (Fontenot et al., 2003). De façon intéressante, il a été démontré peu après la découverte de l'IL-35 que le transfert adoptif d'iTr35 dans des souris déficientes en LTreg limite significativement le processus inflammatoire, démontrant l'importance de l'IL-35 dans de tels contextes (Collison et al., 2010). Depuis, différentes évidences ont convergé pour démontrer que l'IL-35 participe activement au maintien de la **tolérance immunitaire dans de nombreux contextes et tissus**.

Ainsi, le transfert adoptif de cellules productrices d'IL-35 (i.e. LB reg, iTr35, toIDC) et l'utilisation d'IL-35 recombinante ou à l'inverse l'utilisation d'anticorps neutralisant l'IL-35 et de modèles présentant un défaut de production d'IL-35 spécifiquement au sein des LTreg ou LBreg concourent tous à la mise en évidence que l'IL-35 permet de résoudre l'inflammation pathologique au sein de modèle de **sclérose en plaque** (EAE) (Choi et al., 2017; Collison et al., 2010; Haller et al., 2017; J.-Q. Liu et al., 2012; Shen et al., 2014) ou **systémique** (Osuna-Gómez et al., 2023), d'**athérosclérose** (Park et al., 2016; Shao et al., 2021; Tao et al., 2016), de **polyarthrite rhumatoïde** (Kochetkova et al., 2010; Maddaloni et al., 2018; Niedbala et al., 2007), d'**inflammation intestinale** (IBD) (Collison et al., 2007; Wei et al., 2017; Wirtz et al., 2011; Zhang et al., 2018), d'**uvéite auto-immune** (Wang et al., 2014) et de **diabète de type 1** (Bettini et al., 2012; Manzoor et al., 2017). Bien que les mécanismes sous-jacents aux actions biologiques de l'IL-35 ne soient pas encore parfaitement identifiés, la réduction de l'inflammation dans des modèles d'EAE, d'**uvéite auto-immune**, de **sclérose systémique**, d'**IBD** et de **polyarthrite rhumatoïde** est notamment rendue possible par l'inhibition de la prolifération des LT CD4<sup>+</sup> Th1 et Th17 ainsi que leurs sécrétions d'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  et IL-17 (J.-Q. Liu et al., 2012; Niedbala et al., 2007; Shen et al., 2014; Wang et al., 2014; Wei et al., 2017) et par une baisse du nombre de LT CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> pancréatiques dans le cas du **diabète de type 1** (Bettini et al., 2012; Manzoor et al., 2017; Singh et al., 2015). De même, l'IL-35 inhibe la production d'IL-17 par les LT  $\gamma\delta$  pulmonaires au cours d'**allergies**, permettant de limiter les lésions tissulaires (Faustino et al., 2020).

Bien que beaucoup moins décrite dans ce contexte, l'IL-35 a également été retrouvée dans les **trophoblastes déciduaux** lors de la **grossesse** (Devergne et al., 2001; Lombardelli et al., 2022; Mao et al., 2013), un autre contexte au sein duquel le maintien de la tolérance immunitaire est capital pour éviter toute réaction face aux cellules d'origine fœtale. Ainsi, les trophoblastes permettent l'induction d'iTr35 et LBreg (J. Liu, Chen, et al., 2019; J. Liu, Hao, et al., 2019; Lombardelli et al., 2022). De par leur étroite interaction avec les NK, principale population lymphocytaire de l'environnement, il semble raisonnable d'envisager un éventuel rôle de l'IL-35 dans le maintien de leur caractère tolérogène.

En accord avec ces observations, les niveaux plasmatiques d'IL-35 sont plus faibles chez les patients atteints par la **sclérose systémique** (Osuna-Gómez et al., 2023), le **diabète de type 1** (Singh et al., 2015, 2019), d'**IBD** (Li et al., 2014; Zhao et al., 2020) et lors de phénomènes de **pertes de fœtus** chez des souris gestantes (J. Liu, Hao, et al., 2019; Slawek et al., 2020).

Au cours de ces dernières années, la liste des cellules sécrétant l'IL-35 ou étant régulées par ce facteur, ainsi que le nombre de contextes au cours desquels l'IL-35 est impliquée s'est agrandie.

L'ensemble de ces résultats démontre le rôle émergent de l'IL-35, au travers d'effets invariablement immunosuppresseurs. Néanmoins, malgré une littérature émergente et de nombreuses évidences démontrant une **biologie de l'IL-35 conservée chez l'homme**, l'étude et la description de l'IL-35 sont à ce jour **très largement réalisées à partir de modèles murins**, soulignant l'importance de décrire les mécanismes sous-jacents au rôle de cette cytokine chez l'homme.

#### 4. L'IL-35 en tant qu'agent thérapeutique ?

A ma connaissance, il n'existe à ce jour aucune étude clinique ou entreprise pharmaceutique étudiant l'utilisation ou le ciblage de l'IL-35 à des fins thérapeutiques, possiblement dus à la mise en évidence récente de ses effets biologiques, en particulier chez l'homme. Néanmoins, l'IL-35 présente l'avantage d'exercer des effets invariablement immunosuppresseurs, indépendamment du contexte, ce qui pourrait en faire une cible thérapeutique privilégiée.

Un des défis majeurs dans la prise en charge thérapeutique des infections et des cancers correspond au fait de pouvoir inverser les processus d'immunosuppression mis en place. Ainsi, en accord avec l'ensemble des résultats présentés ci-dessus, l'utilisation d'**anticorps neutralisant l'IL-35** semble pertinente dans les cancers ou pathologies infectieuses (Huang et al., 2018; Li et al., 2022; Nicholl et al., 2014; Turnis et al., 2016; Zhu et al., 2020). Bien que le blocage de l'IL-35 présente des effets thérapeutiques *per se* dans divers modèles précliniques, son utilisation en combinaison avec d'autres immunothérapies, en particulier contre les molécules **PD-1/PD-L1**, **LAG3** et **TIM3** surexprimées à la surface des LT exposés à l'IL-35 pourrait représenter une nouvelle approche intéressante (Sawant et al., 2019; Sullivan et al., 2020; Turnis et al., 2016; Yang et al., 2022). Dans cette optique, des études préliminaires se sont intéressées à la combinaison thérapeutique d'anticorps **anti-IL-35/anti-PD-1** dans différents modèles de cancers, avec l'obtention de résultats divergents. Malgré des résultats encourageants montrant une synergie dans des tumeurs du pancréas initialement insensibles aux thérapies anti-PD-1 (Mirlekar et al., 2018, 2020), aucun effet cumulatif n'a été observé dans le cas des modèles de mélanome et de colon (Turnis et al., 2016). Par ailleurs, il a été récemment montré que les **agonistes de la voie STING**, actuellement en cours d'évaluation en clinique, induisent l'expression d'IL-35 par les LB (Li et al., 2022). Ainsi, un blocage de l'IL-35 concomitant à l'injection de ces agonistes a permis d'obtenir des effets thérapeutiques prometteurs dans des modèles de cancer du pancréas, notamment via l'activation des NK (Li et al., 2022).

A l'inverse, différentes études tendent à suggérer que la surexpression de l'IL-35 (i.e. utilisation de cytokine recombinante, thérapies cellulaires ou géniques permettant son expression ectopique) serait une stratégie pertinente en cas de pathologies inflammatoires et auto-immunes. Ainsi, le transfert adoptif de **lignées de DC génétiquement modifiées pour surexprimer l'IL-35** a été proposé dans le cadre d'EAE (Haller et al., 2017) et de polyarthrite rhumatoïde (Koga et al., 2021). De même, l'utilisation de différents **vecteurs** (i.e. virus adéno-associés, *Lactococcus lactis*, *Escherichia coli*) permettant une surexpression d'IL-35 a également été rapportée dans le cadre de diabète de type 1 (Manzoor et al., 2017) de polyarthrite rhumatoïde (Maddaloni et al., 2018) et d'IBD (Wang et al., 2019; Zhang et al., 2018).

# RESULTATS



Comme présenté au cours de l'introduction de ce manuscrit, les NK jouent un rôle majeur dans la lutte contre les agents infectieux ou encore dans l'immunosurveillance des cancers. Grâce à leurs fonctions effectrices permettant la lyse directe des cellules dangereuses (i.e. transformées ou infectées) ainsi qu'une polarisation de l'ensemble de la réponse immunitaire, les NK représentent une cible thérapeutique prometteuse pour le développement de nouvelles thérapies. Néanmoins, des processus encore imparfaitement compris induisent une dysfonction profonde des NK au cours de pathologies inflammatoires chroniques, telles que le cancer, constituant un obstacle majeur pour le développement de telles stratégies thérapeutiques. Par conséquent, comprendre les mécanismes à l'origine de ces altérations fonctionnelles ou à l'inverse identifier les facteurs susceptibles de revigorer l'immunosurveillance médiée par les NK représentent deux approches complémentaires pour résoudre ces problématiques. Les cytokines font partie intégrante de la biologie des NK et régulent aussi bien leur développement que leur survie, leur prolifération et leurs fonctions, les positionnant comme des cibles d'intérêt pour un développement clinique.

Mes travaux de thèse s'ancrent dans cette dynamique, avec **l'étude du rôle de la cytokine immunosuppressive IL-35 et de l'alarmine pro-inflammatoire IL-33 sur l'activation des NK, principalement chez l'homme**. Les contextes et objectifs de ces différents projets seront décrits ci-après dans les parties qui leur sont dédiées.

Cette partie « Résultats » est compartimentée en **trois sous-parties**, reflétant les différents projets autour desquels ma thèse s'est articulée :

Une **première partie** correspond au projet d'une autre doctorante, initié avant mon arrivée au laboratoire, qui a donné lieu à un article intitulé « [IL-33 drives polyfunctionality and antitumor activity of a unique ST2+ NK cell population](#) », actuellement en révision favorable à Science Immunology et pour lequel j'occupe la position de 2<sup>ème</sup> auteur.

Ce premier projet a permis l'émergence de nouvelles hypothèses à partir desquelles **mon premier projet de thèse** s'est développé. Ce projet « [IL-33 activates NK cells in a context- and subset-dependent manner in health and tumors](#) » est décrit au sein d'une **deuxième partie** et est en cours de finalisation, ne permettant pas sa présentation sous la forme d'un article scientifique. Néanmoins, l'état d'avancement de cette étude permet d'envisager une soumission à très court terme (1<sup>er</sup> auteur), motivant notre choix de présenter ces résultats en anglais.

Enfin, une observation originale réalisée dans le cadre de mon premier projet a permis l'émergence d'un **deuxième projet de thèse** dont les résultats sont présentés dans une **troisième partie** sous la forme d'un article scientifique « [Interleukin-35 impairs human NK cell effector functions by inducing an ILC1-like conversion](#) », en vue d'une soumission imminente (1<sup>er</sup> auteur).

## Partie 1 : L'IL-33, puissant activateur des fonctions anti-tumorales des NK

### ARTICLE 1: IL-33 drives polyfunctionality and antitumor activity of a unique ST2+ NK cell population

Anaïs Eberhardt, **Valentin Picant**, Elena Blanc, Vincent Alcazer, Yamila Rocca, Maude Ardin, Aurélien Voissière, Fanny Onodi, Céline Rodriguez, Laurie Tonon, Benjamin Estavoyer, Lyvia Moudombi, Emily Charrier, Xi Wang, Ana Stojanovic, Tilman Rau, Olivier Tredan, Isabelle Treilleux, Marie-Cécile Michallet, Jenny Valladeau-Guilemond, Antoine Marçais, Thierry Walzer, Philippe Krebs, Adelheid Cerwenka, Margaux Hubert, Christophe Caux, Nathalie Bendriss-Vermare.

Article en révision favorable à Science immunology

#### -Contexte, hypothèse et objectifs :

Au démarrage de ce projet, une littérature émergente rapportait que l'IL-33 initialement décrite comme un inducteur des réponses immunitaires de type-2, présentait également le potentiel d'activer des cellules de l'immunité de type-1, notamment la sécrétion d'IFN-g par les NK en contexte viral chez la souris. Toutefois, la nature et les caractéristiques des cellules NK ST2+ humains ainsi que les mécanismes intracellulaires et voies de signalisation impliquées dans l'expression de ce récepteur demeuraient très largement inconnues. D'autre part, l'implication de l'axe IL-33/ST2/NK dans l'immunosurveillance des cancers n'était pas connue.

Ainsi, mon équipe d'accueil a émis l'**hypothèse** que l'IL-33 pourrait être impliquée dans l'immunosurveillance des cancers du sein via l'activation des fonctions effectrices des NK. L'**objectif** de cette étude était donc de mieux caractériser l'activation des NK par l'IL-33 chez l'homme et la souris, en contexte physiologique et pathologique dans le cancer du sein. Pour ce faire, ce travail s'est décliné en trois axes principaux : **i)** identifier les conséquences de l'activation par l'IL-33 sur le phénotype et les fonctions effectrices des NK, **ii)** comprendre les voies de signalisation régulant cette réponse et enfin **iii)** évaluer l'importance de l'axe IL-33/ST2/NK dans la régulation de la tumorigenèse, *in silico* par l'étude rétrospective de données transcriptomiques publiques, *ex vivo* à partir de tumeurs humaines et *in vivo* dans des modèles précliniques chez la souris. Ce travail a permis une description approfondie de la population de NK ST2+ induite par IL-12 jusqu'alors méconnue, dont les fonctions effectrices peuvent être stimulées par l'IL-33 pour booster l'immunité anti-tumorale. Il identifie ainsi l'IL-33 comme un immunomodulateur prometteur pour la thérapie anticancéreuse à base de cellules NK.

#### Découvertes principales :

-L'IL-12 induit ST2 sur une population NK intermédiaire présentant des caractéristiques communes aux CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup>.

-L'IL-33, en combinaison à l'IL-12, promeut les fonctions effectrices des NK humaines.

-Les NK ST2+ infiltrent les tumeurs et participent au rejet tumoral *in vivo*.

-Une signature transcriptomique  $NK^{fort}/IL-33^{fort}$  corrèle à un bon pronostic dans différents cancers.

**Mots-clefs** : NK cells, IL-33, ST2/IL1RL1, cancer immune surveillance, cancer immunotherapy

**IL-33 drives polyfunctionality and antitumor activity of a unique ST2+ NK cell population**

Anaïs Eberhardt<sup>1</sup>, Valentin Picant<sup>1,10</sup>, Elena Blanc<sup>1,10</sup>, Vincent Alcazer<sup>1</sup>, Yamila Rocca<sup>1</sup>, Maude Ardin<sup>1</sup>, Aurélien Voissière<sup>1</sup>, Fanny Onodi<sup>1</sup>, Céline Rodriguez<sup>1</sup>, Laurie Tonon<sup>2</sup>, Benjamin Estavoyer<sup>1</sup>, Lyvia Moudombi<sup>1</sup>, Emily Charrier<sup>3</sup>, Xi Wang<sup>4,5</sup>, Ana Stojanovic<sup>6</sup>, Tilman Rau<sup>7</sup>, Olivier Tredan<sup>8</sup>, Isabelle Treilleux<sup>8</sup>, Marie-Cécile Michallet<sup>1</sup>, Jenny Valladeau-Guilemond<sup>1</sup>, Antoine Marçais<sup>3</sup>, Thierry Walzer<sup>3</sup>, Philippe Krebs<sup>7</sup>, Adelheid Cerwenka<sup>6,9</sup>, Margaux Hubert<sup>1</sup>, Christophe Caux<sup>1</sup>, Nathalie Bendriss-Vermare<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, INSERM U1052, CNRS UMR5286, Université de Lyon, Université Lyon 1, Centre Léon Bérard, F-69000 Lyon, France.

<sup>2</sup> Fondation Synergie-Lyon-Cancer, 28, rue Laennec, 69008 Lyon, France

<sup>3</sup> CIRI, Centre International de Recherche en Infectiologie Lyon, France; INSERM, U1111, Lyon, France; École Normale Supérieure de Lyon, Lyon, France; Université Lyon 1, Lyon, France; and CNRS, UMR 5308, Lyon, France.

<sup>4</sup> State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

<sup>5</sup> Division of Cellular Immunology, German Cancer Research Center, 69120 Heidelberg, Germany

<sup>6</sup> Department of Immunobiochemistry, Mannheim Institute for Innate Immunoscience (MI3), Heidelberg University, 68167 Mannheim, Germany

<sup>7</sup> Institute of Pathology, University of Bern, Bern, Switzerland.

<sup>8</sup> Department of Medical Oncology, Centre Léon Bérard, F-69000 Lyon, France.

<sup>9</sup> European Center for Angioscience (ECAS), Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg, 68167 Mannheim, Germany

<sup>10</sup>These authors contributed equally

\*Corresponding author. Email: [nathalie.bendriss-vermare@lyon.unicancer.fr](mailto:nathalie.bendriss-vermare@lyon.unicancer.fr)

One sentence summary: The IL-33/IL-33R(ST2)/NK cell axis is a key determinant of cancer immunity and immunotherapy.

## Abstract

Natural Killer (NK) cell subsets differ to ensure complementary and crucial roles in tumor immunosurveillance. Their biology is critically regulated by cytokines. Here, we show that IL-33 synergizes with IL-12 to strongly activate a subset of CD56<sup>dim</sup> NK cells acquiring ST2 expression. Transcriptomic and biological analysis of human ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells revealed a distinct intermediate differentiation state between canonical CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells, combining high proliferative properties, cytokines/chemokines production, and cytotoxicity. NK cells expressing ST2 protein or exhibiting a ST2-linked transcriptional signature were identified in human and mouse tumors. Accordingly, IL-12 unleashes human breast tumor ST2<sup>+</sup> NK cell potential to produce IFN- $\gamma$  in response to IL-33 and IL-33/IL-12 co-injection resulted in a NK-dependent IFN- $\gamma$  secretion and anti-tumor effects in murine mammary tumors. An *IL33<sup>hi</sup>-NK<sup>hi</sup>* score in solid tumors correlated with increased progression-free patient survival. Our findings thus identify polyfunctional ST2<sup>+</sup> NK cells which effector functions can be harnessed by IL-33 to boost anti-tumor immunity.

**Keywords:** NK cells, IL-33, ST2/IL1RL1, cancer immunosurveillance, cancer immunotherapy

## Introduction

Natural Killer (NK) cells are major innate effector cells involved in host defense against viral infections and tumors (1). NK cells have evolved into a spectrum of effector subsets, including the main CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> subsets in humans, diverging in terms of phenotype, function, location, and responsiveness to activating stimuli to ensure complementary roles in innate immune responses (2). Indeed, CD56<sup>bright</sup> NK cells are predominant in lymphoid tissues, secrete high levels of cytokines and chemokines including Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), CCL3/4 (Macrophage Inflammatory Protein 1  $\alpha/\beta$ ), and CCL5 (RANTES) and undergo robust proliferation after cytokine stimulation (3). Conversely, CD56<sup>dim</sup> NK cells are the largest circulating population, show a greater cytotoxic ability but a lower cytokine production and proliferation compared to CD56<sup>bright</sup> NK cells (2). CD56<sup>dim</sup> NK cells also express the activating Fc receptor CD16, endowing them with antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) function, a central mechanism in antibody-based antitumor therapies (4).

Developmental relationships between NK cell subsets remain partially solved, with CD56<sup>dim</sup> NK cells likely originating from differentiated CD56<sup>bright</sup> NK cells (5, 6), and evidences of intermediate subsets corroborating this developmental trajectory (7). CD56<sup>dim</sup> NK cells can then give rise to a variety of phenotypically and functionally distinct subsets including terminally differentiated CD56<sup>dim</sup> CD57<sup>+</sup> (8, 9), memory-like/adaptive (10) or hypo-responsive exhausted-like NK cells (11). These NK cell subsets are characterized by distinct transcriptional programs (12, 13) regulated by profound epigenetic modifications and chromatin re-arrangements (14, 13). Therefore, NK cell diversity is broader than originally depicted and delineates functionally distinct subsets, which may be alternatively exploited for the development of therapeutic strategies (15).

NK cells are highly potent in tumor elimination by directly killing cancer cells and supporting effective innate and adaptive antitumor immune responses (16). Many tumor cells express high levels of ligands for activating NK cell receptors, leading to efficient recognition by NK cells (17). Accordingly, high intratumoral infiltration by NK cells is associated with improved prognosis for cancer patients (18–20). However, chronic exposure to activating signals, presence of inhibitory ligands and immunosuppressive molecules in tumor microenvironment favor NK cells dysfunction, leading to tumor escape (21). In this context, NK cells are emerging as promising targets for cancer therapy with a growing number of therapeutic agents aiming to unleash their full antitumor potential.

The activation of NK cells depends on the signaling balance between activating and inhibitory receptors. However, numerous cytokines such as Interleukin(IL)-2 (22), IL-12 (23), IL-15 (24), IL-18 (25), and type I IFN (26) also regulate NK cell maturation, activation, and survival by acting alone or in cooperation. The identification of cytokines (*i.e.* IL-21, IL-23, IL-27, IL-33) regulating NK cells is continually increasing (27). The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of non-

immune cells at epithelial barriers (28). In response to tissue injury, cellular stress, and inflammation, IL-33 is released and functions as an alarmin by activating immune cells expressing its heterodimeric receptor, composed of ST2 (encoded by *IL1RL1* gene) and ILRAcP accessory chain (29). The IL-33/ST2 axis was originally described to support type 2 immunity (30). Also, studies showed a pivotal role of the IL-33/ST2 pathway on the biology of a subset of regulatory T cells (Tregs) constitutively expressing ST2 and involved in tissue repair (31) and immunomodulation (32). In contrast, IL-33 is now emerging as a regulator of Th1 responses during viral infection and chronic immune pathologies in mice, enhancing IFN- $\gamma$  production in CD4<sup>+</sup> cells, CD8<sup>+</sup> T cells, and NK/NKT cells that acquire ST2 expression under inflammatory conditions (33–35). However, the role of IL-33/ST2 axis in human NK cell subsets biology remains scarcely addressed and its impact on tumor development has revealed opposing effects depending on the tumor type and the microenvironment (36). Indeed, IL-33 can contribute to tumor progression and metastasis by promoting immune cell-dependent (*i.e.*, recruitment of immune suppressive cells, activation of type 2-mediated inflammation, and inhibition of effector CD8 T and NK cells) and immune cell-independent (*i.e.*, tumor angiogenesis, cancer cell stemness, tumor cell proliferation) mechanisms. In contrast, systemic and/or local production of IL-33 can inhibit tumor growth and metastasis by enhancing both adaptive (*i.e.*, effector Th1 and CD8 T cells) and innate (*i.e.*, NK cells, DCs, and eosinophils) immune responses.

In this study, we evaluated the role of IL-33 in NK cell biology in physiological and tumor context in human and mouse models. We found that IL-12 upregulates ST2 expression on a subset of human NK cells, in a STAT4-dependent pathway, promoting NK cell activation by IL-33. Following IL-33 stimulation, human ST2<sup>+</sup> NK cells displayed polyfunctional activity featuring increased secretory and cytotoxic functions as well as a higher proliferative ability. RNA sequencing (RNA-seq) analysis identified human ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells as an unprecedentedly characterized intermediate population between canonical CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells. We also identified NK cells expressing ST2 protein in human breast tumors or exhibiting an ST2-linked transcriptional signature in human and mouse tumor public scRNA-seq datasets. In accordance, IL-12 unleashes the potential of ST2<sup>+</sup> NK cells from the blood and tumor tissue of breast cancer patients to respond to IL-33 by producing IFN- $\gamma$ . In a murine mammary tumor model, IL-33 and IL-12 combination had a potent NK-dependent antitumor effect associated with IFN- $\gamma$  production. Finally, pan-cancer analysis in TCGA database showed that an *IL33<sup>hi</sup>-NK<sup>hi</sup>* score correlates with good prognosis in several solid cancers including breast cancer. Therefore, our results reveal ST2<sup>+</sup> NK cells as a hitherto unappreciated polyfunctional subset potentially involved in tumor immune surveillance and identify IL-33 as a promising immunomodulator for NK cell-based cancer therapy.

## Results

### **IL-12/STAT4 signaling drives ST2 expression on human NK cells endowed with polyfunctionality in response to IL-33**

As previously reported for mouse NK cells in infectious contexts (35), IL-33 was a particularly potent IFN- $\gamma$  inducer in human NK cells when combined with IL-12 (from  $\approx$ 500- to  $\approx$ 1800-fold as compared to IL-12 alone) (Fig. 1A), similarly to IL-18, a well-known IFN- $\gamma$  trigger for NK cells, and was 4-fold more potent than IL-1 $\alpha/\beta$ . IL-33 also synergized with IL-2 (60-fold), IL-15 (7-fold) but not with anti-NKAr agonistic antibodies or K562 target cells (fig. S1A-C). IL-12 and IL-33 synergy was dose-dependent (fig. S1D) and IFN- $\gamma$  was detected within a few hours to peak at 72 h (fig. S1H) reaching comparable levels ( $> 1 \mu\text{g/mL}$ ) to those induced by IL-12/IL-18 co-stimulation. At low doses (1 ng/mL), IL-33 even induced higher levels of IFN- $\gamma$  than IL-18, when combined with IL-12 (fig. S1D). The combination of IL-33 and IL-12 also enhanced NK cell cytotoxicity towards K562 target cells (Fig. 1B, fig. S1I), and induced their expression of CD25 and CD69 activation markers (Fig. 1C). These results indicate that IL-33, in the presence of IL-12, is nearly as effective as IL-18 to trigger polyfunctional activation of NK cells. Blocking experiments using specific antagonistic molecules against IL-1 family cytokines or receptors demonstrated that ST2 is specifically involved in the synergistic effect of IL-33 (Fig. 1D and fig. S2A) with IL-12 on IFN- $\gamma$  production. The analysis of ST2 expression showed that *ST2* mRNA expression was very low in resting NK cells but increased up to 15- and 35-fold upon stimulation with IL-12 alone or combined with IL-33, respectively (Fig. 1E), to reach a plateau after 48h (fig. S2B). Levels of *IL1RAcP* co-receptor transcripts in NK cells were not similarly regulated (Fig. 1E and fig. S2B). Accordingly, ST2 protein was not detected on resting NK cells, but  $\sim$ 20% of NK cells, expressing intermediate CD56 levels, acquired ST2 surface expression upon IL-12 stimulation (Fig. 1F). IL-12 mainly activates STAT4-dependent transcription programs (37). The treatment of IL-12-activated NK cells with lisofylline, a specific inhibitor of STAT4 phosphorylation (fig. S2C), resulted in a decrease in ST2 expression in NK cells (Fig. 1F). *In silico* analysis of the *ST2* promoter identified several potential STAT4 binding sites (fig. S2D). The binding of STAT4 to the *ST2* promoter was confirmed in IL-12-stimulated NK cells by chromatin immunoprecipitation (Fig. 1G). Taken together, these data indicate that IL-12 stimulation induces *ST2* transcription and protein expression in a subset of NK cells, through direct binding of STAT4 to the *ST2* promoter, leading to potent IFN- $\gamma$  production in response to IL-33.

### **IL-33 is a potent activator of a subset of human CD56<sup>dim</sup> NK cells in the presence of IL-12**

Next, we aimed to characterize more deeply the NK cells subset acquiring ST2 expression in response to IL-12. IL-12 triggered ST2 expression selectively in  $\sim$ 20% of CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 2A) but not in CD56<sup>bright</sup> NK cells, although STAT4 activation was observed in both subsets in response to IL-12 (fig.

S3A). We then used NF- $\kappa$ B (p65) (38), MAPkinases (p38) (39), and mTOR (S6) (40) signaling pathway activation as surrogates for ST2/IL-33 signaling. In line with ST2 expression, IL-12 and IL-33 co-stimulation of sorted NK cell subsets selectively induced p65, p38, and S6 phosphorylation exclusively in ~25% of CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 2B and fig. S3B), while each cytokine alone was ineffective. In agreement, a much greater proportion of CD56<sup>dim</sup> NK cells produced IFN- $\gamma$  and co-expressed CD25 (Fig. 2C) or CD69 (fig. S3C) in response to IL-12 and IL-33 combination, as compared to CD56<sup>bright</sup> NK cells. Coherently with CD25 expression, the highest IL-2-triggered proliferation was observed in CD56<sup>dim</sup> NK cells following pre-activation with IL-12 and IL-33 combination (Fig. 2D). Of note IL-33 was more potent than IL-18 in inducing IL-2 dependent proliferation. In addition, IL-12 and IL-33 combination promoted a specific inflammatory cytokine secretion profile in CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 2E), involving TNF- $\alpha$ , CCL3, and CCL4. As a comparison, the other IL-1s cytokines preferentially promoted the activation (Fig. 2, B and C, fig. S3B and C), the proliferation (Fig. 2D), and the cytokine production (Fig. 2E) in CD56<sup>bright</sup> NK cells (for IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) or in both NK subsets (for IL-18). CD56<sup>dim</sup> NK cells represent a heterogeneous population based on CD57 and KIRs surface expression (9, 8). In IL-12 context, while IL-18 preferentially triggered IFN- $\gamma$  production in CD56<sup>bright</sup> NK cells, the effect of IL-33 was more prominent in CD56<sup>dim</sup> CD57<sup>-</sup> cells NK cells (Fig. 2F), correlating with ST2 expression (Fig. 2G). Altogether these results highlight differences in the regulation of NK cell activation by IL-1s family cytokines, IL-33 being highly selective for CD56<sup>dim</sup> NK cells, as summarized in Fig. 2H.

### **ST2<sup>+</sup> NK cells show a unique transcriptional signature with intermediate features between CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> subsets**

To further characterize human ST2<sup>+</sup> NK cells, we performed RNA-seq analysis from three different donors on eight FACS-sorted NK cell subsets, based on surface expression of CD56, CD57, and ST2 following 24-hour culture in medium or IL-12 to induce ST2 expression (Fig. 3A). Principle Component Analysis (PCA) revealed that the PC1 axis (39% variance) segregated NK cells according to CD56 expression, whereas the PC2 axis (27% variance) discriminated samples according to IL-12 stimulation. Interestingly, ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells clustered together between ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells along the PC1 axis (Fig. 3B). Focusing on IL-12 culture conditions, 2,399 genes displayed differential expression between ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup>, ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup>, and ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (fig. S4A). Analysis of genes specifically upregulated in each subset compared to the two others allowed us to define transcriptomic signatures specific for each NK cells subsets (Fig. 3C and Tables 1-3). The ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells signature contained 233 genes, including genes encoding surface proteins (e.g., *IL23R*, *IL1RL1*, *TRPV1*, *SLC16A1*, *ITGA3*, *MT1X*, *PTGER3*, *ULBP1*, *ICAM1*, *HPSE*, *TREML2*, *LRP8*, *EDA2R*), secreted proteins (*VEGFA*, *GZMA*, *IFNG*), and transcription factors (TFs) (*DMRTA2*, *E2F2*, *E2F1*, *EZH2*, *ATF3*) (Fig. 3C, fig. S4B, and Table 1). We then evaluated the enrichment score for signatures of ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> (418 genes), ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup>



(396 genes), and ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (233 genes) in each subset respectively by single sample gene set enrichment analysis (ssGSEA). Strikingly, ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells displayed an intermediate enrichment score for both ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cell signatures (Fig. 3D). Indeed, besides genes specifically enriched in ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells, we also observed sets of genes encoding TFs, surface markers or soluble mediators exclusive for ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells and expressed at intermediate levels in ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 3E and fig. S4A). Interestingly, TFs defining the CD56<sup>bright</sup> NK cell program were absent in ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (e.g., *BACH2*, *LEF1*, *TCF7*), whereas those specifically regulating the CD56<sup>dim</sup> NK cell program (e.g., *MAF*, *NFIL3*, *PRDM1*, *TBX21*, *ZBTB16*, *ZEB2*) were all (except for *NFIL3*) expressed at intermediate levels in ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 3E). Among genes shared between ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> NK cells were secreted molecules (*TNF*, *XCL1*, *XCL2*, *GZMK*); chemokine receptors (*CCR1*, *CCR5*, *CCR6*) and cytokine receptors (*IL2RA*, *IL2RB*, *IL12RB2*). Genes shared with ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells encoded differentiation markers (*FCGR3A*, *KIR2DL1*, *KIR2DL3*, *KIR3DL1*, *KIR3DL2*), chemotactic receptors (*CXCR1*, *CXCR2*, *CX3CR1*, *S1PR5*), inflammatory chemokines (*CCL3*, *CCL4*, and *CCL5*), and cytotoxic molecules (*GZMH*) (Fig. 3E). Among DEG between ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells, 75.1 % of genes displayed an intermediate expression in ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 3F). By using a permutation test to randomly shuffle labels of all samples (n = 1000 times) and assess samples distribution, we statistically validated the intermediate transcriptional pattern of ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells (p = 0.012) (Fig. 3F). We then performed functional enrichment analysis for gene signatures selected from Gene Ontology (GO), Hallmarks, and KEGG databases. Based on the literature (41) and our own data (Fig. 2E,3E, and fig. S4A), we also defined specific cytokine and homing signatures for CD56<sup>bright</sup> (CYTOKINES\_NKbright and HOMING\_NKbright) and CD56<sup>dim</sup> NK cells (CYTOKINES\_NKdim and HOMING\_NKdim). ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells were specifically enriched in signatures involved in cell proliferation (*i.e.* cell cycle) and metabolism (*i.e.* oxidative phosphorylation, glycolysis, PI3K/AKT/mTOR signaling), indicating their higher activation state as compared with ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells. Furthermore, ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells showed an enrichment in biological processes associated with either CD56<sup>bright</sup> (*i.e.* CYTOKINES\_NKbright, HOMING\_NKbright, and regulation of T-helper 1 immune response) or CD56<sup>dim</sup> (*i.e.* CYTOKINES\_NKdim, HOMING\_NKdim, and cytolysis) NK cell subsets (Fig. 3G), in line with their polyfunctionality. In agreement, the GO term associated with NK cell differentiation was progressively enriched in ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells, consistent with a ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> → ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> → ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> differentiation trajectory. Collins *et al.* recently reported a continuum in NK cell differentiation, with CD57<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells representing a terminally-differentiated state (13). In concordance with this study, CD57<sup>-</sup> ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells expressed higher levels of genes (*LEF1*, *XCL1*, *TNF*, *GZMK*) and gene signatures/pathways of CD56<sup>bright</sup> NK cells, whereas CD57<sup>+</sup> ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells overexpressed genes (*FCGR3A*, *CX3CR1*, *KIR2DL1*, *KIR2DL3*, *KIR3DL1*, *KIR3DL2*, *NFIL3*, *PRDM1*, *ZEB2*,

*GZMH*) and gene signatures/pathways shared with CD56<sup>dim</sup> NK cells (Fig. 3B-E,G). Altogether, this analysis revealed that ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells display a unique, highly activated, and polyfunctional profile, intermediate between IL-12-activated ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> and ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells.

### **ST2<sup>+</sup> NK cells infiltrate tumors and are functionally competent in response to IL-33 and IL-12 activation**

We then addressed the functional relevance of the ST2<sup>+</sup> NK cells in cancer. First, we analyzed previously published datasets of single cell (sc)-RNAseq from NK cells infiltrating human melanoma metastases (GSE139249) (42) and mouse lung tumors (GSE123534) (43) to investigate the presence of ST2<sup>+</sup> NK cells in tumor tissues. Unsupervised clustering of all sequenced intratumoral NK cells revealed nine and eight distinct clusters based on transcript signatures in human melanoma metastases and in mouse lung tumors respectively (fig. S5), with human cluster #5 and murine clusters #4 and #7 displaying a higher ssGSEA score for the 233-gene expression signature associated with ST2 expression in NK cells (representing 3%, 9.4% and 2.4% of total NK cells respectively) (Fig. 4A). By analyzing human breast tumor resections, where NK cells were detected in 85% of cases (40/46) and represented up to 7% of total infiltrating immune cells, regardless of the breast cancer molecular subtype (fig. S6A,B), we identified ST2<sup>+</sup> NK cells in tumors representing ≈5 to 10% of total tumor-infiltrating NK cells, but not in patients' blood (Fig. 4B). As a surrogate for IL-33 responsiveness, we monitored p65 phosphorylation in *ex vivo*-stimulated tumor-infiltrating and circulating NK cells. While IL-33 had no effect alone, its association with IL-12 induced p65 phosphorylation in a subset of circulating and tumor-infiltrating NK cells (Fig. 4C), highlighting the potential of NK cells to respond to IL-33 in cancer patients. Consistently, IL-12 and IL-33 co-stimulation enhanced IFN- $\gamma$ -production by circulating and tumor-infiltrating NK cells from breast cancer patients, as compared to IL-12 alone (Fig. 4D). Collectively, these results indicate that ST2<sup>+</sup> NK cells are present in the microenvironment of different tumor types and that they can respond to IL-33 resulting in IFN- $\gamma$  production, suggesting a potential antitumor function of IL-33.

### **Combination of IL-33 with IL-12 promotes NK cell antitumor activity *in vivo***

As for human NK cells, IL-12 was required to upregulate ST2 expression on the surface of a subset of mouse spleen NK cells (fig. S7A), which subsequently produced IFN- $\gamma$  in response to IL-33 (fig. S7B). Next, using the mouse E0771 triple negative breast tumor cell line (44) we addressed the functional relevance *in vivo* of IL-33 NK-dependent antitumor activity. Mice were orthotopically injected in the mammary gland with E0771 tumor cells and then treated with IL-33 and IL-12 alone or in combination via peritumoral injection (Fig. 5A). We observed a marked reduction in primary tumor growth in IL-12/IL-33 co-treated mice compared to the control group and, and to a lesser extent, to IL-12 or IL-33 monotherapy (Fig. 5A). Consistently, co-injection of IL-12 and IL-33 increased long-term survival of

tumor-bearing mice (Fig. 5B). These antitumor effects were linked to higher levels of systemic IFN- $\gamma$  (Fig. 5C). Strikingly, the effects of IL-33/IL-12 co-treatment on tumor growth, survival, and IFN- $\gamma$  production were abrogated when NK cells were depleted (Fig. 5D-F) while they were maintained in T and B cell-deficient *Rag2*-KO mice, in an NK cell-dependent manner (fig. S8A-C). Altogether, these results demonstrate that IL-12 and IL-33 co-stimulation induces anti-tumor NK cell functions *in vivo*.

### **An $NK^{hi}$ - $IL33^{hi}$ score predicts improved cancer patients survival**

To assess the clinical relevance of our findings, we analyzed *IL33* and *IL1RL1* (ST2) gene expression in human cancers using The Cancer Genome Atlas (TCGA) transcriptomic database. Although detected in virtually all cancer types, *IL33* expression was lower in tumor as compared to adjacent non-tumoral tissue in 13/30 cancers, including invasive breast carcinoma (IBC), while it was upregulated in five cancers (Fig. 6A). Similarly, *IL1RL1* was downregulated in 20/30 cancers as compared to adjacent normal tissues, with some cancers displaying barely detectable *IL1RL1* expression (Fig. 6A). These observations suggest a protective role of the IL-33/ST2 pathway in human cancers. We confirmed the presence of IL-33 soluble protein in 95% of breast tumor supernatants, with the highest levels detected in luminal tumors compared to Her2<sup>+</sup> and triple negative tumors (Fig. 6B). While absent from the nuclei of tumor cells, IL-33 was expressed in the nuclei of epithelial cells from normal acini, of endothelial cells as previously reported (45), and of isolated stromal cells morphologically resembling immune cells or cancer-associated fibroblasts (Fig. 6C). Further analysis from public transcriptomic datasets from microdissected tissues (46, 47) confirmed that *IL33* expression was mainly restricted to the stroma, and higher in non-tumoral tissue and early non-invasive lesions (DCIS) compared to advanced IBC (Fig. 6D), consistent with a loss of IL-33 expression in cancer cells during breast tumorigenesis. In addition, we found that the expression of *IL33* and *IL1RL1* in TCGA data sets for human cancers was frequently associated with an improved Progression-Free Survival (PFS) (fig. S9A-C). Notably, in breast cancer, *IL33*-based patient stratification was independently prognostic when adjusted for age, molecular subtype, and tumor stage (fig. S9D).

We then examined whether high *IL33* expression in conjunction with a high NK cell infiltration predicted improved patients survival as compared with these parameters considered separately. TCGA clinical cases were stratified as  $IL33^{high}$  vs  $IL33^{low}$  expression and as  $NK^{high}$  vs  $NK^{low}$  score, using a previously defined NK cell gene signature (48) (Table 4).  $NK^{hi}$  tumors displayed higher expression of *IL33*, indicating a positive association between these two parameters (Fig. 7A). An  $NK^{high}$ - $IL33^{high}$  score was associated with improved PFS in six cancers including breast cancer (BRCA), whereas  $NK^{high}$ - $IL33^{low}$  score had no prognostic value with the exception of Liver Hepatocellular Carcinoma (LIHC) (Fig. 7, B and C, and fig. S9E). Notably, multivariate analysis in breast cancer patients highlighted that an  $NK^{high}$ - $IL33^{high}$  score remained a marker of better PFS regardless of the molecular subtype, the stage of the

disease, and the age of patients (Fig. 7D). Altogether, these results reveal a strong favorable prognostic value of the IL-33/ST2 axis in particular when associated with a high *NK* score in several cancers including breast cancer.

## Discussion

Previous studies have established the important role for IL-33 in type 2 immunity, but its contribution to type 1 immune responses remains poorly understood (36). Indeed, the role of IL-33/ST2 pathway in antitumor immunity remains elusive, in particular through NK cell modulation. Our results demonstrate that a specific subset of human CD56<sup>dim</sup> NK cells express ST2 in response to IL-12 and is endowed with polyfunctional activity in response to IL-33. This unique subset represents an intermediate differentiation stage between less mature secretory CD56<sup>bright</sup> and more differentiated cytotoxic CD56<sup>dim</sup> NK cells, with high activation potential and anti-tumor activity. Indeed, tumor-infiltrating NK cells were found to express ST2 and to produce IFN- $\gamma$  in response to IL-12/IL-33 co-activation. Accordingly, IL-33 and IL-12 combination inhibits mammary tumor development in mice in an NK cell-dependent manner and an *IL33*<sup>hi</sup>/*NK*<sup>hi</sup> transcriptomic score predicts better survival in breast cancer and other cancers. These findings uncover an important role for ST2<sup>+</sup> NK cells in antitumor immunity which is relevant in cancer immune surveillance and cancer immunotherapy.

Our data indicate that IL-33 by itself is not able to activate NK cells. Indeed, ST2 protein expression in human and mouse NK cells requires IL-12, in agreement with previous works but only shown at the transcriptional level (33). Mechanistically, we show that IL-12 induces and stabilizes *ST2* expression in human NK cells through a direct binding of STAT4 in *ST2* promoter, corroborating previous results in mouse Th1 cells (49). IL-12 appears as the most potent signal to enable NK cells to respond to IL-33, highlighting a major role of STAT4 as a master regulator of *ST2* expression. Synergistic activity with IL-12 was also reported for other members of the IL-1 cytokine family, such as IL-18. Indeed, IL-12 and IL-18 coactivation induces STAT4/c-jun complexes which bind to *IFNG* promoter (50) and activates p38-MAPK pathway which enhances stability of *IFNG* transcripts in human NK cells (51). Similarly, IL-33 was shown to activate c-jun (52) and p38-MAPK (our results and (53)), therefore, IL-33 and IL-12 synergy likely acts through pathways similar to those described for IL-18 to trigger high IFN- $\gamma$  production by NK cells. However, our study identifies specific regulation of NK cell functions by IL-33 compared to other IL-1 family cytokines including IL-18. Indeed, IL-33 was unique in its ability to induce the concomitant secretion of IFN- $\gamma$  and a broad spectrum of pro-inflammatory cytokines and chemokines in CD56<sup>dim</sup> NK cells. In addition, while CD56<sup>dim</sup> NK cells are known for their low proliferative ability (54), only IL-33 strongly potentiates their IL-2-triggered proliferation, consistent with the upregulation of CD25. Our findings therefore highlight differences in NK cell subsets' ability to respond to IL-1 family members upon co-stimulation with IL-12, with unique activation features acquired in response to IL-33.

Our results show that IL-12-induced ST2<sup>+</sup> NK cells stand as an intermediate stage between conventional CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells, with a mixed transcriptomic profile, consistent with their

polyfunctional activity in response to IL-12 and IL-33. Previous studies reported NK cell differentiation intermediates, based on their surface expression of CD94/NKG2A, CD62L, CX3CR1, KIRs and CD57 (9, 8, 7, 55) and transcriptional and epigenetic programs governing differentiation from immature CD56<sup>bright</sup> to terminally differentiated CD56<sup>dim</sup> (56, 12, 13). ST2 expression is restricted to human CD56<sup>dim</sup> NK cells, although IL-12/STAT4 signaling is active in CD56<sup>bright</sup> NK cells, suggesting differences in transcriptional regulation by STAT4 among NK cells subsets, as previously evidenced for adaptive memory NK cells (14). Genes encoding BACH2 and TCF7, master transcription factors of CD56<sup>bright</sup> NK cells, were specifically downregulated in ST2<sup>+</sup> NK cells and might therefore act as transcriptional repressors preventing ST2 expression in CD56<sup>bright</sup> NK cells, as previously shown to inhibit CD56<sup>dim</sup> transcriptional program (13). The absence of CD56<sup>bright</sup> specific transcription factors in ST2<sup>+</sup> NK cells argue for a differentiation model where ST2 is upregulated on NK cells after they first lose the transcription factors governing the CD56<sup>bright</sup> subset. Furthermore, ST2 expression was preferentially observed in a subset of CD57<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells and lost during terminal differentiation alongside with the acquisition of CD57. Together, our results point toward a model in which ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells originate from CD56<sup>bright</sup> NK cells to emerge as an intermediate stage between CD56<sup>bright</sup> and terminally differentiated CD56<sup>dim</sup> CD57<sup>+</sup> NK cells.

We also report NK cells expressing ST2 protein and exhibiting an ST2-linked transcriptional signature in human and mouse tumors. Of note, we previously reported significant levels of IL-12p40 and IL-12p70 in supernatants obtained from advanced breast tumor (57) that may be released in tumors by activated DCs (58) to locally license NK cells to respond to IL-33 by inducing ST2 expression. IL-12 may also be produced in tumor-draining lymph nodes by DCs, in close vicinity with NK cells. Interestingly, a recent study suggested that DC-derived IL-12 is essential for the anti-tumor activity of NK cells (59), while NK cell-derived IFN- $\gamma$  sustains the production of IL-12 by cDC1 (60), hence delineating a positive feedback loop. In this context, loss of IL-12 expression in advanced tumors may represent an escape mechanism preventing NK cells' activation by IL-33. In conclusion, we suggest that NK cells are fine-tuned by the cytokine microenvironment with IL-12 driving IL-33 activity towards an anti-tumor immune response via NK cells.

Our study reveals that IL-33 protein is present in human breast tumors. Nevertheless, we document a frequent downregulation of *IL33* expression in tumors and a positive impact of *IL33* expression on patients' survival in several cancer types, including breast cancer. Consistently, previous studies reported a positive prognostic impact of IL-33 in hepatocarcinoma, kidney, salivary glands or prostate cancers (61–63) and IL-33 levels are inversely correlated with tumor grade and tumor size in lung adenocarcinomas (64) and osteosarcomas (65). These observations support an anti-tumor role

for endogenous IL-33 that could be released in the microenvironment of early-stage tumors following cell death and stress. Furthermore, our analysis of TCGA database reveal a strong favorable prognostic value of IL-33 in particular when associated with a high *NK* score in several cancers, including breast cancer, independently of other clinical parameters, highlighting a selective advantage of combined IL-33 and NK cells. Our observation complements recent findings showing that a *NK-IL18-IFN<sup>high</sup>* signature has a positive prognosis value for cancer patients' survival (43). Although NK cells in advanced solid tumors are characterized by a dysfunctional state (21), we show here that *ex vivo* stimulation with IL-33 and IL-12 triggered IFN- $\gamma$  production by human breast tumor-infiltrating NK cells. Consistently, our *in vivo* study demonstrates a potent antitumor role for IL-33/IL-12 on primary mammary tumor growth in mice via the activation of tumor-infiltrating NK cell resulting in systemic IFN- $\gamma$  production, in line with previous reports following ectopic expression of IL-33 (66) or systemic administration of IL-33 (67, 68). Systemic IL-33 was also shown to inhibit the development of metastatic tumor in 4T1 mouse model in an NK cell-dependent manner (68). Together, these results highlight the potential of IL-33 as a novel therapeutic strategy to promote NK cells anti-tumor activity.

In conclusion, our analysis of human and mouse tissues identifies a novel NK cell subset upregulating ST2 upon IL-12 activation, which display high proliferative abilities and polyfunctionality. IL-33/ST2 axis plays a protective role in cancer and is of clinical relevance for cancer patients' outcome. Our results also reveal a promising role of ST2<sup>+</sup> NK cells to be harnessed for cancer treatment. Deciphering NK cell differentiation paths and identifying stimuli promoting distinct maturation stages and functions is crucial to achieve tailored harnessing of NK cell features for therapeutic benefit in a variety of pathological contexts.

## **Acknowledgments**

RNA sequencing was performed by the genomic platform of the CRCL supported by the SiRIC-LYriCAN program (grant INCa-DGOS-Inserm\_12563). Cell sorting was performed at the flow cytometry facility of the CRCL. Mouse experiments were performed at the P-PAC animal facility of the CRCL.

We thank S. Boyault, J. Auclair, and C. Audouinaud for performing RNA sequencing. We thank M. Pratviel, B. Vernière, and M. Sanchez for excellent technical assistance for mouse experiments. P. Battiston-Montagne and A. Jambon provided help during cell sorting. We thank Lynnette Fernandez Cuesta, Matthieu Foll, and Nicolas Alcalá for their precious advice for permutation statistical test. We want to additionally thank V. Sisirak, Y. Grinberg-Bleyer, and B. Dubois for careful reading of the manuscript, helpful comments, and suggestions.

Fresh tumor samples and blood samples from breast cancer patients were provided by the tissue bank of CLB (BB-0033-00050, CRB - CLB, Lyon, France; French agreement number: AC-2019-3426).

The breast cancer immunostaining was generated by Coya Tapia (PMID: 29254793), with amended data monitoring by Rupert Langer, and stained by the Translational Research Unit in Bern. Stefan Reinhard helped for digitalization of the histology pictures.

This work was supported by the Fondation ARC pour la Recherche sur le Cancer (grant PJA20181208305 to N.B.-V.), the Institut National Du Cancer (INCA; AAP PLBIO-16-116 to A.M. and N.B.-V.), the Ligue Régionale contre le cancer (Comité du Rhône) (to N.B.-V.), the Ligue Nationale contre le cancer (EL2020.LNCC-CHC to C.C.), the LABEX DEVweCAN (ANR10-LABX-0061 to C.C.) of Université de Lyon, within the program “Investissements d’Avenir” (ANR-11-IDEX-0007) operated by the French National Research Agency (ANR), and the SiRIC LYriCAN project (grant INCa-DGOS-Inserm\_12563 to C.C. and N.B.-V.).

A.E. is a recipient of a doctoral fellowship from the Ecole Normale Supérieure de Lyon (2016-2019) and 1-year extension Ph.D. Fellowship from the Labex DevWeCan, E.B. from The Région Auvergne Rhône Alpes ARC1 Santé (2013-2016), and 1-year extension Ph.D. Fellowship from Labex DevWeCan, and V.P. from the French Government PhD Fellowship (2019-2022). A.V. is a recipient of a post-doctoral fellowship from Labex DEVweCAN and Y.R. from INCa AAP PLBIO17-187.

## **Author contributions**

N.B.-V., A.E., E.B., V.P. and C.C. designed the study. A.E., E.B., V.P., Y.R., A.V., F.O., C.R., B.E., L.M., E.C., and T.R. did the experiments. A.E., E.B., V.A., M.A., V.P. X.W., A.S., and M.H. collected the data. A.E., E.B., V.A., and M.H. interpreted the results and prepared the manuscript. M.H. performed RNAseq data analysis. V.A., M.A., L.T., X.W., A.S., and M.H. performed TCGA data analysis. L.M., M.-C.M., J.V.-G., and A.C. provided expertise. E.C., T.W., and A.M. helped in the design of phosphosignaling analysis by flow cytometry and mouse experiments. T.R. and P.K. provided retrospective cohorts of breast tumors. O.T.



and I.T. provided prospective breast tumor tissues. V.P., Y.R., A.M., T.W., and P.K. read the manuscript and provided valuable input. A.E., E.B., C.C., and N.B.-V. wrote the manuscript.

**Competing interests**

The authors declare no competing interests.

## Fig. titles and legends

### Fig. 1. IL-12/STAT4 signaling drives ST2 expression and polyfunctionality of human NK cells in response to IL-33

**(A)** Quantification of IFN- $\gamma$  secretion by healthy donors' blood NK cells upon stimulation with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h. Histogram bars represent the median (n = 4 individual experiments). Friedman test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**(B)** NK cells were activated for 24 h with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with IL-12 (10 ng/mL) and then co-cultured with calcein-loaded K562 target cells for 4 h at a 5:1 effector to target ratio. Calcein release in the supernatant was quantified by fluorometry to calculate lysis percentage. Results are expressed as mean + SEM (n = 9 individual experiments). One-way repeated measures ANOVA with Dunnett's multiple comparisons test against levels in medium was performed.

**(C)** NK cells were activated for 24 h with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with IL-12 (10 ng/mL) and then stained for CD25 and CD69 (black line) or corresponding isotypic control (grey). Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of CD25<sup>+</sup> or CD69<sup>+</sup> NK cells after cytokine stimulation. Symbols represent paired individual experiments (n=7). Results are expressed as mean + SEM. One-way repeated measures ANOVA with Dunnett's multiple comparisons test against levels in IL-12 was performed.

**(D)** IFN- $\gamma$  secretion by healthy donors' blood NK cells upon stimulation for 24 h with IL-33 and IL-12 (10 ng/mL each) in the presence of anti-ST2 (10  $\mu$ g/mL), anti-IL-18 (1  $\mu$ g/mL) blocking antibodies, IL-1RA antagonist (100 ng/mL) or mIgG1 control antibody (1 or 10  $\mu$ g/mL as control for anti-IL-18 or anti-ST2, respectively). Results are expressed as mean + SD and are representative of three individual experiments. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(E)** Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) analysis of *IL1RL1* (ST2) and *IL1RAcP* mRNA expression in resting or activated NK cells with IL-12, IL-33, or the combination (10 ng/mL each for 24 h). Results are expressed as mean + SEM of three individual experiments. Each symbol represents one donor. Two-tailed paired Student *t*-test was performed.

**(F)** NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) in the presence or not of lisofylline (500  $\mu$ M) for 24 h prior to ST2 surface expression analysis by flow cytometry. Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells after cytokine stimulation. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed; n = 3.

**(G)** p-STAT4 was immunoprecipitated in NK cells following activation or not with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h and p-STAT4 enrichment in *ST2* promoter region was measured by RT-qPCR analysis. *PERFORIN-*

1 (*PRF1*) and negative control sets 1 and 2 were used respectively as positive and negative controls for p-STAT4 binding. Results are expressed as mean + SEM of two individual experiments.

**Fig. 2. IL-33 strongly activates a subset of CD56<sup>dim</sup> NK cells in the presence of IL-12**

**(A)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) or not (medium) for 24 h prior to flow cytometry analysis of ST2, IL-18R1, IL-1R1 expression (grey) or corresponding isotypic control (black line). CD56 surface expression levels were used to discriminate CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells after medium or IL-12 culture. Histogram bars indicate the median. Wilcoxon matched pairs signed-rank test was performed; n = 12 experiments.

**(B)** FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells were activated with medium or IL-12 for 24 h prior to the addition of IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$ , supplemented or not with IL-12. Each cytokine was used at 10ng/mL. p65 (NF- $\kappa$ B) phosphorylation was analyzed by flow cytometry 5 min after the addition of IL-1 family cytokines. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of p-p65<sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.

**(C)** Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated for 24 h, each cytokine was used at 10 ng/mL. CD25 surface and IFN- $\gamma$  intracellular expression was analyzed by flow cytometry. CD56 surface expression levels were used to discriminate CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells. Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of CD25<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 5 experiments.

**(D)** FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells were pre-activated as indicated, labeled with CTV, and cultured in low dose IL-2 (100 UI/mL). In vitro NK cell proliferation was analyzed at day 3 for CD56<sup>bright</sup> and day 6 for CD56<sup>dim</sup> NK cells. Expansion Index (Exp. Index) and Replication Index (Rep. Index) determine the fold-expansion of the overall culture and of the responding cells only, respectively. Data shown are representative of three individual experiments.

**(E)** Supernatants from FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> (empty histogram bars) and CD56<sup>dim</sup> (filled histogram bars) NK cells were collected to quantify cytokine and chemokine release by Luminex assay. Of note, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-22, and G-CSF were not detected (not shown). Results are expressed as mean + SEM (n = 3 individual donors). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(F)** Healthy donors' blood NK cells were activated with combinations of IL-12 and IL-33 or IL-12 and IL-18 (10 ng/mL of each cytokine) for 24 h prior to flow cytometry analysis of intracellular IFN- $\gamma$  expression in NK cell subsets based on CD56 and CD57 surface expression. Results are expressed as mean +/- SEM

(n = 7 individual experiments). Two-way ANOVA with Bonferroni's multiple comparisons test was performed.

**(G)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h prior to flow cytometry analysis of ST2 expression on NK cell subsets based on CD56 and CD57 surface expression. Results are expressed as mean + SEM (n = 12 experiments). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(H)** Graphical summary of biological functions differentially regulated in CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells in response to IL-1 family cytokines (IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) when combined with IL-12.

**Fig. 3. ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells display a unique gene signature compared to CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells**

**(A)** Schematic representation of FACS sorting strategy to isolate eight different subsets sorted from healthy donors' blood NK cells based on CD56, CD57 and ST2 surface expression. Three and five subsets were obtained after activation for 24 h with medium or IL-12 respectively.

**(B)** Principal component analysis for eight FACS-sorted NK cell subsets based on expression of the top 500 most variant genes obtained from 3 individual healthy donors.

**(C)** Heatmap representing upregulated genes in each sorted NK cell subset compared to the two other NK cell subsets following IL-12 activation for 24 h (n = 3 individual healthy donors). Black squares identify specific transcriptional signatures for ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup>, ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells, and ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells.

**(D)** ssGSEA analysis of the NK signatures defined by genes specifically upregulated in each sorted NK cell subset (see Table 1) following IL-12 activation for 24 h (n = 3 individual healthy donors). Kruskal-Wallis test with Dunn multiple comparisons test was performed.

**(E)** Heatmap showing normalized expression for selected genes related to NK cell phenotype and functions.

**(F)** Sampling distribution of genes with an intermediate expression in ST2<sup>+</sup> NK cells (CD56<sup>bright</sup> > ST2<sup>+</sup> > CD56<sup>dim</sup> or CD56<sup>bright</sup> < ST2<sup>+</sup> < CD56<sup>dim</sup>) with n = 1000 random shuffling of all sample labels. p value was computed with a permutation test.

**(G)** ssGSEA analysis of selected biological pathways in each sorted NK cell subset following IL-12 activation for 24 h (n = 3 individual healthy donors).

**Fig. 4. Peripheral and tumor-infiltrating NK cells from breast cancer patients respond to the IL-33 and IL-12 combination**

**(A)** Violin plots representing the distribution of ssGSEA score for ST2<sup>+</sup> NK cells signature (233 genes, see Table 1) for tumor NK cell clusters identified from sc-RNAseq analysis of tumor-infiltrating NK cells

isolated from (left panel) melanoma patients (GSE139249) (42) and (right panel) a mouse model of lung cancer (GSE123534) (43). Kruskal-Wallis test with Dunn multiple comparisons test was performed using cluster 5 for the melanoma dataset and cluster 4 (turquoise) or cluster 7 (pink) (fig. S5) as references.

**(B)** Flow cytometry analysis of ST2 protein expression on the surface of CD56/NKp46<sup>+</sup> NK cells among PBMCs and tumor cell suspensions from breast cancer patients (n = 6). Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells. Results are expressed as mean + SEM. Paired two-tailed Student *t*-test was performed.

**(C)** PBMCs (n = 7) and tumor cell suspensions (n = 4) from breast cancer patients were activated with medium or IL-12 for 24 h prior to the addition of medium or IL-33. p65 phosphorylation was analyzed 5 min after the addition of IL-33 by flow cytometry in CD56<sup>+</sup> CD7<sup>+</sup> NK cells. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of p-p65<sup>+</sup> NK cells after IL-12 and IL-33 combination. Results are expressed as mean + SEM. Unpaired two-tailed Student *t*-test was performed with no statistically significant difference.

**(D)** PBMCs and tumor cell suspensions from breast cancer patients (n = 5) were activated as indicated (10 ng/mL of each cytokine) for 24 h prior to flow cytometry analysis of intracellular IFN- $\gamma$ . Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells. Symbols represent individual breast cancer patients and histogram bars the median. Wilcoxon matched-pairs signed rank test was performed.

**Fig. 5. The combination of IL-33 and IL-12 promotes antitumor functions in an NK-cell-dependent manner**

**(A)** WT mice were injected intra-mammary with  $2.5 \times 10^5$  E0771 cells on day 0 and then treated in the tumor area with NaCl solution (n = 6), 10 ng/mouse rmlL-12 (n = 9) or 100 ng/mouse rmlL-33 (n = 9) or in combination (n = 10) twice a week from day 2 to day 26. Primary tumor growth was monitored in mice treated with, rmlL-12, rmlL-33 or with the two cytokines. Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(B)** Kaplan-Meier survival plots of WT mice treated with NaCl, rmlL-12, rmlL-33 or the two cytokines. Mice were sacrificed when longest side of primary tumor reached 17 mm. Log-rank test was performed and the p-value is indicated for NaCl vs rmlL-12 + rmlL-33 comparison.

**(C)** Serum was retrieved from blood collected at day 5, 4 h after NaCl or cytokine injection into the peritumoral area. IFN- $\gamma$  concentration was measured by Elisa in the serum of mice treated with NaCl, rmlL-12, rmlL-33 or the two cytokines. Histogram bars represent the median. Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**(D)** WT mice were injected intra-peritoneally with NaCl or anti-NK1.1 depleting antibody prior to intramammary injection with  $2.5 \times 10^5$  E0771 cells on day 0 and then treated in the tumor area with NaCl or a combination of 10 ng/mouse rmIL-12 and 100 ng/mouse rmIL-33 twice a week from day 2 to day 23. Primary tumor growth was monitored in non-depleted WT mice treated with NaCl (n = 4) or with rmIL-12 and rmIL-33 combination (n = 5) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 5) or with rmIL-12 and rmIL-33 combination (n = 5). Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(E)** Kaplan-Meier survival plots of non-depleted WT mice treated with NaCl (n = 4) or with a combination of rmIL-12 and rmIL-33 (n = 5) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 5) or with rmIL-12 and rmIL-33 combination (n=5). Mice were sacrificed when longest side of primary tumor reached 17 mm. Log-rank test was performed and the p-value is indicated for non-depleted mice treated with rmIL-12 + rmIL-33 vs NK cell-depleted mice treated with rmIL-12 + rmIL-33.

**(F)** Serum was retrieved from blood collected at day 5, 4 h after NaCl or cytokine injection into the peritumoral area. IFN- $\gamma$  concentration was measured by ELISA in the serum of non-depleted WT mice treated with NaCl (n = 4) or with rmIL-12 and rmIL-33 combination (n = 5) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 5) or with rmIL-12 and rmIL-33 combination (n = 5). Histogram bars represent the median. Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**Fig. 6. IL-33 is expressed in tumors and downregulated during cancer progression**

**(A)** *IL33* and *IL1RL1* (ST2) gene expression in tumoral (T) (orange) and normal (N) (grey) tissues extracted from TCGA and GTEX databases (ACC: Adrenocortical carcinoma, T=77, N=128; BLCA : Bladder carcinoma, T=404, N=28; BRCA : Breast invasive carcinoma, T=1095, N=291; CESC: Cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, T=306, N=13 ; CHOL: Cholangiocarcinoma, T=36, N=9; COAD : Colorectal adenocarcinoma, T=275, N=349; DLBC: Lymphoid Neoplasm Diffuse Large B-cell Lymphoma, T=47, N=337 ; ESCA: Esophageal carcinoma, T=182, N=286 ; GBM: Glioblastoma multiforme, T=163, N=207 ; HNSC : Head and neck squamous cell carcinoma, T=519, N=44 ; KICH: Kidney Chromophobe, T=66, N=53 ; KIRC : Kidney renal clear cell carcinoma, T=523, N=100 ; KIRP: Kidney renal papillary cell carcinoma, T=286, N=60 ; LGG : Brain lower grade glioma, T=518, N=207 ; LIHC: Liver hepatocellular carcinoma, T=369, N=160 ; LUAD : Lung adenocarcinoma, T=483, N=347 ; LUSC: Lung squamous cell carcinoma, T=486, N=338 ; OV : Ovarian serous cystadenocarcinoma, T=426, N=88 ; PAAD : Pancreatic adenocarcinoma, T=179, N=171 ; PCPG: Pheochromocytoma and Paraganglioma, T=182, N=3 ; PRAD: Prostate adenocarcinoma, T=492, N=152 ; READ: Rectum adenocarcinoma, T=92, N=318 ; SARC: Sarcoma, T=262, N=2 ; SKCM : Skin cutaneous melanoma, T=461, N=558 ; STAD : Stomach adenocarcinoma, T=408, N=211 ; TGCT: Testicular Germ Cell Tumors, T=137, N=165 ; THCA : Thyroid cancer, T=512, N=337; THYM: Thymoma, T=118, N=339 ;

UCEC: Uterine Corpus Endometrial Carcinoma, T=174, N=91 ; UCS: Uterine Carcinosarcoma , T=57, N=78).

**(B)** IL-33 protein was quantified by Luminex assay in breast tumor-derived supernatants (n = 89). Kruskal-Wallis test with Dunn multiple comparisons test was performed.

**(C)** IL-33 expression was analyzed on breast tumor FFPE slides by Immunohistochemistry (IHC). Non-invasive Ductal Carcinoma *In Situ* (DCIS) and invasive Breast Cancer (IBC) lesions were identified based on anatomopathological tissue observations. Red arrows indicate blood vessels, orange arrows indicate peritumoral normal breast acini and green arrows indicate isolated stromal cells positive for IL-33 staining. Images are shown at 20x magnification. Dotted squares represent enlarges areas.

**(D)** Analysis of *IL33* expression in laser-microdissected stromal versus epithelial zones from DCIS and IBC lesions (GSE41228) (46) and in healthy mammary tissue versus DCIS and IBC (GSE21422) (47). Kruskal-Wallis test with Steel-Dwas-Fligner multiple comparisons test was performed.

**Fig. 7. An  $NK^{hi}/IL33^{hi}$  transcriptomic score is associated with improved progression-free survival**

**(A)** Boxplots display *IL33* gene expression in  $NK^{hi}$  vs  $NK^{low}$  breast cancer patients from the TCGA database. An unpaired Student *t*-test was performed.

**(B)** Summary of p-values associated with the log rank test performed to evaluate prognostic value of  $NK^{high}/IL33^{high}$ ,  $NK^{high}/IL33^{low}$  and  $NK^{low}/IL33^{high}$  scores as compared to  $NK^{low}/IL33^{low}$  in 32 human cancers from TCGA database (legend is the same as in panel A, MESO: Mesothelioma ; UVM: Uveal Melanoma were added). Results are represented as a bubble map showing positive (green) or negative (red) impact on progression-free survival. Dots size represents p-values obtained by log-rank test. An unpaired Student *t*-test was performed.

**(C)** Kaplan-Maier curves for progression-free survival for  $NK^{high}/IL33^{high}$ ,  $NK^{high}/IL33^{low}$  and  $NK^{low}/IL33^{high}$  scores as compared to  $NK^{low}/IL33^{low}$  in breast cancer dataset from TCGA. p-values were obtained with log-rank test.

**(D)** Multivariate Cox analysis of the impact of  $NK^{high}/IL33^{high}$  score on prognosis in breast cancer patients from TCGA dataset regarding the age, molecular subtype, and stage of the tumors. p-values were obtained with log-rank test.

**Tables with titles and legends**

**Table 1.** List of ST2<sup>+</sup> NK cell signature genes used in this study, Related to Fig. 3C,D,F,G, 4A

**Table 2.** List of ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup> NK cell signature genes used in this study, Related to Fig. 3C,D,F,G

**Table 3.** List of ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cell signature genes used in this study, Related to Fig. 3C,D,F,G

**Table 4.** List of NK cell signature genes used in this study (from (48)), Related to Fig. 7A-D, fig. S9E

## Materials and Methods

### Animals and in vivo tumor models.

C57BL/6J mice were purchased from Charles River Laboratories. *Rag2*-KO mice were bred and maintained at the P-PAC animal facility of the Cancer Research Center of Lyon, under specific pathogen-free conditions in accordance with all standards of animal care. Experiments were conducted with female mice aged between 8-12 weeks. All animal experiments were approved by the ethics committee (approval number CECCAPP-CLB-2019-017). Mice were orthotopically injected into the 4<sup>th</sup> mammary fat pad with  $5 \times 10^4$  or  $2.5 \times 10^5$  E0771 tumor cells in 200  $\mu$ L of sterile NaCl at day 0. For NK cell depletion experiments, mice were injected intra-peritoneally with 200  $\mu$ g/mouse of anti-NK1.1 antibody (BioXcell) or an equivalent volume of NaCl solution one day prior to tumor cell injection and then once a week. To evaluate NK cell depletion efficiency, mice were treated with tetracaine analgesic eye drops and maintained under anesthesia using isoflurane to perform retro-orbital blood collection. Blood NK cell frequency was measured by flow cytometry. For therapeutic experiments, mice were injected with 10 ng/mouse of rIL-12 (R&D) or 100 ng/mouse of rIL-33 (Biolegend) alone or in combination in 50  $\mu$ L directly in the tumor area twice a week from day 2 to day 26. Control mice were injected with an equal volume of NaCl solution. Tumor sizes were monitored with a digital caliper (Mitutoyo) twice a week and expressed as volume of a sphere ( $(\text{smaller length})^2 \times \text{longer length}$ ) from day 9 to the end of experiments. Mice were sacrificed when longer length of the primary tumor reached  $> 17 \text{ mm}^2$ . All cells were tested for mycoplasma prior to injection using MycoAlert kit (Lonza). For serum collection, blood was collected as described above on day 5, 4 h after cytokine injection. Blood was then incubated at room temperature for 30 min to allow coagulation, centrifuged at 15,000rpm for 15 min and the serum was collected and aliquoted for preservation at  $-80^\circ\text{C}$  and IFN- $\gamma$  quantification.

### Tumor cell lines.

The mouse E0771 (derived from a spontaneous triple negative mammary tumor that arose in a C57BL/6 mouse) and the human K562 (originally generated from a female leukemia patient) cell lines were cultured in RPMI-1640 (Sigma) supplemented with 10% FCS (GIBCO), 2mM L-glutamine, and 100 U/ml penicillin/streptomycin (ThermoFisher).

### Human breast tumors and blood.

Fresh tumors and blood samples (collected in EDTA anticoagulant-containing tubes) from breast cancer patients were provided by the tissue bank of CLB (BB-0033-00050, CRB-CLB, Lyon, France, French agreement number: AC-2019-3426), after approval from the institutional review board and



ethics committee (L-06-36) and patient written informed consent, in accordance with the Declaration of Helsinki. Healthy donor (HD) blood samples were obtained from the 'Etablissement Français du Sang' (Lyon). Next-generation tissue microarray (ngTMA<sup>®</sup>) ([www.ngtma.com](http://www.ngtma.com)) (69) generated from human breast tumors was provided by the Tissue Bank Bern and approved by the Cantonal Ethics Committee of Bern (200/2014 and 2018-01502).

#### **Human peripheral blood NK cell isolation and culture.**

Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) were isolated from whole blood of healthy donors by density gradient centrifugation on Lymphocyte Separation Medium (Eurobio). Total NK cells were purified from PBMCs by negative immune-selection using the Human NK cell isolation kit (Miltenyi) following the manufacturer's instructions and purity always exceeded 95%. Cells were cultured in RPMI GlutaMAX/10% FBS/1% penicillin-streptomycin (complete RPMI, cRPMI). Human PB NK cells were cultured in cRPMI supplemented with IL-12 (Miltenyi), IL-15 (Peprotech), IL-2 (Chiron), IFN- $\alpha$ 2b (Schering-Plough), IL-1 $\alpha$  (Peprotech), IL-1 $\beta$  (Peprotech), IL-18 (MBL) or IL-33 (Miltenyi) at concentrations indicated in Fig. legends. Anti-NKp46 and NKp30 agonist antibodies (R&D) were coated (1  $\mu$ g/mL) in NUNC 96-well plates (Thermofisher) overnight at 4°C. For blocking experiments, cells were incubated with anti-ST2 (10  $\mu$ g/mL, R&D), anti-IL-18 (1  $\mu$ g/mL, MBL), mIgG1 (1 or 10  $\mu$ g/mL, R&D) antibodies or IL-1RA (100 ng/mL, Peprotech).

#### **Human peripheral blood NK cell sorting**

For RNA-seq analysis, MACS-purified total NK cells were stained with antibodies for CD3, CD56, CD16, CD57 (see table S1) as previously described, FACS sorted using a FACS Aria II (BD), and collected in cRPMI. Cell viability was determined by DAPI staining (1  $\mu$ g/mL, Invitrogen).

#### **Preparation of single cell suspensions from human breast tumor tissue**

Sections of the resected tumor area selected by the pathologists were placed in RPMI supplemented with 100 IU/mL penicillin (Invitrogen) and 100  $\mu$ g/mL streptomycin (Invitrogen). Tissues were mechanically disrupted, supernatant was collected and frozen for subsequent cytokine and chemokine quantification by Luminex assay following the manufacturer's instructions. Tumor pieces were then digested for 45 min at 37°C in RPMI supplemented with 100 IU/mL penicillin (Invitrogen) and 100  $\mu$ g/mL streptomycin (Invitrogen) using 1 mg/mL of collagenase IV (Sigma Aldrich) and 20  $\mu$ g/mL of DNase I (Sigma Aldrich). Digested samples were then filtered on a 70  $\mu$ m cell strainer and re-suspended in cRPMI for activation and flow cytometric analysis.

### **Ex vivo stimulation of mouse splenic NK cells**

Single-cell suspensions were prepared from spleens from C57BL/6J mice (CharlesRiver) after red blood cell lysis with Pharm Lyse™ lysing buffer (BD Biosciences). Splenocytes were activated in cRPMI supplemented with IL-12 (Miltenyi), IL-1α (Miltenyi), IL-1β (Miltenyi), IL-18 (MBL) or IL-33 (Miltenyi) for 24 hr. Cells were surface stained for surface markers, fixed, and permeabilized, followed by intracellular staining of IFN-γ.

### **Flow cytometry**

Cells were stained for the expression of surface markers using antibodies listed in table S1 for 30 min at 4°C. Cell viability was determined using Zombie dye (Biolegend) following the manufacturer's instructions. For intracellular IFN-γ staining, GolgiPlug (BD Bioscience) was added to culture media 4 h prior to the staining. Cells were stained for the expression of surface markers as previously described, fixed and permeabilized using FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set (eBioscience) prior to intracellular staining for 30 min at 4°C. Cells were washed twice with PBS before acquisition on a LSRII Fortessa flow cytometer (BD Biosciences). Results were analyzed using FlowJo software (Tree Star Inc.).

### **Phosphorylation flow cytometry analysis**

For p-STAT4 analysis, NK cells were activated or not with IL-12 (0.1 ng/mL; 1 ng/mL or 10 ng/mL) for 1 h. For p-NF-κB, p-p38 and p-S6 analysis, NK cells were activated or not with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h. When indicated, IL-1 family members were added during 5min for p-NF-κB and p-p38 and 1 h for p-S6 analysis. Cells were then fixed with Lyse/Fix Buffer (BD Biosciences) for 10 min at 37°C and permeabilized with Perm Buffer III (BD Biosciences) for 30 min on ice following the manufacturer's instructions. Cells were then stained for 45 min at room temperature, washed, and directly acquired on a Fortessa cytometer (Becton Dickinson) as previously described.

### **Killing assay**

PB NK cells were activated with IL-1 family members (10 ng/mL) alone or in combination with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h and washed 3 times. K562 cells were labeled with calcein (Invitrogen) at 10 μL/mL in cRPMI for 30 min at 37°C, washed twice, and fixed with sulfinpyrazone (4 mM, Sigma-Aldrich). NK cells were incubated with K562 target cells at indicated effector:target ratios for 4 h à 37°C. Calcein release was measured using Clariostar (Labtech) and the percentage of specific lysis was calculated as followed: % of lysis =  $((Fluo_{measured} - Fluo_{spontaneous\ release}) / ((Fluo_{max} - Fluo_{spontaneous\ release})) \times 100$

### **Proliferation assay**

NK cells were stained with 5  $\mu$ M Cell Trace Violet (CTV) (Invitrogen) for 20 min at room temperature, washed twice, and activated with IL-1 family members (10 ng/mL) with or without IL-12 (10 ng/mL) for 24 h in RPMI supplemented with 20% human AB serum. After three washes, IL-2 (100 UI/mL, Chiron) was added and CTV signal was analyzed by flow cytometry on day 3 and 6 for CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup>, respectively.

### **IFN- $\gamma$ ELISAs**

Human IFN- $\gamma$  levels were measured in culture supernatants using the human IFN- $\gamma$  ELISA kit (R&D) following the manufacturer's instructions. Mouse IFN- $\gamma$  levels were measured in serum using the Extra Sensitive IFN gamma Mouse ELISA Kit (ThermoFischer) following the manufacturer's instructions.

### **Luminex immunoassay**

Culture supernatants of activated NK cells were harvested to perform IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-8, CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP-1 $\beta$ ), CCL5 (RANTES), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-22, and G-CSF quantification using a human Bio-plex PRO assay (Biorad) following the manufacturer's instructions and acquired with the Luminex200 instrument (Luminex).

### **mRNA isolation and quantitative PCR**

Total RNA extraction was performed using NucleoSpin RNA Kit (Macherey-Nagel) following the manufacturer's instructions. Reverse transcription was performed with the iScript Reverse Transcription kit (BioRad) using 350 ng total RNA extract. Real Time quantitative PCR (RT-qPCR) analysis was performed using TaqMan gene expression assay with *ST2* and *IL-1RAcP* specific primers (Hs00249384\_m1 and Hs00895050\_m1 respectively, Life Technologies). Normalization of *ST2* expression was performed using *GADD45a* (Hs00169255\_m1, Life Technologies) expression.

### ***ST2* promoter region analysis**

The human *ST2* gene sequence was obtained from Gen-Bank and then submitted to Eukaryotic Promoter Databank (EPD)(70) to identify the promoter region. Putative binding sites for transcription factors in the *ST2*-regulating region were identified using the PROMO database (71).

### **p-STAT4 Chromatin Immunoprecipitation (Ch-IP)**

PB NK cells were stimulated or not with IL-12 as previously described and Ch-IP was performed using ChIP-IT PBMCs Kit (Active Motif) according to the manufacturer's instructions. Briefly, cells were cross-linked with 1% formaldehyde then sonicated on ice for 6 min (6 cycles of 1 min; 30 s on / 30 s off) at

4°C using a water bath-sonicator (Diagenode). Chromatin fragments were reverse cross-linked overnight at 65°C, and 500 ng of each input DNA was run on a 1% agarose gel to confirm that fragment size ranged between 200 and 1500 bp. p-STAT4 immunoprecipitation was performed overnight at 4°C using anti-p-STAT4 antibody (Cell signaling). p-STAT4 immunoprecipitation was validated by Western blot using pre- and post-immunoprecipitated samples stained with anti-p-STAT4 (Cell Signaling). Isolated DNA fragments were purified and quantitative PCR analysis was performed using 1 µg of DNA as template. Primers for *ST2* promoter region were extracted from(72) and we used *PRF1* (Cell Signaling) and Negative Primer Set 1 and 2 (Active Motif) as positive and negative controls for p-STAT4 binding (see table S1 for sequences). The Ct Value of each sample was normalized to input DNA fraction and fold-change for p-STAT4 binding was calculated using  $\Delta\Delta\text{Ct}$  method. qPCR analysis was conducted in triplicate for each sample.

### **RNA-seq**

PB NK cells were FACS-sorted as described above. 400,000 cells from each population were resuspended in 350 µL TCL lysis buffer (Qiagen) supplemented with 1 %  $\beta$ -mercaptoethanol. Total RNA extraction was performed using the Single Cell RNA Purification Kit (Norgen) following the manufacturer's instructions, including an additional treatment with rDNase (Qiagen) to avoid DNA contamination. RNA quality was addressed using 4200 TapeStation (Agilent) automated electrophoresis with RIN always exceeding 8, and total RNA was quantified using Qubit™4 Fluorometer (ThermoFischer). Reverse transcription and DNA amplification was performed with SmartSeqV4 (Takara) using 10 ng of RNA as template. DNA library was prepared with Nextera XT DNA library Prep kit (Illumina), hybridized on NovaSeqS1 Flow cell and sequenced on NovaSeq sequencing platform (Illumina) with a paired-end protocol. Raw sequencing reads were aligned on the human genome (GRCh38) with STAR (v2.7.3a) and the annotation of known genes from gencode v33. Gene expression was quantified using Salmon (v1.1.0) and the annotation of protein coding genes from gencode v33.

### **RNA-seq bioinformatics analysis**

All analyses were performed in R programming language (v3.6.3). DESeq2 (v1.26.0) was used to normalize raw counts, to generate principal component analysis (PCA) plots based on the 500 most variable genes and to identify differentially-expressed genes (DEGs). To identify NK subset signatures, DEGs between one subset and the two other subsets of NK cells were filtered considering a log2 fold change (LFC) > 1 and an adjusted p-value < 0.001, resulting in 234 genes enriched in *ST2*<sup>+</sup>, 396 genes enriched in *CD56*<sup>dim</sup> and 418 genes enriched in *CD56*<sup>bright</sup> NK cells. These signatures were scored by ssGSEA using the GSVA package. The Morpheus tool (Broad Institute) was used to generate a heatmap representing the relative expression of these DEGs, using an unsupervised hierarchical clustering of

genes and samples based on the one minus Pearson correlation metric. To evaluate the intermediate state of ST2<sup>+</sup> NK cells compared with CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells, DEGs between one subset and the two other subsets of NK cells were filtered considering a log<sub>2</sub> fold change (LFC) > 1 and an adjusted p-value < 0.05. The Morpheus tool (Broad Institute) was used to generate a heatmap representing their relative expression. For this heatmap, genes were classified as follows: upregulated DEGs in CD56<sup>bright</sup> NK cells (n = 828 genes), downregulated DEGs in CD56<sup>dim</sup> NK cells (n = 1,348 genes), upregulated DEGs in ST2<sup>+</sup> NK cells (n = 547 genes), downregulated DEGs in CD56<sup>bright</sup> NK cells (n = 1,009 genes) and upregulated DEGs in CD56<sup>dim</sup> NK cells (n = 1,024 genes). Intermediate transcriptional profile of ST2<sup>+</sup> NK cells was validated using a permutation resampling strategy. Briefly, among all genes differentially expressed between CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells, the observed number of genes with an intermediate expression in ST2<sup>+</sup> NK cells (CD56<sup>bright</sup> > ST2<sup>+</sup> > CD56<sup>dim</sup> or CD56<sup>bright</sup> < ST2<sup>+</sup> < CD56<sup>dim</sup>) was evaluated and compared to a sampling distribution obtained after n = 1000 permutations of sample labels. p value was computed with a permutation statistical test.

### **Analysis of cancer patient data**

Upper-quartile normalized expression (UQN) and clinical outcome datasets from The Cancer Genome Atlas (TCGA) were downloaded from the [Pan-Cancer Atlas](https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga) (<https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>) for 33 tumor types: adrenocortical carcinoma (ACC), bladder urothelial carcinoma (BLCA), breast invasive carcinoma (BRCA), cervical carcinoma (CESC), cholangiosarcoma (CHOL), colorectal adenocarcinoma (COAD), diffuse large B-cell lymphoma (DLBC), esophageal carcinoma (ESCA), glioblastoma multiforme (GBM), head and neck squamous cell carcinoma (HNSC), kidney chromophobe carcinoma (KICH), kidney clear renal cell carcinoma (KIRC), kidney papillary cell carcinoma (KIRP), lower grade glioma (LGG), liver hepatocellular carcinoma (LIHC), lung adenocarcinoma (LUAD), lung squamous cell carcinoma (LUSC), mesothelioma (MESO), ovarian serous cystadenocarcinoma (OV), pancreatic adenocarcinoma (PAAD), paraganglioma & pheochromocytoma (PCPG), prostate adenocarcinoma (PRAD), rectum adenocarcinoma (READ), sarcoma (SARC), skin cutaneous metastatic melanoma (SKCM), stomach adenocarcinoma (STAD), testicular germ cell cancer (TGCT), thyroid carcinoma (THCA), thymoma (THYM), uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC), uterine carcinosarcoma (UCS) and uveal melanoma (UVM) to compare gene expression in tumor *versus* peritumoral healthy tissue. For breast cancer analysis, tumors were further stratified according to their molecular subtype to analyze IL-33 log<sub>2</sub> (RSEM+1) normalized expression and clinical impact. Overall survival analyses and plots were performed with R software v 3.6.0, using the packages survival and survminer. For each gene, patients were stratified into terciles according to normalized gene expression levels in log<sub>2</sub> (RSEM+1) to compare top (*i.e.* high) and bottom (*i.e.* low) terciles. The log-rank test was used to determine statistical significance for overall survival

between the two groups of patients. For multivariate analysis in the breast cancer dataset, a cox model including the main prognostic factors (age, molecular subtype and stage) was used. Gender was removed from the model due to the low number of males in the study.

### **IL-33 immunohistochemistry on FFPE human breast tumor ngTMA**

IL-33 staining was performed automatically using a BOND RX autostainer (Leica Biosystems). Sections were first deparaffinized and antigen was retrieved using Tris buffer (pH 9.0) for 30 min at 95°C. Sections were then stained with goat anti-human IL-33 (R&D Systems, # AF3625; dilution of 1:400 for 30 min) primary antibody. A rabbit anti-goat antibody (Agilent, # E0466) was used as secondary antibody, at a dilution of 1:400 for 15 min. Specific binding of primary antibodies was visualized using a polymer-based visualization system with horseradish peroxidase as the enzyme and 3,3'-diaminobenzidine (DAB) as a brown chromogen for IL-33. Sections were counterstained with hematoxylin, dehydrated and mounted with Tissue-Tek Glas Mounting Medium (Sakura). Slides were scanned in high resolution on whole slide scanners Panoramic 250 Flash (3DHISTECH) or NanoZoomer S360 (Hamamatsu).

### **Data analysis and statistics**

Statistical analyses were performed using the GraphPad software and tests conducted are indicated in the Fig. legends. P-values lower than 0.05 were considered to be significant, with stars corresponding to \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  and \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . If no stars are indicated, no statistically significant difference was found.

### **Data Availability**

The bulk RNA-seq data generated during this study are deposited in Gene Expression Omnibus repository (GEO) with accession number GEO: GSE199134. The raw and processed data are publicly available as of the date of publication. Accession numbers are listed in the table S1. This paper does not report original code. The RNA-seq data from laser-microdissected stromal versus epithelial zones from DCIS and IBC lesions (46, 47) and from healthy mammary tissue versus DCIS and IBC (46, 47) were downloaded from GEO with accession number GEO: GSE41228 and GSE21422 respectively. The scRNA-seq data derived from NK cells infiltrating human melanoma metastases (42) and mouse lung tumors (43) were downloaded from GEO with accession number GEO: GSE139249 and GSE123534, respectively. The Cancer Genome Atlas data were downloaded from Firehose (<https://gdac.broadinstitute.org/>). Genes Signatures used in this study are listed in Tables 1-3.

## List of Supplementary Materials

Fig. S1. IL-33 in combination with IL-12 strongly activates NK cell secretory and cytotoxic functions

Fig. S2. IL-12 induces ST2 expression on a subset of NK cells in a STAT4-dependent manner

Fig. S3. IL-33 preferentially activates a subset of CD56<sup>dim</sup> NK cells

Fig. S4. ST2<sup>+</sup> NK cells display a unique gene signature compared to CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells

Fig. S5. Unsupervised clustering of sc-RNAseq datasets

Fig. S6. Gating strategy to identify NK cells in tumor cell suspensions by flow cytometry

Fig. S7 | IL-12 sensitizes mouse splenic NK cells to the production of IFN- $\gamma$  in response to IL-33

Fig. S8. Antitumoral effect of IL-33 and IL-12 combination is dependent on NK cells in *Rag2*-KO mice

Fig. S9. IL-33 is associated with increased overall patient survival for several cancers

Table S1. Reagent and resources table

## References

1. E. Vivier, E. Tomasello, M. Baratin, T. Walzer, S. Ugolini, Functions of natural killer cells. *Nat. Immunol.* **9**, 503–510 (2008).
2. A. G. Freud, B. L. Mundy-Bosse, J. Yu, M. A. Caligiuri, The Broad Spectrum of Human Natural Killer Cell Diversity. *Immunity* **47**, 820–833 (2017).
3. A. Poli, T. Michel, M. Thérésine, E. Andrès, F. Hentges, J. Zimmer, CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology* **126**, 458–465 (2009).
4. C. Lo Nigro, M. Macagno, D. Sangiolo, L. Bertolaccini, M. Aglietta, M. C. Merlano, NK-mediated antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in solid tumors: biological evidence and clinical perspectives. *Ann Transl Med* **7** (2019), doi:10.21037/atm.2019.01.42.
5. C. Romagnani, K. Juelke, M. Falco, B. Morandi, A. D’Agostino, R. Costa, G. Ratto, G. Forte, P. Carrega, G. Lui, R. Conte, T. Strowig, A. Moretta, C. Münz, A. Thiel, L. Moretta, G. Ferlazzo, CD56brightCD16- killer Ig-like receptor-NK cells display longer telomeres and acquire features of CD56dim NK cells upon activation. *J. Immunol.* **178**, 4947–4955 (2007).
6. N. D. Huntington, N. Legrand, N. L. Alves, B. Jaron, K. Weijer, A. Plet, E. Corcuff, E. Mortier, Y. Jacques, H. Spits, J. P. Di Santo, IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation in vivo. *J. Exp. Med.* **206**, 25–34 (2009).
7. J. Yu, H. C. Mao, M. Wei, T. Hughes, J. Zhang, I. Park, S. Liu, S. McClory, G. Marcucci, R. Trotta, M. A. Caligiuri, CD94 surface density identifies a functional intermediary between the CD56bright and CD56dim human NK-cell subsets. *Blood* **115**, 274–281 (2010).
8. N. K. Björkström, P. Riese, F. Heuts, S. Andersson, C. Fauriat, M. A. Ivarsson, A. T. Björklund, M. Flodström-Tullberg, J. Michaëlsson, M. E. Rottenberg, C. A. Guzmán, H.-G. Ljunggren, K.-J. Malmberg, Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56dim NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education. *Blood* **116**, 3853–3864 (2010).
9. S. Lopez-Vergès, J. M. Milush, S. Pandey, V. A. York, J. Arakawa-Hoyt, H. Pircher, P. J. Norris, D. F. Nixon, L. L. Lanier, CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56dimCD16+ NK-cell subset. *Blood* **116**, 3865–3874 (2010).
10. T. E. O’Sullivan, J. C. Sun, L. L. Lanier, Natural Killer Cell Memory. *Immunity* **43**, 634–645 (2015).
11. S. J. Judge, W. J. Murphy, R. J. Canter, Characterizing the Dysfunctional NK Cell: Assessing the Clinical Relevance of Exhaustion, Anergy, and Senescence. *Front Cell Infect Microbiol* **10**, 49 (2020).
12. A. Crinier, P. Milpied, B. Escalière, C. Piperoglou, J. Galluso, A. Balsamo, L. Spinelli, I. Cervera-Marzal, M. Ebbo, M. Girard-Madoux, S. Jaeger, E. Bollon, S. Hamed, J. Hardwigsen, S. Ugolini, F. Vély, E. Narni-Mancinelli, E. Vivier, High-Dimensional Single-Cell Analysis Identifies Organ-Specific Signatures and Conserved NK Cell Subsets in Humans and Mice. *Immunity* **49**, 971-986.e5 (2018).
13. P. L. Collins, M. Cella, S. I. Porter, S. Li, G. L. Gurewitz, H. S. Hong, R. P. Johnson, E. M. Oltz, M. Colonna, Gene Regulatory Programs Conferring Phenotypic Identities to Human NK Cells. *Cell* **176**, 348-360.e12 (2019).



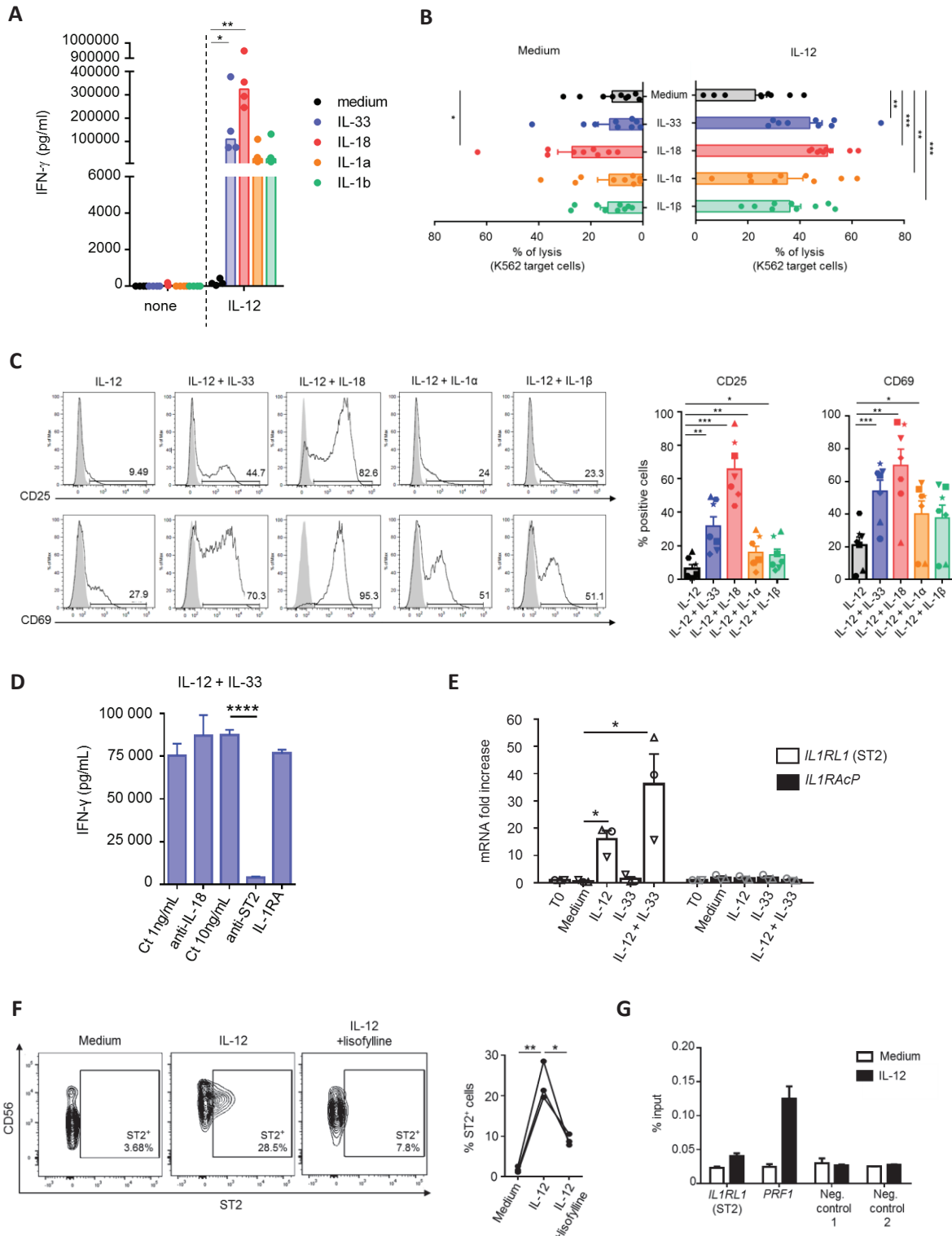
14. C. M. Lau, N. M. Adams, C. D. Geary, O.-E. Weizman, M. Rapp, Y. Pritykin, C. S. Leslie, J. C. Sun, Epigenetic control of innate and adaptive immune memory. *Nat. Immunol.* **19**, 963–972 (2018).
15. J. A. Myers, J. S. Miller, Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol* **18**, 85–100 (2021).
16. N. D. Huntington, J. Cursons, J. Rautela, The cancer–natural killer cell immunity cycle. *Nat Rev Cancer* **20**, 437–454 (2020).
17. D. H. Raulet, N. Guerra, Oncogenic stress sensed by the immune system: role of natural killer cell receptors. *Nat Rev Immunol* **9**, 568–580 (2009).
18. S. Rusakiewicz, M. Semeraro, M. Sarabi, M. Desbois, C. Locher, R. Mendez, N. Vimond, A. Concha, F. Garrido, N. Isambert, L. Chaigneau, V. Le Brun-Ly, P. Dubreuil, I. Cremer, A. Caignard, V. Poirier-Colame, K. Chaba, C. Flament, N. Halama, D. Jäger, A. Eggermont, S. Bonvalot, F. Commo, P. Terrier, P. Opolon, J.-F. Emile, J.-M. Coindre, G. Kroemer, N. Chaput, A. Le Cesne, J.-Y. Blay, L. Zitvogel, Immune infiltrates are prognostic factors in localized gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res.* **73**, 3499–3510 (2013).
19. K. C. Barry, J. Hsu, M. L. Broz, F. J. Cueto, M. Binnewies, A. J. Combes, A. E. Nelson, K. Loo, R. Kumar, M. D. Rosenblum, M. D. Alvarado, D. M. Wolf, D. Bogunovic, N. Bhardwaj, A. I. Daud, P. K. Ha, W. R. Ryan, J. L. Pollack, B. Samad, S. Asthana, V. Chan, M. F. Krummel, A natural killer-dendritic cell axis defines checkpoint therapy-responsive tumor microenvironments. *Nat. Med.* **24**, 1178–1191 (2018).
20. J. Cursons, F. Souza-Fonseca-Guimaraes, M. Foroutan, A. Anderson, F. Hollande, S. Hadiyah-Zadeh, A. Behren, N. D. Huntington, M. J. Davis, A Gene Signature Predicting Natural Killer Cell Infiltration and Improved Survival in Melanoma Patients. *Cancer Immunol Res* **7**, 1162–1174 (2019).
21. B. Cózar, M. Greppi, S. Carpentier, E. Narni-Mancinelli, L. Chiossone, E. Vivier, Tumor-Infiltrating Natural Killer Cells. *Cancer Discov* (2020), doi:10.1158/2159-8290.CD-20-0655.
22. G. Trinchieri, M. Matsumoto-Kobayashi, S. C. Clark, J. Sehra, L. London, B. Perussia, Response of resting human peripheral blood natural killer cells to interleukin 2. *J. Exp. Med.* **160**, 1147–1169 (1984).
23. M. Kobayashi, L. Fitz, M. Ryan, R. M. Hewick, S. C. Clark, S. Chan, R. Loudon, F. Sherman, B. Perussia, G. Trinchieri, Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J. Exp. Med.* **170**, 827–845 (1989).
24. W. E. Carson, J. G. Giri, M. J. Lindemann, M. L. Linett, M. Ahdieh, R. Paxton, D. Anderson, J. Eisenmann, K. Grabstein, M. A. Caligiuri, Interleukin (IL) 15 is a novel cytokine that activates human natural killer cells via components of the IL-2 receptor. *J. Exp. Med.* **180**, 1395–1403 (1994).
25. H. Okamura, H. Tsutsi, T. Komatsu, M. Yutsudo, A. Hakura, T. Tanimoto, K. Torigoe, T. Okura, Y. Nukada, K. Hattori, Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature* **378**, 88–91 (1995).
26. L. Müller, P. Aigner, D. Stoiber, Type I Interferons and Natural Killer Cell Regulation in Cancer. *Front Immunol* **8**, 304 (2017).
27. G. M. Konjević, A. M. Vuletić, K. M. Mirjačić Martinović, A. K. Larsen, V. B. Jurišić, The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment. *Cytokine* **117**, 30–40 (2019).
28. C. Garlanda, C. A. Dinarello, A. Mantovani, The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity* **39**, 1003–1018 (2013).

29. C. Cayrol, J.-P. Girard, Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunological Reviews* **281**, 154–168 (2018).
30. F. Y. Liew, J.-P. Girard, H. R. Turnquist, Interleukin-33 in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* **16**, 676–689 (2016).
31. W. Kuswanto, D. Burzyn, M. Panduro, K. K. Wang, Y. C. Jang, A. J. Wagers, C. Benoist, D. Mathis, Poor Repair of Skeletal Muscle in Aging Mice Reflects a Defect in Local, Interleukin-33-Dependent Accumulation of Regulatory T Cells. *Immunity* **44**, 355–367 (2016).
32. L. D. Faustino, J. W. Griffith, R. A. Rahimi, K. Nepal, D. L. Hamilos, J. L. Cho, B. D. Medoff, J. J. Moon, D. A. A. Vignali, A. D. Luster, Interleukin-33 activates regulatory T cells to suppress innate  $\gamma\delta$  T cell responses in the lung. *Nat Immunol* **21**, 1371–1383 (2020).
33. M. D. Smithgall, M. R. Comeau, B.-R. Park Yoon, D. Kaufman, R. Armitage, D. E. Smith, IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK Cells. *Int Immunol* **20**, 1019–1030 (2008).
34. W. V. Bonilla, A. Fröhlich, K. Senn, S. Kallert, M. Fernandez, S. Johnson, M. Kreutzfeldt, A. N. Hegazy, C. Schrick, P. G. Fallon, R. Klemenz, S. Nakae, H. Adler, D. Merkler, M. Löhning, D. D. Pinschewer, The Alarmin Interleukin-33 Drives Protective Antiviral CD8+ T Cell Responses. *Science* **335**, 984–989 (2012).
35. J. T. Clark, D. A. Christian, J. A. Gullicksrud, J. A. Perry, J. Park, M. Jacquet, J. C. Tarrant, E. Radaelli, J. Silver, C. A. Hunter, G. T. Belz, C. V. Rothlin, M. R. Starkey, Eds. IL-33 promotes innate lymphoid cell-dependent IFN- $\gamma$  production required for innate immunity to *Toxoplasma gondii*. *eLife* **10**, e65614 (2021).
36. G. K. Dwyer, L. M. D’Cruz, H. R. Turnquist, Emerging Functions of IL-33 in Homeostasis and Immunity. *Annual Review of Immunology* **40**, null (2022).
37. G. Trinchieri, Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology* **3**, 133–146 (2003).
38. J. Schmitz, A. Owyang, E. Oldham, Y. Song, E. Murphy, T. K. McClanahan, G. Zurawski, M. Moshrefi, J. Qin, X. Li, D. M. Gorman, J. F. Bazan, R. A. Kastelein, IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* **23**, 479–490 (2005).
39. D. E. Ochayon, A. Ali, P. C. Alarcon, D. Krishnamurthy, L. C. Kottyan, M. T. Borchers, S. N. Waggoner, IL-33 promotes type 1 cytokine expression via p38 MAPK in human NK cells. *J. Leukoc. Biol.* (2020), doi:10.1002/JLB.3A0120-379RR.
40. R. J. Salmond, A. S. Mirchandani, A.-G. Besnard, C. C. Bain, N. C. Thomson, F. Y. Liew, IL-33 induces innate lymphoid cell-mediated airway inflammation by activating mammalian target of rapamycin. *J Allergy Clin Immunol* **130**, 1159-1166.e6 (2012).
41. N. K. Björkström, H.-G. Ljunggren, J. Michaëlsson, Emerging insights into natural killer cells in human peripheral tissues. *Nat Rev Immunol* **16**, 310–320 (2016).
42. L. F. de Andrade, Y. Lu, A. Luoma, Y. Ito, D. Pan, J. W. Pyrdol, C. H. Yoon, G.-C. Yuan, K. W. Wucherpfennig, Discovery of specialized NK cell populations infiltrating human melanoma metastases. *JCI Insight* **4**, 133103 (2019).

43. J. Ni, X. Wang, A. Stojanovic, Q. Zhang, M. Wincher, L. Bühler, A. Arnold, M. P. Correia, M. Winkler, P.-S. Koch, V. Sexl, T. Höfer, A. Cerwenka, Single-Cell RNA Sequencing of Tumor-Infiltrating NK Cells Reveals that Inhibition of Transcription Factor HIF-1 $\alpha$  Unleashes NK Cell Activity. *Immunity* **52**, 1075-1087.e8 (2020).
44. M. M. Tu, M. M. A. Rahim, C. Sayed, A. B. Mahmoud, A. P. Makrigiannis, Immunosurveillance and Immunoediting of Breast Cancer via Class I MHC Receptors. *Cancer Immunol Res* **5**, 1016–1028 (2017).
45. C. Moussion, N. Ortega, J.-P. Girard, The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel “alarmin”? *PLoS ONE* **3**, e3331 (2008).
46. S. Lee, S. Stewart, I. Nagtegaal, J. Luo, Y. Wu, G. Colditz, D. Medina, D. C. Allred, Differentially expressed genes regulating the progression of ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer. *Cancer Res* **72**, 4574–4586 (2012).
47. C. Kretschmer, A. Sterner-Kock, F. Siedentopf, W. Schoenegg, P. M. Schlag, W. Kemmner, Identification of early molecular markers for breast cancer. *Molecular Cancer* **10**, 15 (2011).
48. J. P. Böttcher, E. Bonavita, P. Chakravarty, H. Blees, M. Cabeza-Cabrerizo, S. Sammicheli, N. C. Rogers, E. Sahai, S. Zelenay, C. Reis e Sousa, NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. *Cell* **172**, 1022-1037.e14 (2018).
49. C. Baumann, W. V. Bonilla, A. Fröhlich, C. Helmstetter, M. Peine, A. N. Hegazy, D. D. Pinschewer, M. Löhning, T-bet- and STAT4-dependent IL-33 receptor expression directly promotes antiviral Th1 cell responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **112**, 4056–4061 (2015).
50. M. Nakahira, H.-J. Ahn, W.-R. Park, P. Gao, M. Tomura, C.-S. Park, T. Hamaoka, T. Ohta, M. Kurimoto, H. Fujiwara, Synergy of IL-12 and IL-18 for IFN- $\gamma$  gene expression: IL-12-induced STAT4 contributes to IFN- $\gamma$  promoter activation by up-regulating the binding activity of IL-18-induced activator protein 1. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* **168**, 1146–53 (2002).
51. A. Mavropoulos, G. Sully, A. P. Cope, A. R. Clark, Stabilization of IFN- $\gamma$  mRNA by MAPK p38 in IL-12- and IL-18-stimulated human NK cells. *Blood* **105**, 282–288 (2005).
52. M. Fang, Y. Li, K. Huang, S. Qi, J. Zhang, W. Zgodzinski, M. Majewski, G. Wallner, S. Gozdz, P. Macek, A. Kowalik, M. Pasiarski, E. Grywalska, L. Vatan, N. Nagarsheth, W. Li, L. Zhao, I. Kryczek, G. Wang, Z. Wang, W. Zou, L. Wang, IL33 Promotes Colon Cancer Cell Stemness via JNK Activation and Macrophage Recruitment. *Cancer Res.* **77**, 2735–2745 (2017).
53. D. E. Ochayon, A. Ali, P. C. Alarcon, D. Krishnamurthy, L. C. Kottyan, M. T. Borchers, S. N. Waggoner, IL-33 promotes type 1 cytokine expression via p38 MAPK in human NK cells. *J Leukoc Biol* **107**, 663–671 (2020).
54. C. T. Lutz, A. Karapetyan, A. Al-Attar, B. J. Shelton, K. J. Holt, J. H. Tucker, S. R. Presnell, Human natural killer cells proliferate and die in vivo more rapidly than T cells in healthy young and elderly adults. *J Immunol* **186**, 4590–4598 (2011).
55. I. Hamann, N. Unterwalder, A. E. Cardona, C. Meisel, F. Zipp, R. M. Ransohoff, C. Infante-Duarte, Analyses of phenotypic and functional characteristics of CX3CR1-expressing natural killer cells. *Immunology* **133**, 62–73 (2011).
56. J. Hanna, P. Bechtel, Y. Zhai, F. Youssef, K. McLachlan, O. Mandelboim, Novel insights on human NK cells' immunological modalities revealed by gene expression profiling. *J. Immunol.* **173**, 6547–6563 (2004).

57. M. Hubert, E. Gobbi, C. Couillault, T.-P. V. Manh, A.-C. Doffin, J. Berthet, C. Rodriguez, V. Ollion, J. Kielbassa, C. Sajous, I. Treilleux, O. Tredan, B. Dubois, M. Dalod, N. Bendriss-Vermare, C. Caux, J. Valladeau-Guilemond, IFN-III is selectively produced by cDC1 and predicts good clinical outcome in breast cancer. *Sci Immunol* **5** (2020), doi:10.1126/sciimmunol.aav3942.
58. L. Zitvogel, G. Kroemer, CD103+ dendritic cells producing interleukin-12 in anticancer immunosurveillance. *Cancer Cell* **26**, 591–593 (2014).
59. D. Mittal, D. Vijayan, E. M. Putz, A. R. Aguilera, K. A. Markey, J. Straube, S. Kazakoff, S. L. Nutt, K. Takeda, G. R. Hill, N. Waddell, M. J. Smyth, Interleukin-12 from CD103+ Batf3-Dependent Dendritic Cells Required for NK-Cell Suppression of Metastasis. *Cancer Immunol Res* **5**, 1098–1108 (2017).
60. Y. O. Alexandre, S. Ghilas, C. Sanchez, A. Le Bon, K. Crozat, M. Dalod, XCR1+ dendritic cells promote memory CD8+ T cell recall upon secondary infections with *Listeria monocytogenes* or certain viruses. *Journal of Experimental Medicine* **213**, 75–92 (2015).
61. S. M. Brunner, C. Rubner, R. Kesselring, M. Martin, E. Griesshammer, P. Ruemmele, T. Stempf, A. Teufel, H. J. Schlitt, S. Fichtner-Feigl, Tumor-infiltrating, interleukin-33-producing effector-memory CD8(+) T cells in resected hepatocellular carcinoma prolong patient survival. *Hepatology* **61**, 1957–1967 (2015).
62. I. Saranchova, J. Han, H. Huang, F. Fenninger, K. B. Choi, L. Munro, C. Pfeifer, I. Welch, A. W. Wyatt, L. Fazli, M. E. Gleave, W. A. Jefferies, Discovery of a Metastatic Immune Escape Mechanism Initiated by the Loss of Expression of the Tumour Biomarker Interleukin-33. *Sci Rep* **6**, 30555 (2016).
63. M. Rössle, G. Cathomas, L. Bonapace, M. Sachs, S. Dehler, M. Storz, G. Huber, H. Moch, T. Junt, K. D. Mertz, Interleukin-33 Expression Indicates a Favorable Prognosis in Malignant Salivary Gland Tumors. *Int. J. Surg. Pathol.* **24**, 394–400 (2016).
64. M. Yang, Y. Feng, C. Yue, B. Xu, L. Chen, J. Jiang, B. Lu, Y. Zhu, Lower expression level of IL-33 is associated with poor prognosis of pulmonary adenocarcinoma. *PLOS ONE* **13**, e0193428 (2018).
65. R. Koster, O. A. Panagiotou, W. A. Wheeler, E. Karlins, J. M. Gastier-Foster, S. R. Caminada de Toledo, A. S. Petrilli, A. M. Flanagan, R. Tirabosco, I. L. Andrulis, J. S. Wunder, N. Gokgoz, A. Patiño-Garcia, F. Lecanda, M. Serra, C. Hattinger, P. Picci, K. Scotlandi, D. M. Thomas, M. L. Ballinger, R. Gorlick, D. A. Barkauskas, L. G. Spector, M. Tucker, D. H. Belynda, M. Yeager, R. N. Hoover, S. Wacholder, S. J. Chanock, S. A. Savage, L. Mirabello, Genome-wide association study identifies the GLDC/IL33 locus associated with survival of osteosarcoma patients. *Int. J. Cancer* **142**, 1594–1601 (2018).
66. X. Gao, X. Wang, Q. Yang, X. Zhao, W. Wen, G. Li, J. Lu, W. Qin, Y. Qi, F. Xie, J. Jiang, C. Wu, X. Zhang, X. Chen, H. Turnquist, Y. Zhu, B. Lu, Tumoral expression of IL-33 inhibits tumor growth and modifies the tumor microenvironment through CD8+ T and NK cells. *J. Immunol.* **194**, 438–445 (2015).
67. A. Long, D. Dominguez, L. Qin, S. Chen, J. Fan, M. Zhang, D. Fang, Y. Zhang, T. M. Kuzel, B. Zhang, Type 2 Innate Lymphoid Cells Impede IL-33–Mediated Tumor Suppression. *The Journal of Immunology* (2018), doi:10.4049/jimmunol.1800173.
68. L. Qi, Q. Zhang, Y. Miao, W. Kang, Z. Tian, D. Xu, W. Xiao, F. Fang, Interleukin-33 activates and recruits natural killer cells to inhibit pulmonary metastatic cancer development. *Int. J. Cancer* **146**, 1421–1434 (2020).

69. C. Laedrach, B. Salhia, N. Cihoric, I. Zlobec, C. Tapia, Immunophenotypic profile of tumor buds in breast cancer. *Pathol Res Pract* **214**, 25–29 (2018).
70. R. Dreos, G. Ambrosini, R. C. Périer, P. Bucher, The Eukaryotic Promoter Database: expansion of EPDnew and new promoter analysis tools. *Nucleic Acids Res* **43**, D92-96 (2015).
71. D. Farré, R. Roset, M. Huerta, J. E. Adsuara, L. Roselló, M. M. Albà, X. Messeguer, Identification of patterns in biological sequences at the ALGGEN server: PROMO and MALGEN. *Nucleic Acids Research* **31**, 3651–3653 (2003).
72. Y. Baba, K. Maeda, T. Yashiro, E. Inage, K. Kasakura, R. Suzuki, F. Niyonsaba, M. Hara, A. Tanabe, H. Ogawa, K. Okumura, Y. Ohtsuka, T. Shimizu, C. Nishiyama, GATA2 is a critical transactivator for the human IL1RL1/ST2 promoter in mast cells/basophils: opposing roles for GATA2 and GATA1 in human IL1RL1/ST2 gene expression. *J. Biol. Chem.* **287**, 32689–32696 (2012).



**Fig. 1. IL-12/STAT-4 signaling drives ST2 expression and polyfunctionality of human NK cells in response to IL-33**

**(A)** Quantification of IFN- $\gamma$  secretion by healthy donors' blood NK cells upon stimulation with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h. Histogram bars

represent the median (n = 4 individual experiments). Friedman test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**(B)** NK cells were activated for 24 h with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with IL-12 (10 ng/mL) and then co-cultured with calcein-loaded K562 target cells for 4 h at a 5:1 effector to target ratio. Calcein release in the supernatant was quantified by fluorometry to calculate lysis percentage. Results are expressed as mean + SEM (n = 9 individual experiments). One-way repeated measures ANOVA with Dunnett's multiple comparisons test against levels in medium was performed.

**(C)** NK cells were activated for 24 h with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with IL-12 (10 ng/mL) and then stained for CD25 and CD69 (black line) or corresponding isotypic control (grey). Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of CD25<sup>+</sup> or CD69<sup>+</sup> NK cells after cytokine stimulation. Symbols represent paired individual experiments (n=7). Results are expressed as mean + SEM. One-way repeated measures ANOVA with Dunnett's multiple comparisons test against levels in IL-12 was performed.

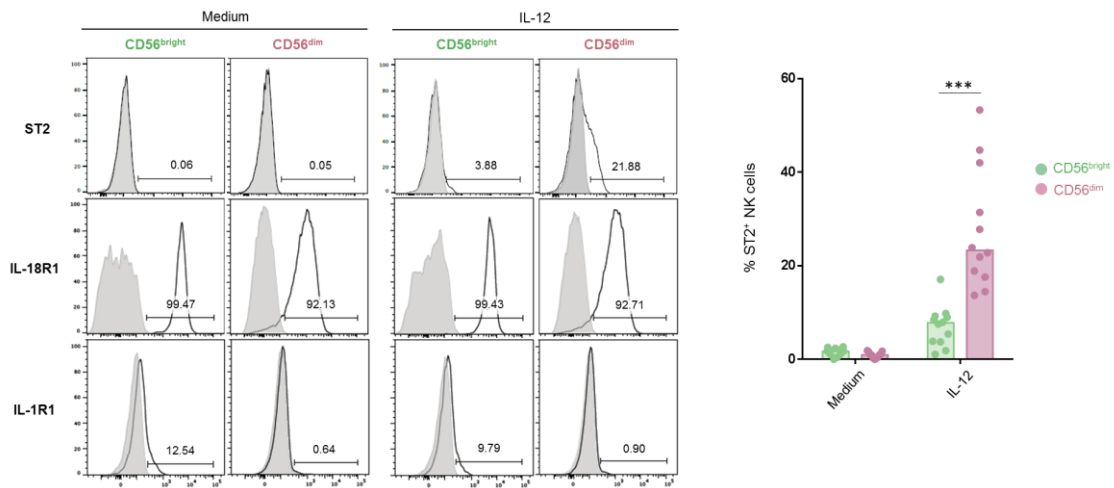
**(D)** IFN- $\gamma$  secretion by healthy donors' blood NK cells upon stimulation for 24 h with IL-33 and IL-12 (10 ng/mL each) in the presence of anti-ST2 (10  $\mu$ g/mL), anti-IL-18 (1  $\mu$ g/mL) blocking antibodies, IL-1RA antagonist (100 ng/mL) or mIgG1 control antibody (1 or 10  $\mu$ g/mL as control for anti-IL-18 or anti-ST2, respectively). Results are expressed as mean + SD and are representative of three individual experiments. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(E)** Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) analysis of *IL1RL1* (ST2) and *IL1RAC1* mRNA expression in resting or activated NK cells with IL-12, IL-33, or the combination (10 ng/mL each for 24 h). Results are expressed as mean + SEM of three individual experiments. Each symbol represents one donor. Two-tailed paired Student *t*-test was performed.

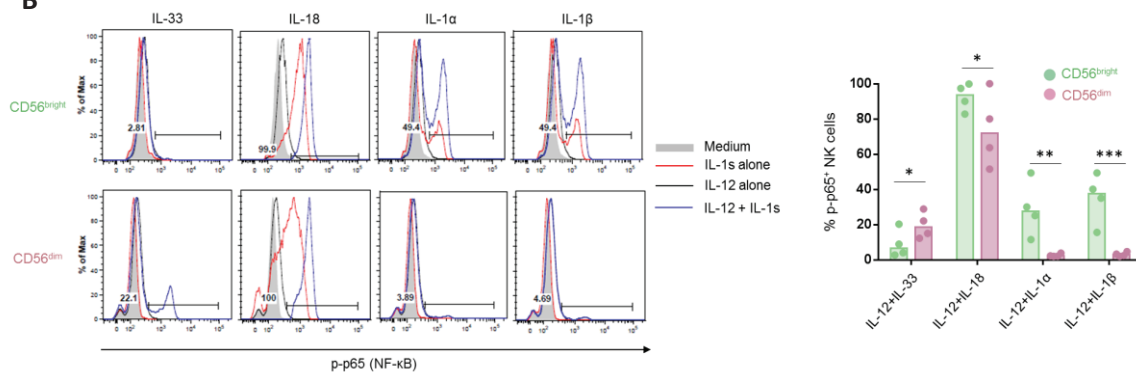
**(F)** NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) in the presence or not of lisofylline (500  $\mu$ M) for 24 h prior to ST2 surface expression analysis by flow cytometry. Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells after cytokine stimulation. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed; n = 3.

**(G)** p-STAT4 was immunoprecipitated in NK cells following activation or not with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h and p-STAT4 enrichment in ST2 promoter region was measured by RT-qPCR analysis. *PERFORIN-1* (*PRF1*) and negative control sets 1 and 2 were used respectively as positive and negative controls for p-STAT4 binding. Results are expressed as mean + SEM of two individual experiments.

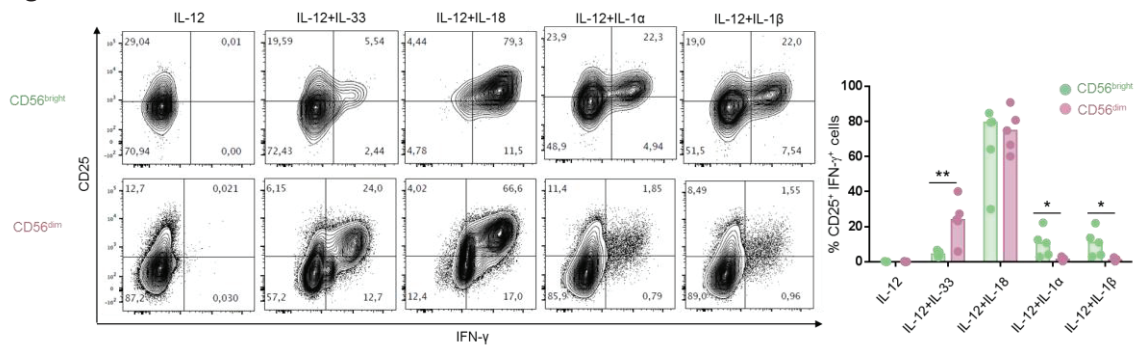
**A**



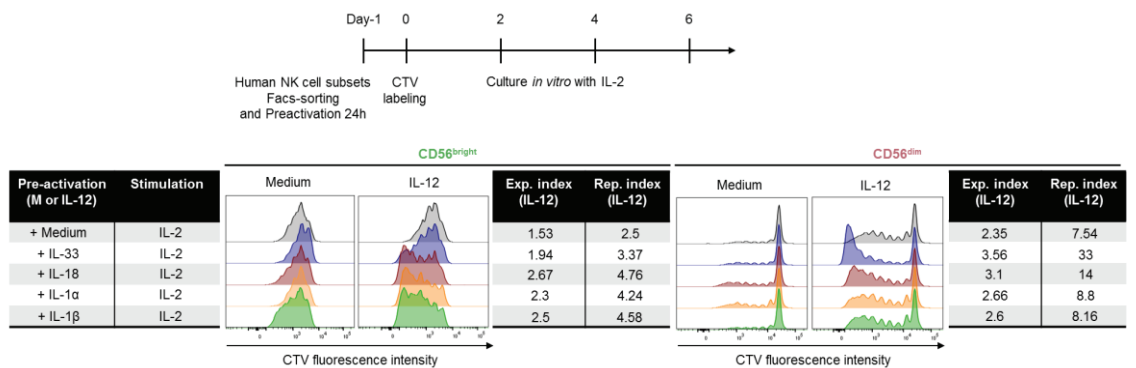
**B**



**C**

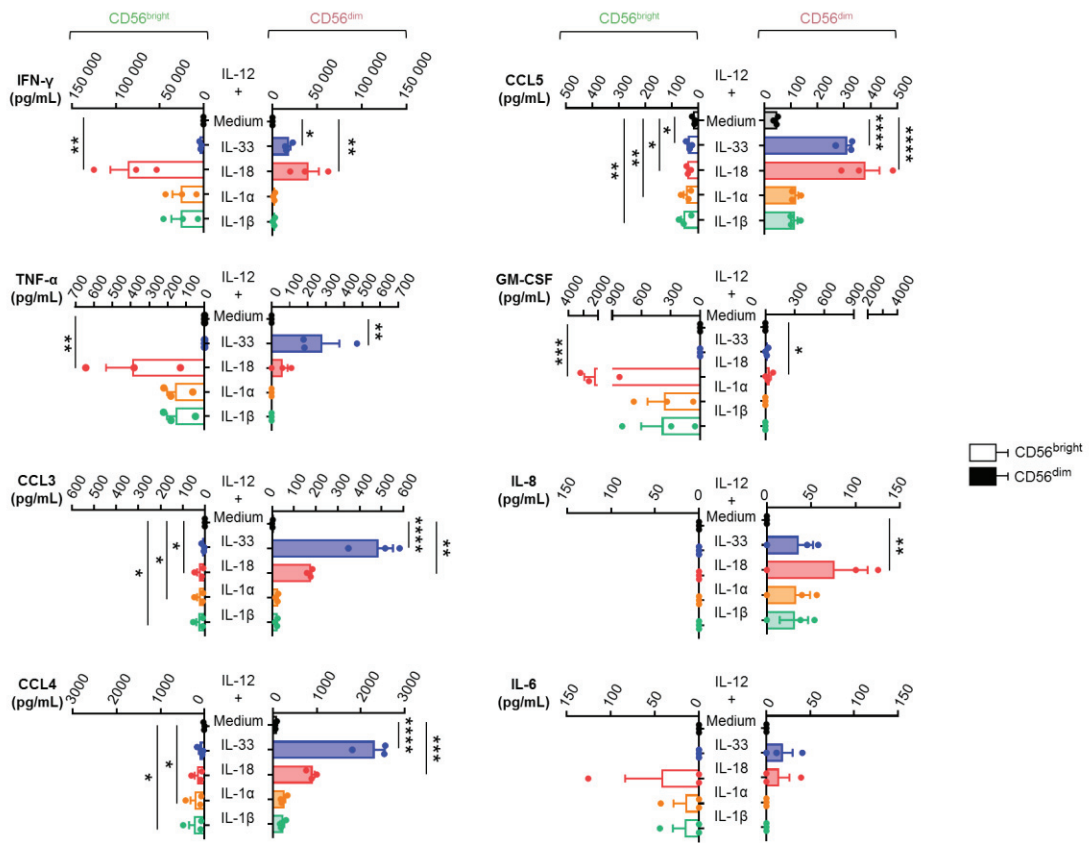


**D**

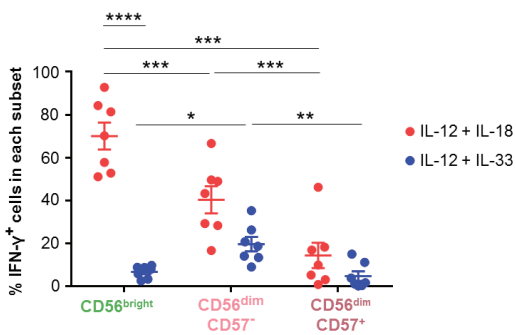




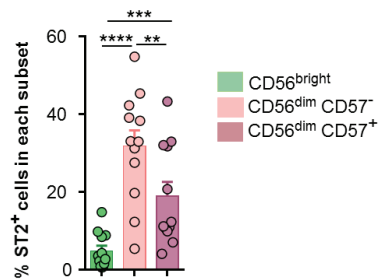
**E**



**F**



**G**



**H**



**Fig. 2. IL-33 strongly activates a subset of CD56<sup>dim</sup> NK cells in the presence of IL-12**

**(A)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) or not (medium) for 24 h prior to flow cytometry analysis of ST2, IL-18R1, IL-1R1 expression (grey) or corresponding isotypic control (black line). CD56 surface expression levels were used to discriminate CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells after medium or IL-12 culture. Histogram bars indicate the median. Wilcoxon matched pairs signed-rank test was performed; n = 12 experiments.

**(B)** FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells were activated with medium or IL-12 for 24 h prior to the addition of IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$ , supplemented or not with IL-12. Each cytokine was used at 10ng/mL. p65 (NF- $\kappa$ B) phosphorylation was analyzed by flow cytometry 5 min after the addition of IL-1 family cytokines. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of p-p65<sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.

**(C)** Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated for 24 h, each cytokine was used at 10 ng/mL. CD25 surface and IFN- $\gamma$  intracellular expression was analyzed by flow cytometry. CD56 surface expression levels were used to discriminate CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells. Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of CD25<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 5 experiments.

**(D)** FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells were pre-activated as indicated, labeled with CTV, and cultured in low dose IL-2 (100 UI/mL). *In vitro* NK cell proliferation was analyzed at day 3 for CD56<sup>bright</sup> and day 6 for CD56<sup>dim</sup> NK cells. Expansion Index (Exp. Index) and Replication Index (Rep. Index) determine the fold-expansion of the overall culture and of the responding cells only, respectively. Data shown are representative of three individual experiments.

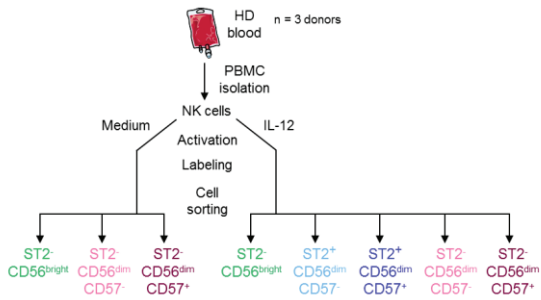
**(E)** Supernatants from FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> (empty histogram bars) and CD56<sup>dim</sup> (filled histogram bars) NK cells were collected to quantify cytokine and chemokine release by Luminex assay. Of note, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-22, and G-CSF were not detected (not shown). Results are expressed as mean + SEM (n = 3 individual donors). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(F)** Healthy donors' blood NK cells were activated with combinations of IL-12 and IL-33 or IL-12 and IL-18 (10 ng/mL of each cytokine) for 24 h prior to flow cytometry analysis of intracellular IFN- $\gamma$  expression in NK cell subsets based on CD56 and CD57 surface expression. Results are expressed as mean +/- SEM (n = 7 individual experiments). Two-way ANOVA with Bonferroni's multiple comparisons test was performed.

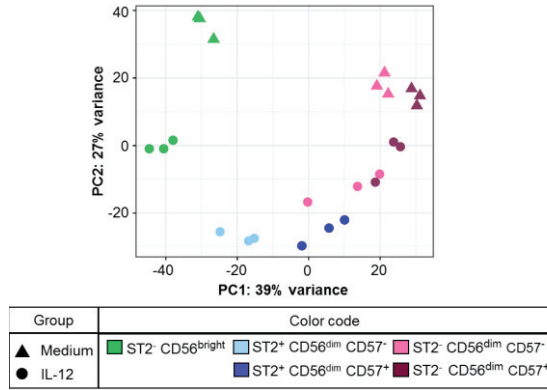
**(G)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) for 24 h prior to flow cytometry analysis of ST2 expression on NK cell subsets based on CD56 and CD57 surface expression. Results are expressed as mean + SEM (n = 12 experiments). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(H)** Graphical summary of biological functions differentially regulated in CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells in response to IL-1 family cytokines (IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) when combined with IL-12.

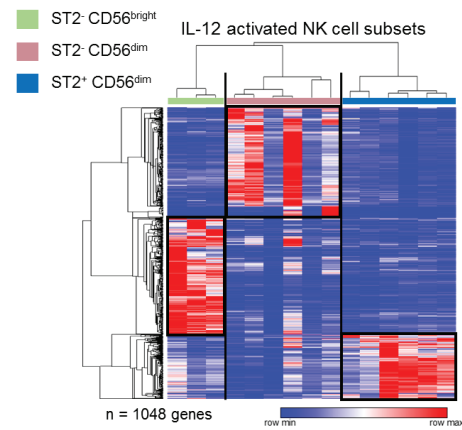
**A**



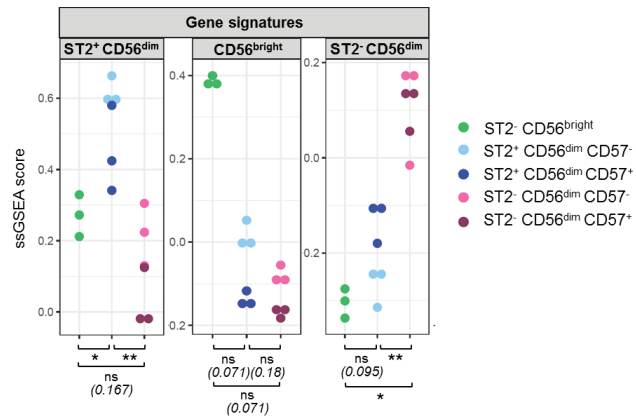
**B**



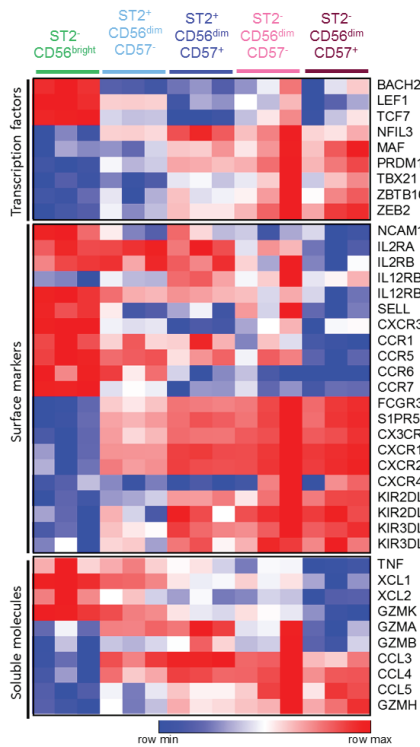
**C**



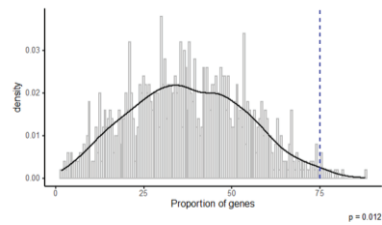
**D**



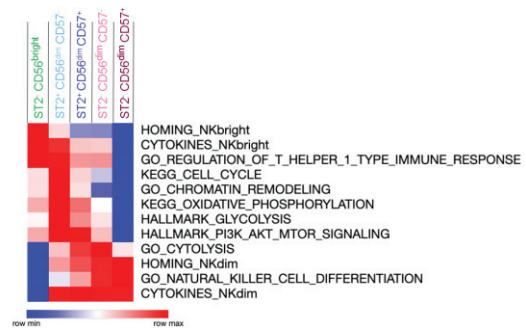
**E**



**F**



**G**



**Fig. 3. ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells display a unique gene signature compared to CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells**

**(A)** Schematic representation of FACS sorting strategy to isolate eight different subsets sorted from healthy donors' blood NK cells based on CD56, CD57 and ST2 surface expression. Three and five subsets were obtained after activation for 24 h with medium or IL-12 respectively.

**(B)** Principal component analysis for eight FACS-sorted NK cell subsets based on expression of the top 500 most variant genes obtained from 3 individual healthy donors.

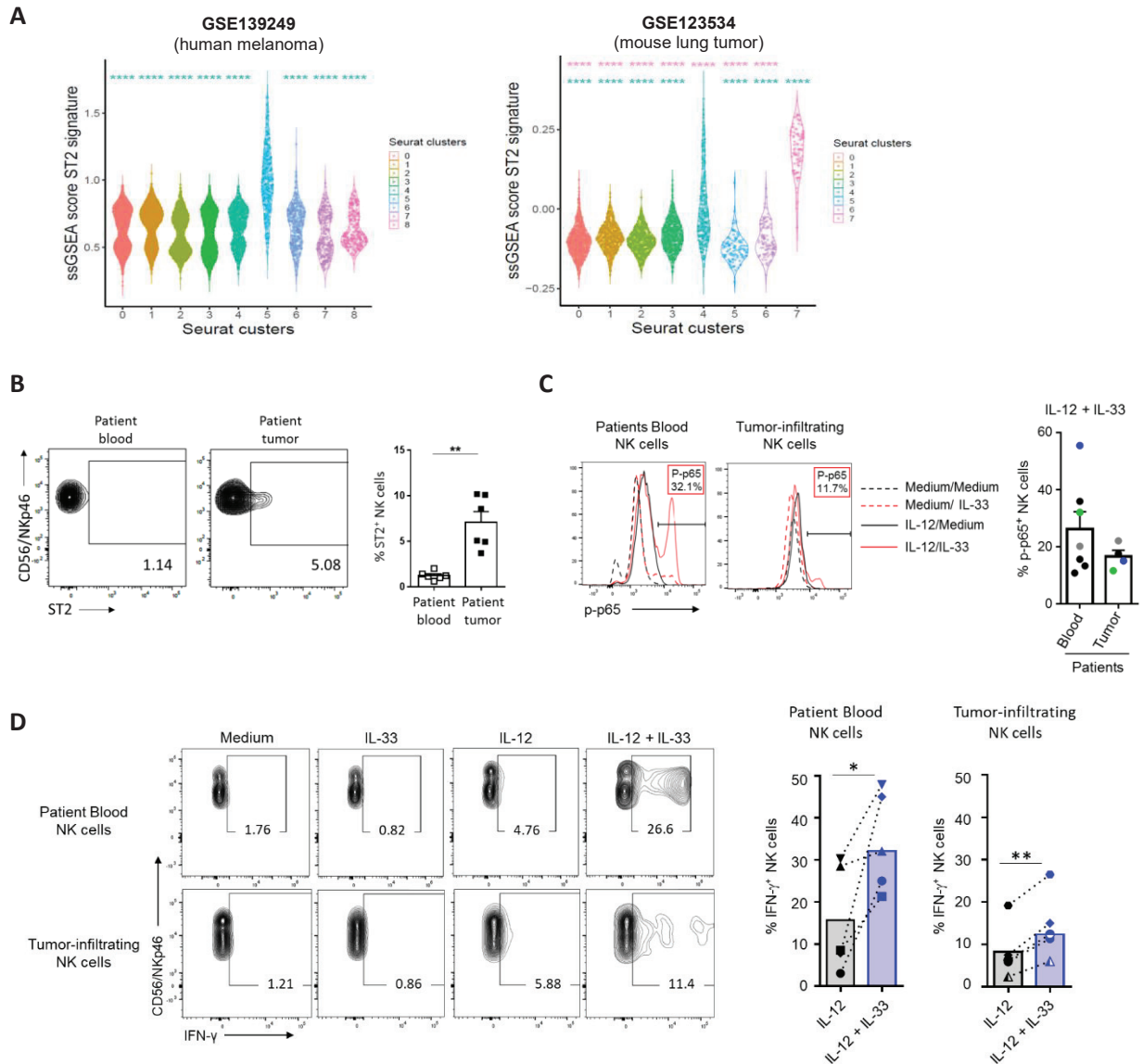
**(C)** Heatmap representing upregulated genes in each sorted NK cell subset compared to the two other NK cell subsets following IL-12 activation for 24 h (n = 3 individual healthy donors). Black squares identify specific transcriptional signatures for ST2<sup>-</sup> CD56<sup>bright</sup>, ST2<sup>-</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells, and ST2<sup>+</sup> CD56<sup>dim</sup> NK cells.

**(D)** ssGSEA analysis of the NK signatures defined by genes specifically upregulated in each sorted NK cell subset (see Table 1) following IL-12 activation for 24 h (n = 3 individual healthy donors). Kruskal-Wallis test with Dunn multiple comparisons test was performed.

**(E)** Heatmap showing normalized expression for selected genes related to NK cell phenotype and functions.

**(F)** Sampling distribution of genes with an intermediate expression in ST2<sup>+</sup> NK cells (CD56<sup>bright</sup> > ST2<sup>+</sup> > CD56<sup>dim</sup> or CD56<sup>bright</sup> < ST2<sup>+</sup> < CD56<sup>dim</sup>) with n = 1000 random shuffling of all sample labels. p value was computed with a permutation test.

**(G)** ssGSEA analysis of selected biological pathways in each sorted NK cell subset following IL-12 activation for 24 h (n = 3 individual healthy donors).



**Fig. 4. Peripheral and tumor-infiltrating NK cells from breast cancer patients respond to the IL-33 and IL-12 combination**

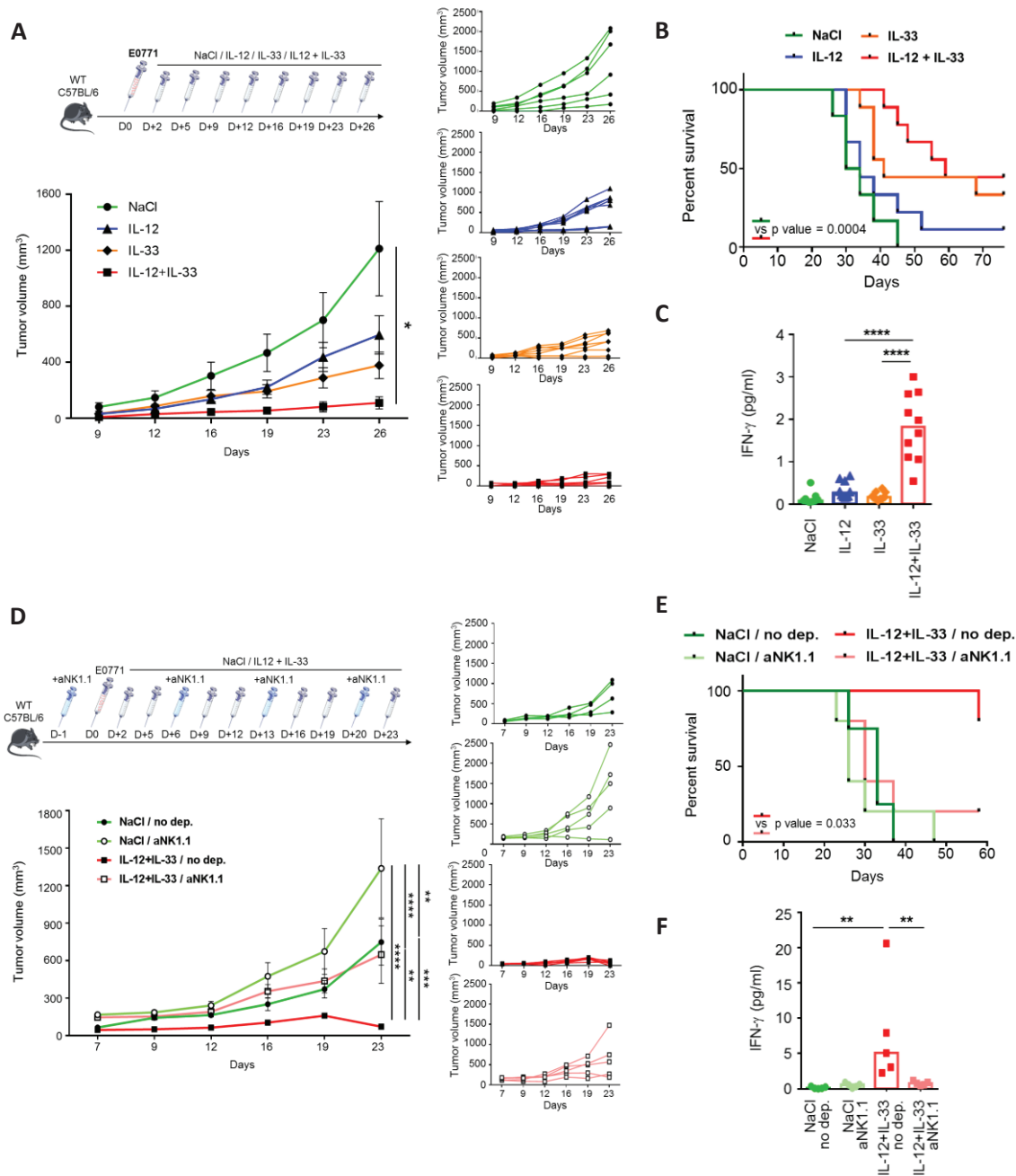
**(A)** Violin plots representing the distribution of ssGSEA score for ST2<sup>+</sup> NK cells signature (233 genes, see Table 1) for tumor NK cell clusters identified from sc-RNAseq analysis of tumor-infiltrating NK cells isolated from (left panel) melanoma patients (GSE139249) (42) and (right panel) a mouse model of lung cancer (GSE123534) (43). Kruskal-Wallis test with Dunn multiple comparisons test was performed using cluster 5 for the melanoma dataset and cluster 4 (turquoise) or cluster 7 (pink) (fig.S5) as references.

**(B)** Flow cytometry analysis of ST2 protein expression on the surface of CD56/NKp46<sup>+</sup> NK cells among PBMCs and tumor cell suspensions from breast cancer patients (n = 6). Representative dot plots (left)

and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells. Results are expressed as mean + SEM. Paired two-tailed Student *t*-test was performed.

**(C)** PBMCs (n = 7) and tumor cell suspensions (n = 4) from breast cancer patients were activated with medium or IL-12 for 24 h prior to the addition of medium or IL-33. p65 phosphorylation was analyzed 5 min after the addition of IL-33 by flow cytometry in CD56<sup>+</sup> CD7<sup>+</sup> NK cells. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of p-p65<sup>+</sup> NK cells after IL-12 and IL-33 combination. Results are expressed as mean + SEM. Unpaired two-tailed Student *t*-test was performed with no statistically significant difference.

**(D)** PBMCs and tumor cell suspensions from breast cancer patients (n = 5) were activated as indicated (10 ng/mL of each cytokine) for 24 h prior to flow cytometry analysis of intracellular IFN- $\gamma$ . Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells. Symbols represent individual breast cancer patients and histogram bars the median. Wilcoxon matched-pairs signed rank test was performed.



**Fig. 5. The combination of IL-33 and IL-12 promotes antitumor functions in an NK-cell-dependent manner**

**(A)** WT mice were injected intra-mammary with  $2.5 \times 10^5$  E0771 cells on day 0 and then treated in the tumor area with NaCl solution (n = 6), 10 ng/mouse rIL-12 (n = 9) or 100 ng/mouse rIL-33 (n = 9) or in combination (n = 10) twice a week from day 2 to day 26. Primary tumor growth was monitored in mice treated with, rIL-12, rIL-33 or with the two cytokines. Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(B)** Kaplan-Meier survival plots of WT mice treated with NaCl, rmlL-12, rmlL-33 or the two cytokines. Mice were sacrificed when longest side of primary tumor reached 17 mm. Log-rank test was performed and the p-value is indicated for NaCl vs rmlL-12 + rmlL-33 comparison.

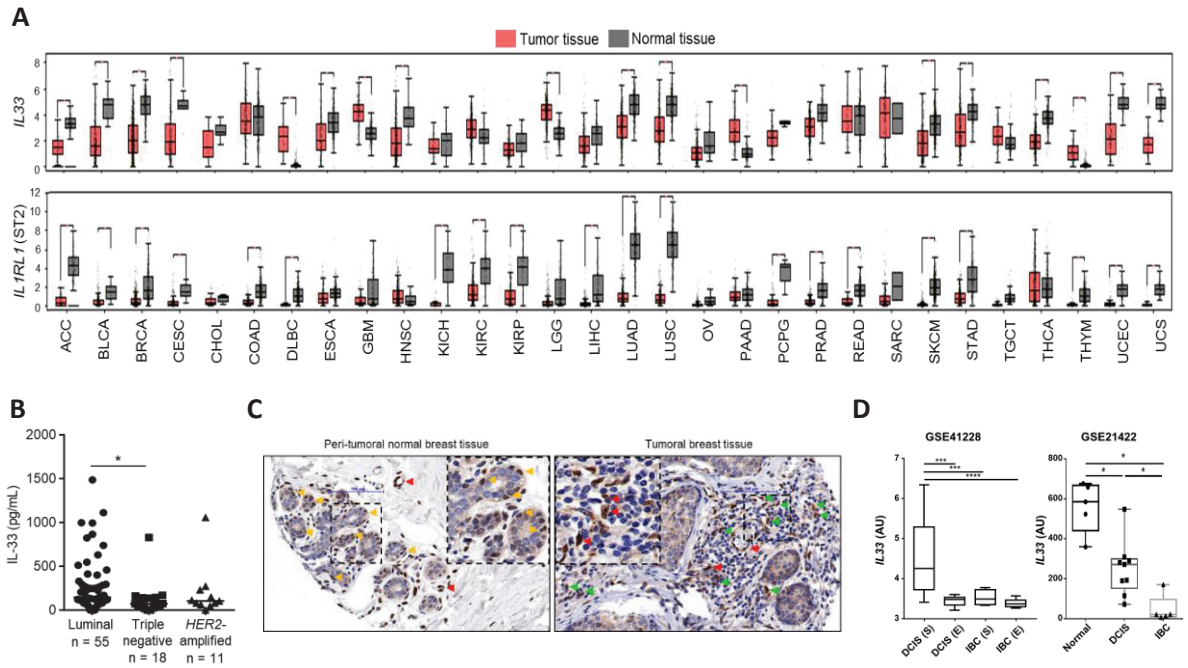
**(C)** Serum was retrieved from blood collected at day 5, 4 h after NaCl or cytokine injection into the peritumoral area. IFN- $\gamma$  concentration was measured by Elisa in the serum of mice treated with NaCl, rmlL-12, rmlL-33 or the two cytokines. Histogram bars represent the median. Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**(D)** WT mice were injected intra-peritoneally with NaCl or anti-NK1.1 depleting antibody prior to intramammary injection with  $2.5 \times 10^5$  E0771 cells on day 0 and then treated in the tumor area with NaCl or a combination of 10 ng/mouse rmlL-12 and 100 ng/mouse rmlL-33 twice a week from day 2 to day 23. Primary tumor growth was monitored in non-depleted WT mice treated with NaCl (n = 4) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 5) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 5) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 5). Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(E)** Kaplan-Meier survival plots of non-depleted WT mice treated with NaCl (n = 4) or with a combination of rmlL-12 and rmlL-33 (n = 5) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 5) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n=5). Mice were sacrificed when longest side of primary tumor reached 17 mm. Log-rank test was performed and the p-value is indicated for non-depleted mice treated with rmlL-12 + rmlL-33 vs NK cell-depleted mice treated with rmlL-12 + rmlL-33.

**(F)** Serum was retrieved from blood collected at day 5, 4 h after NaCl or cytokine injection into the peritumoral area. IFN- $\gamma$  concentration was measured by ELISA in the serum of non-depleted WT mice treated with NaCl (n = 4) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 5) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 5) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 5). Histogram bars represent the median. Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.





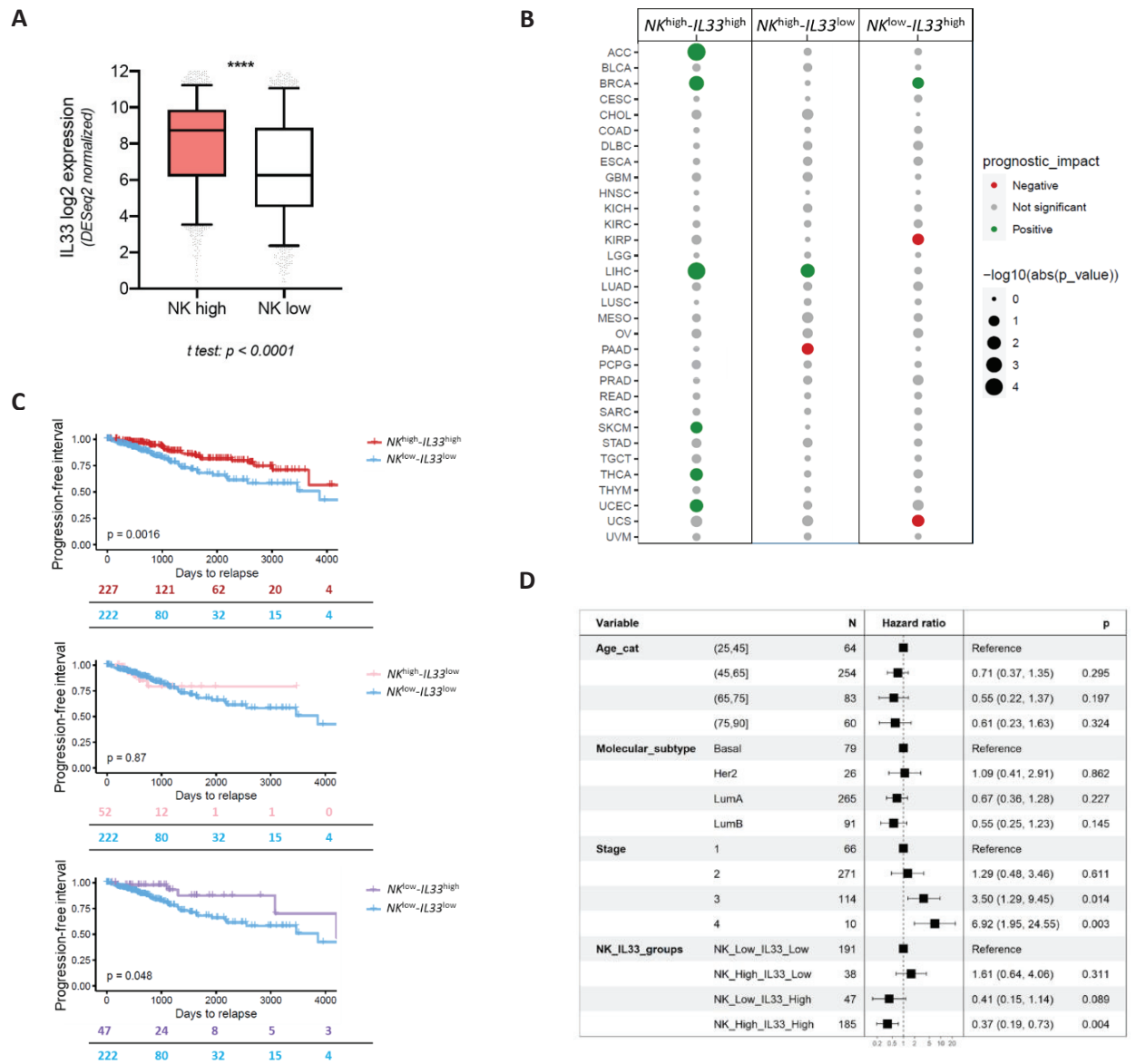
**Fig. 6. IL-33 is expressed in tumors and downregulated during cancer progression**

**(A)** *IL33* and *IL1RL1* (ST2) gene expression in tumoral (T) (orange) and normal (N) (grey) tissues extracted from TCGA and GTEx databases (ACC: Adrenocortical carcinoma, T=77, N=128; BLCA : Bladder carcinoma, T=404, N=28; BRCA : Breast invasive carcinoma, T=1095, N=291; CESC: Cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, T=306, N=13 ; CHOL: Cholangiocarcinoma, T=36, N=9; COAD : Colorectal adenocarcinoma, T=275, N=349; DLBC: Lymphoid Neoplasm Diffuse Large B-cell Lymphoma, T=47, N=337 ; ESCA: Esophageal carcinoma, T=182, N=286 ; GBM: Glioblastoma multiforme, T=163, N=207 ; HNSC : Head and neck squamous cell carcinoma, T=519, N=44 ; KICH: Kidney Chromophobe, T=66, N=53 ; KIRC : Kidney renal clear cell carcinoma, T=523, N=100 ; KIRP: Kidney renal papillary cell carcinoma, T=286, N=60 ; LGG : Brain lower grade glioma, T=518, N=207 ; LIHC: Liver hepatocellular carcinoma, T=369, N=160 ; LUAD : Lung adenocarcinoma, T=483, N=347 ; LUSC: Lung squamous cell carcinoma, T=486, N=338 ; OV : Ovarian serous cystadenocarcinoma, T=426, N=88 ; PAAD : Pancreatic adenocarcinoma, T=179, N=171 ; PCPG: Pheochromocytoma and Paraganglioma, T=182, N=3 ; PRAD: Prostate adenocarcinoma, T=492, N=152 ; READ: Rectum adenocarcinoma, T=92, N=318 ; SARC: Sarcoma, T=262, N=2 ; SKCM : Skin cutaneous melanoma, T=461, N=558 ; STAD : Stomach adenocarcinoma, T=408, N=211 ; TGCT: Testicular Germ Cell Tumors, T=137, N=165 ; THCA : Thyroid cancer, T=512, N=337; THYM: Thymoma, T=118, N=339 ; UCEC: Uterine Corpus Endometrial Carcinoma, T=174, N=91 ; UCS: Uterine Carcinosarcoma , T=57, N=78).

**(B)** IL-33 protein was quantified by Luminex assay in breast tumor-derived supernatants (n = 89). Kruskal-Wallis test with Dunn multiple comparisons test was performed.

**(C)** IL-33 expression was analyzed on breast tumor FFPE slides by Immunohistochemistry (IHC). Non-invasive Ductal Carcinoma *In Situ* (DCIS) and invasive Breast Cancer (IBC) lesions were identified based on anatomopathological tissue observations. Red arrows indicate blood vessels, orange arrows indicate peritumoral normal breast acini and green arrows indicate isolated stromal cells positive for IL-33 staining. Images are shown at 20x magnification. Dotted squares represent enlarges areas.

**(D)** Analysis of *IL33* expression in laser-microdissected stromal versus epithelial zones from DCIS and IBC lesions (GSE41228) (46) and in healthy mammary tissue versus DCIS and IBC (GSE21422) (47). Kruskal-Wallis test with Steel-Dwas-Fligner multiple comparisons test was performed.



**Fig. 7. An  $NK^{\text{hi}}/IL33^{\text{hi}}$  transcriptomic score is associated with improved progression-free survival**

(A) Boxplots display *IL33* gene expression in  $NK^{\text{hi}}$  vs  $NK^{\text{low}}$  breast cancer patients from the TCGA database. An unpaired Student *t*-test was performed.

(B) Summary of p-values associated with the log rank test performed to evaluate prognostic value of  $NK^{\text{high}}/IL33^{\text{high}}$ ,  $NK^{\text{high}}/IL33^{\text{low}}$  and  $NK^{\text{low}}/IL33^{\text{high}}$  scores as compared to  $NK^{\text{low}}/IL33^{\text{low}}$  in 32 human cancers from TCGA database (legend is the same as in panel A, MESO: Mesothelioma ; UVM: Uveal Melanoma were added). Results are represented as a bubble map showing positive (green) or negative (red) impact on progression-free survival. Dots size represents p-values obtained by log-rank test. An unpaired Student *t*-test was performed.

**(C)** Kaplan-Maier curves for progression-free survival for  $NK^{high}/IL33^{high}$ ,  $NK^{high}/IL33^{low}$  and  $NK^{low}/IL33^{high}$  scores as compared to  $NK^{low}/IL33^{low}$  in breast cancer dataset from TCGA. p-values were obtained with log-rank test.

**(D)** Multivariate Cox analysis of the impact of  $NK^{high}/IL33^{high}$  score on prognosis in breast cancer patients from TCGA dataset regarding the age, molecular subtype, and stage of the tumors. p-values were obtained with log-rank test.

## Supplementary information

### Fig. S1. IL-33 in combination with IL-12 strongly activates NK cell secretory and cytotoxic functions

**(A-C)** Quantification of IFN- $\gamma$  secretion by healthy donors' blood NK cells upon stimulation with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with **(A)** IL-15 (10 ng/mL), IL-2 (500 UI/mL), IFN- $\alpha$  (500 UI/mL), **(B)** anti-NKp30 (1  $\mu$ g/mL), anti-NKp46 (1  $\mu$ g/mL) agonistic antibodies or **(C)** K562 target cells for 24 h. Histogram bars represent the median (n = 4 individual experiments). Friedman test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**(D-G)** Healthy donors' blood NK cells were isolated from the blood of healthy donors and activated for 24 h with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  (0.1 to 100 ng/mL of each) alone or in combination with **(d)** IL-12 (10 ng/mL), **(E)** IL-2 (500 UI/mL), **(F)** IL-15 (10 ng/mL) or **(G)** IFN- $\alpha$  (500 UI/mL) prior to supernatant collection and IFN- $\gamma$  quantification by ELISA. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM (n = 4 to 8 individual experiments). One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed for each cytokine concentration from 1 ng/mL.

**(H)** Healthy donors' blood NK cells were activated as described above and supernatants were collected at several time points prior to IFN- $\gamma$  quantification by ELISA (n = 1).

**(I)** Healthy donors' blood NK cells were activated with indicated cytokines (10 ng/mL for each cytokine) for 24 h and co-cultured with calcein-loaded K562 target cells for 4 h at indicated effector to target ratios. Calcein release in the supernatant was quantified by fluorometry to calculate lysis percentage. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM (n = 3 individual experiments).

**(J)** Healthy donors' blood NK cells activated with indicated cytokines (10 ng/mL for each cytokine) for 24 h were exposed to K562 cells in a direct cytotoxic assay. Percentage of CD107+ NK cells are shown. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM (n = 2 individual experiments).

### Fig. S2. IL-12 induces ST2 expression on a subset of NK cells in a STAT4-dependent manner

Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated (10 ng/mL of each cytokine).

**(A)** Healthy donors' blood NK cells were activated by different cytokine combinations in the presence of anti-ST2 (10  $\mu$ g/mL), anti-IL-18 (1  $\mu$ g/mL), control mIgG1 antibodies (1 or 10  $\mu$ g/mL as control for anti-IL-18 or anti-ST2, respectively) or IL-1RA antagonist (100 ng/mL). Supernatants were collected after 24 h and IFN- $\gamma$  secretion was quantified by ELISA. Results are expressed as mean  $\pm$  SD and are representative of three individual experiments. Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(B)** *IL1RL1/ST2* and *IL1RAcP* relative mRNA expression was analyzed by RT-qPCR at indicated times. Results are expressed as mean  $\pm$  SD and are representative of two individual experiments. Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(C)** NK cells were treated or not with lisofylline (500  $\mu$ M) for 24 h prior to activation with IL-12 (0.1 to 10 ng/mL) for 5 min and p-STAT4 intracellular levels were analyzed by flow cytometry (n = 3 individual experiments).

**(D)** *In silico* analysis of putative STAT4 binding sites in *ST2* promoter region. Dissimilarity indicates the deviation between the identified sequence and the STAT4 consensus binding site. RE and RE query values indicate the probability to randomly finding the motif respectively considering a model with equiprobability of the four nucleotides and a model with the same nucleotide frequency as the query sequence. A value of 0.001 means that the hit is only expected to occur by chance once in 1 Mb of sequence.

**Fig. S3. IL-33 preferentially activates a subset of CD56<sup>dim</sup> NK cells**

**(A)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) or not (medium) for 5 min and p-STAT4 intracellular levels were analyzed by flow cytometry on gated CD56<sup>bright</sup> vs CD56<sup>dim</sup> subsets. Data are representative of three individual experiments.

**(B)** FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> healthy donors' blood NK cells were activated with medium or IL-12 alone for 24 h prior to the addition of IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$ , supplemented or not with IL-12. Each cytokine was used at 10ng/mL. p38 (MAPK) and S6 (mTOR) phosphorylation as analyzed 5 min or 1 h after the addition of IL-1 family cytokines, respectively. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of p-p38<sup>+</sup> or p-S6<sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 to 5 experiments.

**(C)** Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated for 24 h, each cytokine was used at 10 ng/mL. CD69 surface and IFN- $\gamma$  intracellular expression was analyzed by flow cytometry. CD56 surface expression levels were used to discriminate CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells. Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of CD69<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.

**Fig. S4. ST2<sup>+</sup> NK cells display a unique gene signature compared to CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells**

**(A)** Heatmap representing all differentially-expressed genes (upregulated and downregulated) (n=2399 genes) in each sorted healthy donors' blood NK cell subset compared to the two other subsets following IL-12 activation (n = 3 individual donors).

**(B)** Expression levels of DEG (up and down) presented in heatmap in Fig. 3E.

**Fig. S5. Unsupervised clustering of sc-RNAseq datasets**

UMAP plots of NK cells clusters annotated from human melanoma metastases (GSE139249) (42) and mouse lung tumors (GSE123534) (43) sc-RNAseq public datasets.

**Fig. S6. Gating strategy to identify NK cells in tumor cell suspensions by flow cytometry**

**(A)** Tumor cell suspensions were stained for CD45, CD3, CD56, and CD7 expression and tumor-infiltrating NK cells were identified using gating strategy as illustrated. Cell viability was determined using Zombie dye (Biolegend).

**(B)** Cell suspensions were obtained from fresh breast tumors to analyze NK cell frequency among total infiltrating cells by flow cytometry according to BC molecular types (n = 46 patients). Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**Fig. S7 | IL-12 sensitizes mouse splenic NK cells to the production of IFN- $\gamma$  in response to IL-33**

**(A)** Splenic cells were activated with IL-12 (20 ng/mL) or not for 24 h prior to flow cytometry analysis of ST2 surface expression (black line) or corresponding isotypic control (grey). CD45, NK1.1, and CD3 were used to identify NK cells. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells after medium or IL-12 culture. Horizontal bars represent the mean + SEM (n = 4 individual mice). Paired two-tailed Student's *t*-test was performed.

**(B)** Splenic cells were activated as indicated (20 ng/mL of each cytokine) for 24 h prior to flow cytometry analysis of IFN- $\gamma$  intracellular expression. CD45, NK1.1, and CD3 were used to identify NK cells. Plots are representative of four individual experiments with 3 to 4 mice/experiment and results for each individual mouse are presented in the right panel. Results are expressed as mean + SEM. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**Fig. S8. Antitumoral effect of IL-33 and IL-12 combination is dependent on NK cells in *Rag2*-KO mice**

**(A)** *Rag2*-KO mice were injected intra-peritoneally with NaCl or anti-NK1.1 depleting antibody prior to intra-mammary injection with  $2.5 \times 10^5$  E0771 cells on day 0 and then treated in the tumor area with NaCl or a combination of 10 ng/mouse rmlL-12 and 100 ng/mouse rmlL-33 twice a week from day 2 to day 23. Primary tumor growth was monitored in non-depleted *Rag2*-KO mice treated with NaCl (n = 3) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 3) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 3) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n=4). Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(B)** Kaplan-Meier survival plots of non-depleted *Rag2*-KO mice treated with NaCl (n = 3) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 3) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 3) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n=4). Mice were sacrificed when longest side of primary tumor

reached 17 mm. Log-rank test was performed and the p-value is indicated for non-depleted mice treated with rmlL-12 + rmlL-33 vs NK cell-depleted mice treated with rmlL-12 + rmlL-33.

**(C)** Serum was retrieved from blood collected at day 5, 4hrs after NaCl or cytokine injection into the peritumoral area. IFN- $\gamma$  concentration was measured by ELISA in the serum of non-depleted *Rag2*-KO mice treated with NaCl (n = 3) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 3) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl (n = 3) or with rmlL-12 and rmlL-33 combination (n = 4). Histogram bars represent the median. Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

**Fig. S9. IL-33 is associated with increased overall patient survival for several cancers**

**(A)** Summary of p-values associated with the log rank test performed to evaluate prognostic value of *IL33* and *IL1RL1* (ST2) in 32 human TCGA cancer data sets (the same as in Fig. 6A, MESO: Mesothelioma ; UVM: Uveal Melanoma were added). Data are represented as a bubble map showing positive (green) or negative (red) impact on progression-free survival. Dots size represents p-values obtained by log-rank test.

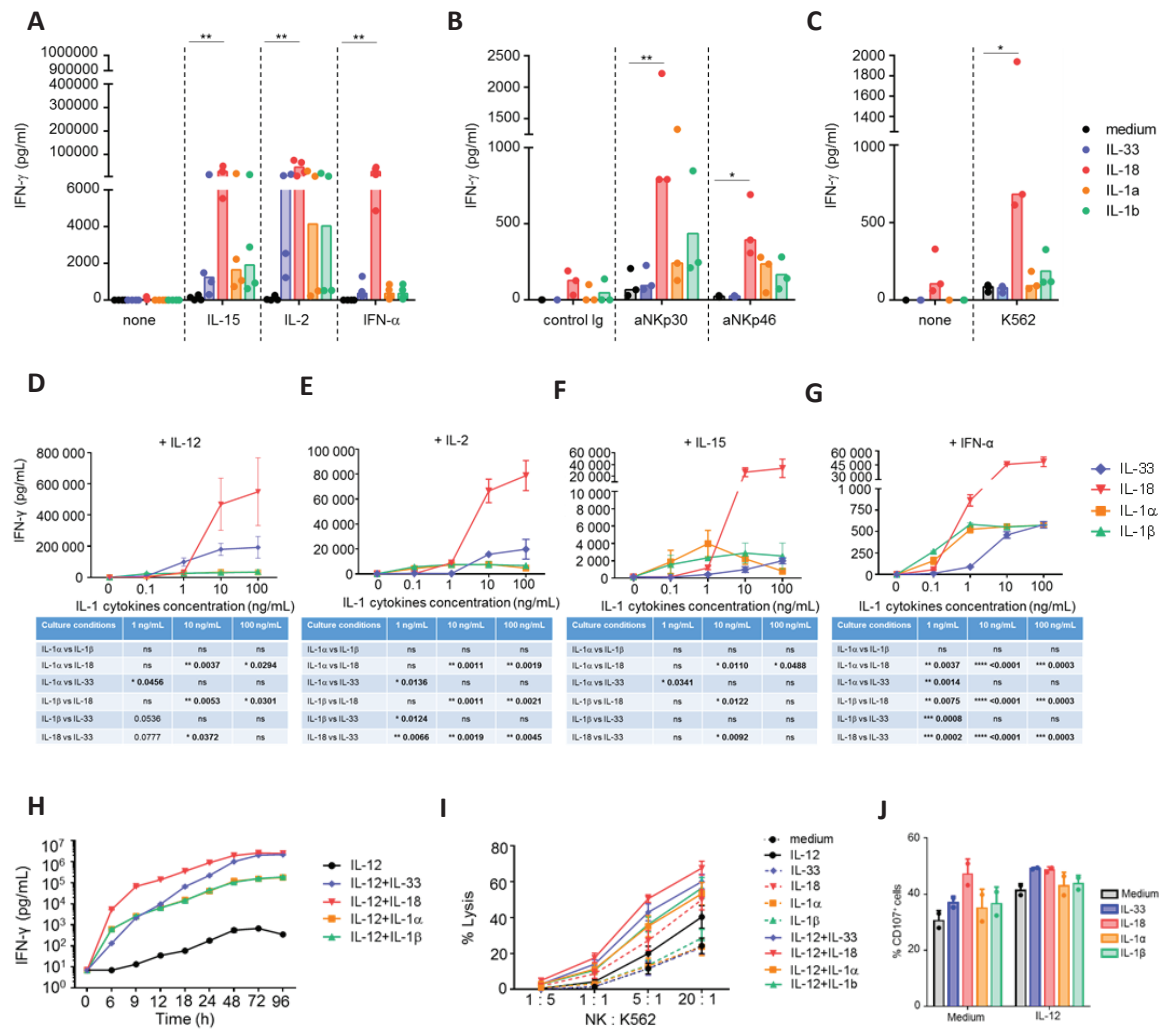
**(B)** Patients from TCGA database were stratified as high or low for *IL33* and progression-free survival was analyzed in all cancer data sets. Kaplan-Meier survival curves for ACC, BRCA, KIRP, LIHC, SKCM, THCA, and UCEC patients are represented and p-values were obtained with log-rank test.

**(C)** Patients from TCGA database were stratified as high or low for *IL1RL1* (ST2) and progression-free survival was analyzed in all cancer data sets. Kaplan-Meier survival curves for BRCA, KIRC, KIRP, LIHC, and UVM patients are represented and p-values were obtained with log-rank test.

**(D)** Multivariate Cox analysis of *IL33* impact on prognosis in breast cancers from TCGA dataset regarding the age, molecular subtype, and stage of the tumors p-values were obtained with log-rank test.

**(E)** Kaplan-Maier curves for progression-free survival for  $NK^{high}/IL33^{high}$ ,  $NK^{high}/IL33^{low}$  and  $NK^{low}/IL33^{high}$  scores as compared to  $NK^{low}/IL33^{low}$  in cancer datasets from TCGA that showed statistical significance in Fig. 7B. p-values were obtained with log-rank test.





**Fig. S1. IL-33 in combination with IL-12 strongly activates NK cell secretory and cytotoxic functions**

(A-C) Quantification of IFN- $\gamma$  secretion by healthy donors' blood NK cells upon stimulation with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  alone (10 ng/mL) or in combination with (A) IL-15 (10 ng/mL), IL-2 (500 UI/mL), IFN- $\alpha$  (500 UI/mL), (B) anti-NKp30 (1  $\mu$ g/mL), anti-NKp46 (1  $\mu$ g/mL) agonistic antibodies or (C) K562 target cells for 24 h. Histogram bars represent the median ( $n = 4$  individual experiments). Friedman test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

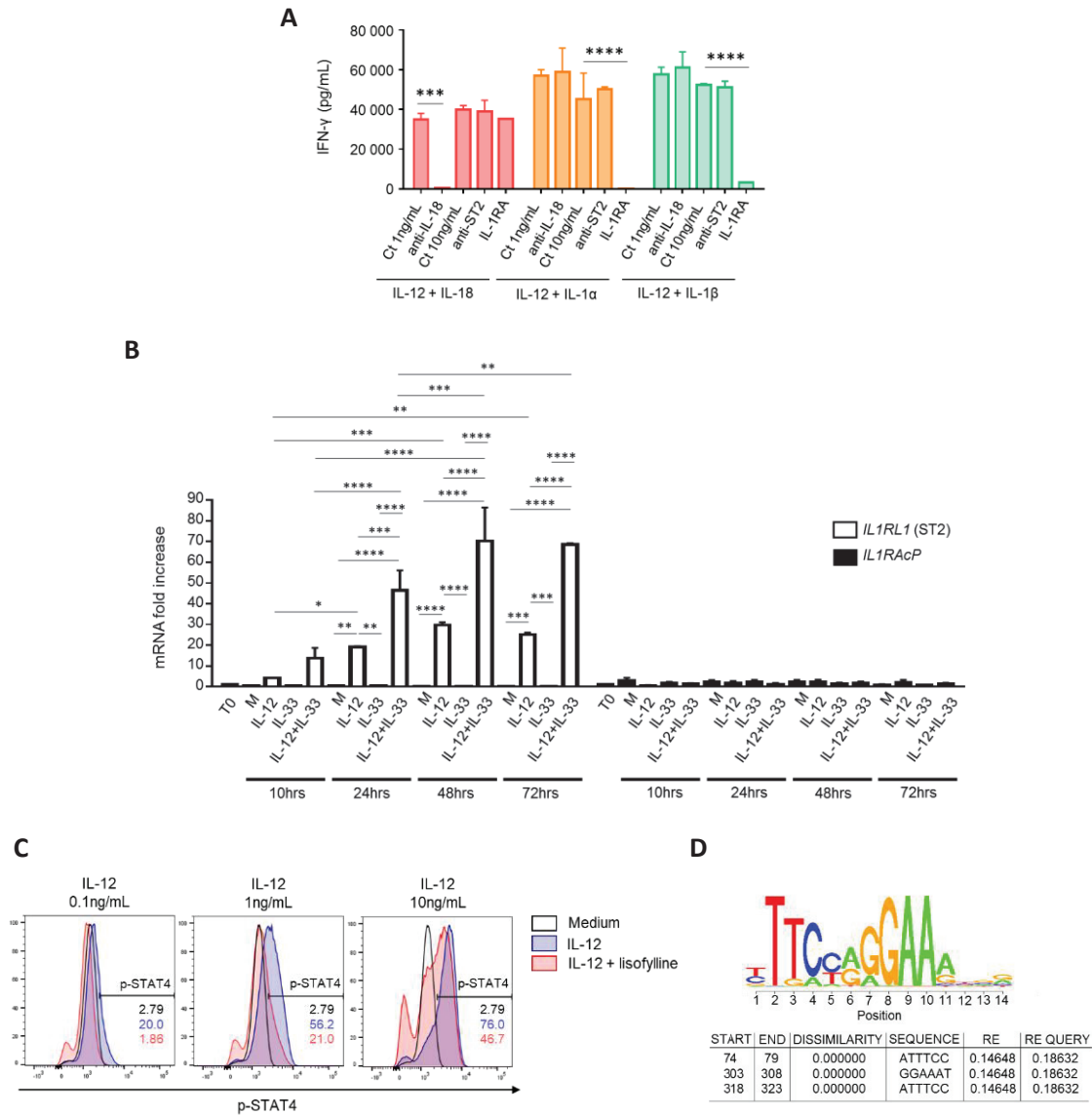
(D-G) Healthy donors' blood NK cells were isolated from the blood of healthy donors and activated for 24 h with IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$  (0.1 to 100 ng/mL of each) alone or in combination with (D) IL-12 (10 ng/mL), (E) IL-2 (500 UI/mL), (F) IL-15 (10 ng/mL) or (G) IFN- $\alpha$  (500 UI/mL) prior to supernatant collection and IFN- $\gamma$  quantification by ELISA. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM ( $n = 4$  to 8 individual experiments). One-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed for each cytokine concentration from 1 ng/mL.

(H) Healthy donors' blood NK cells were activated as described above and supernatants were collected at several time points prior to IFN- $\gamma$  quantification by ELISA ( $n = 1$ ).

(I) Healthy donors' blood NK cells were activated with indicated cytokines (10 ng/mL for each cytokine) for 24 h and co-cultured with calcein-loaded K562 target cells for 4 h at indicated effector to target ratios. Calcein release

in the supernatant was quantified by fluorometry to calculate lysis percentage. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM (n = 3 individual experiments).

**(J)** Healthy donors' blood NK cells activated with indicated cytokines (10 ng/mL for each cytokine) for 24 h were exposed to K562 cells in a direct cytotoxic assay. Percentage of CD107+ NK cells are shown. Results are expressed as mean  $\pm$  SEM (n = 2 individual experiments).



**Fig. S2. IL-12 induces ST2 expression on a subset of NK cells in a STAT-4-dependent manner**

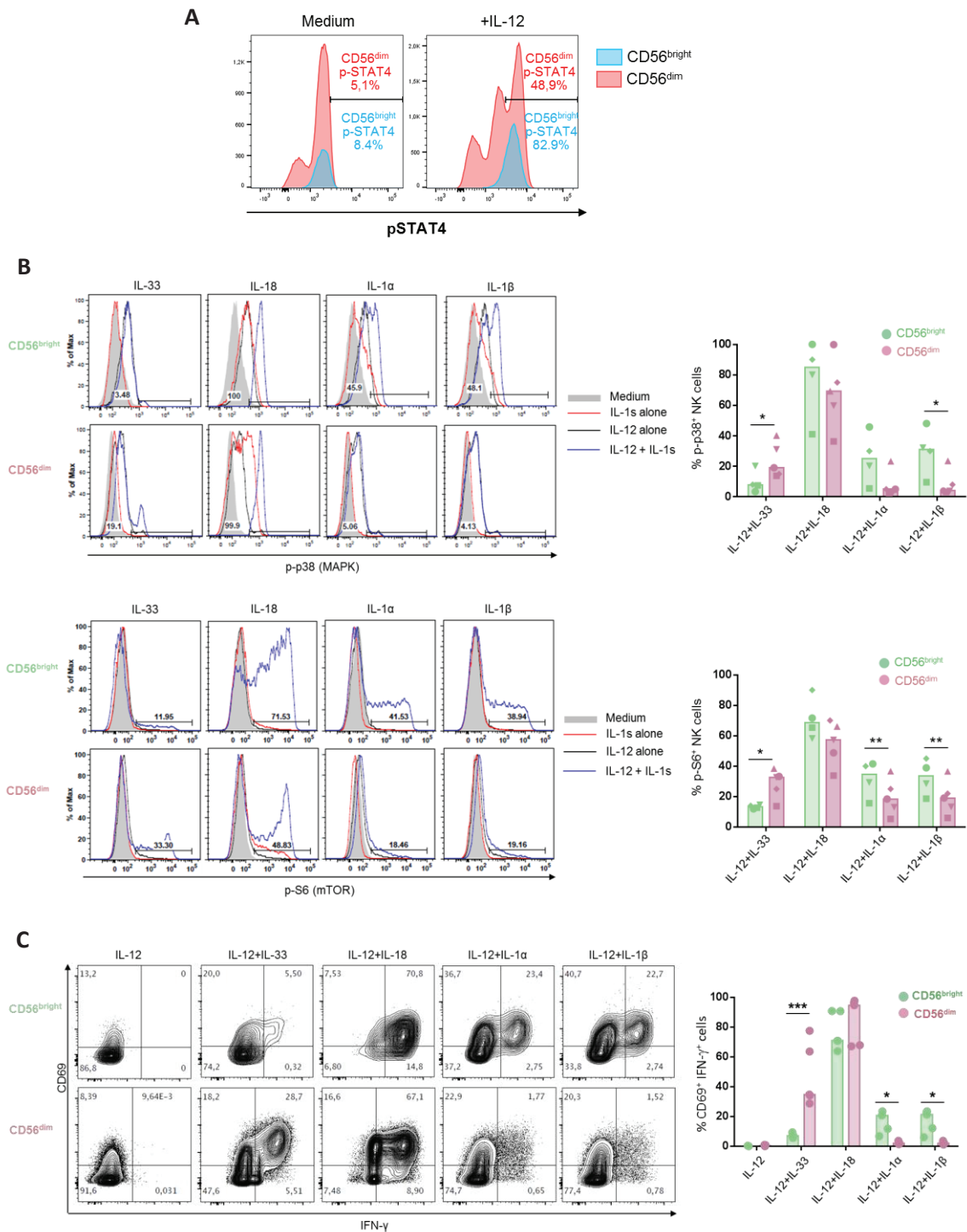
Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated (10 ng/mL of each cytokine).

**(A)** Healthy donors' blood NK cells were activated by different cytokine combinations in the presence of anti-ST2 (10  $\mu$ g/mL), anti-IL-18 (1  $\mu$ g/mL), control mIgG1 antibodies (1 or 10  $\mu$ g/mL as control for anti-IL-18 or anti-ST2, respectively) or IL-1RA antagonist (100 ng/mL). Supernatants were collected after 24 h and IFN- $\gamma$  secretion was quantified by ELISA. Results are expressed as mean + SD and are representative of three individual experiments. Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(B)** *IL1RL1/ST2* and *IL1RAcP* relative mRNA expression was analyzed by RT-qPCR at indicated times. Results are expressed as mean + SD and are representative of two individual experiments. Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**(C)** NK cells were treated or not with lisofylline (500  $\mu$ M) for 24 h prior to activation with IL-12 (0.1 to 10 ng/mL) for 5 min and p-STAT4 intracellular levels were analyzed by flow cytometry (n = 3 individual experiments).

**(D)** *In silico* analysis of putative STAT-4 binding sites in *ST2* promoter region. Dissimilarity indicates the deviation between the identified sequence and the STAT-4 consensus binding site. RE and RE query values indicate the probability to randomly finding the motif respectively considering a model with equiprobability of the four nucleotides and a model with the same nucleotide frequency as the query sequence. A value of 0.001 means that the hit is only expected to occur by chance once in 1 Mb of sequence.

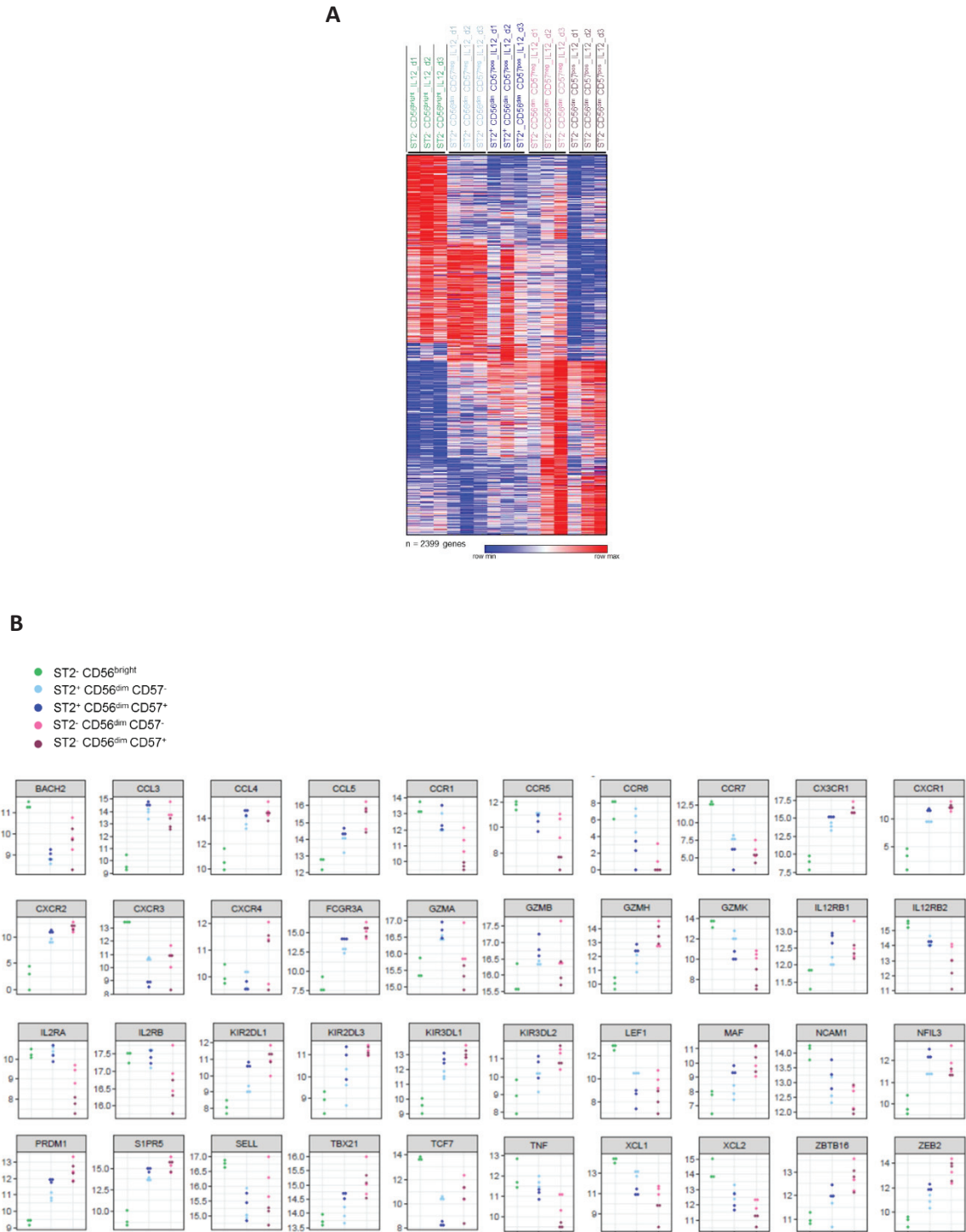


**Fig. S3. IL-33 preferentially activates a subset of CD56<sup>dim</sup> NK cells**

**(A)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 (10 ng/mL) or not (medium) for 5 min and p-STAT-4 intracellular levels were analyzed by flow cytometry on gated CD56<sup>bright</sup> vs CD56<sup>dim</sup> subsets. Data are representative of three individual experiments.

**(B)** FACS-sorted CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> healthy donors' blood NK cells were activated with medium or IL-12 alone for 24 h prior to the addition of IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$  or IL-1 $\beta$ , supplemented or not with IL-12. Each cytokine was used at 10ng/mL. p38 (MAPK) and S6 (mTOR) phosphorylation as analyzed 5 min or 1 h after the addition of IL-1 family cytokines, respectively. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of p-p38<sup>+</sup> or p-S6<sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 to 5 experiments.

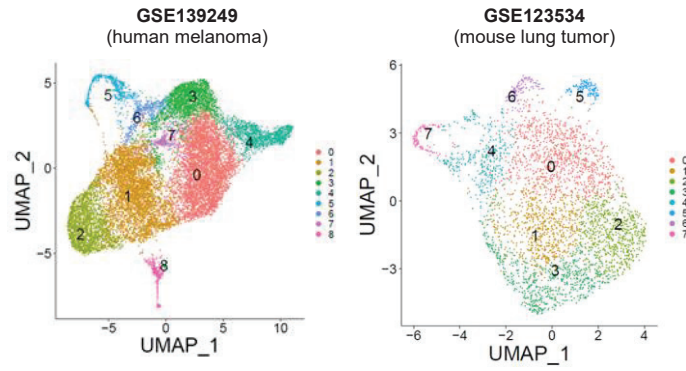
**(C)** Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated for 24 h, each cytokine was used at 10 ng/mL. CD69 surface and IFN- $\gamma$  intracellular expression was analyzed by flow cytometry. CD56 surface expression levels were used to discriminate CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells. Representative dot plots (left) and quantification (%) (right) of CD69<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.



**Fig. S4. ST2<sup>+</sup> NK cells display a unique gene signature compared to CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> NK cells**

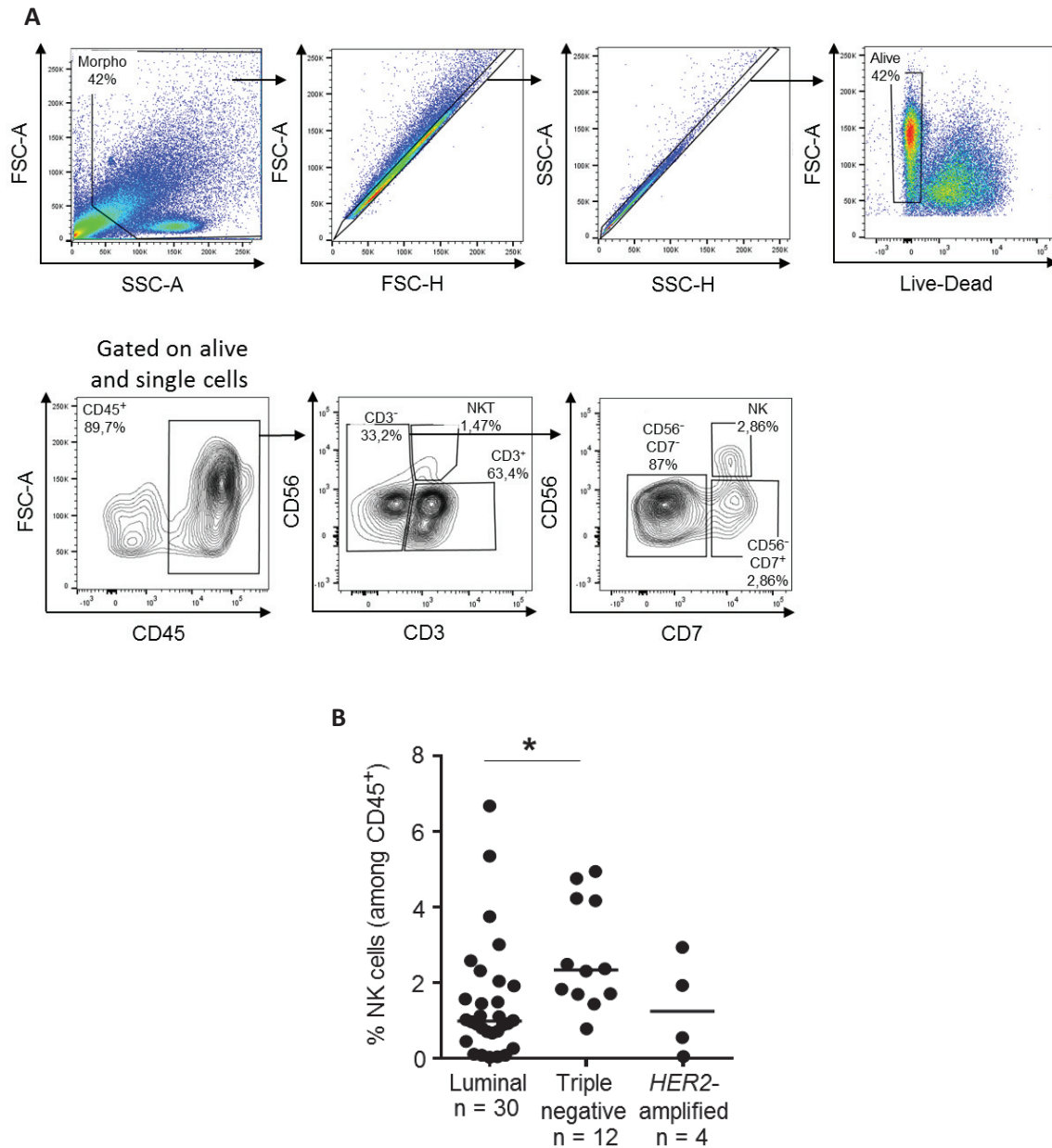
**(A)** Heatmap representing all differentially-expressed genes (upregulated and downregulated) (n=2399 genes) in each sorted healthy donors' blood NK cell subset compared to the two other subsets following IL-12 activation (n = 3 individual donors).

**(B)** Expression levels of DEG (up and down) presented in heatmap in Fig. 3E.



**Fig. S5. Unsupervised clustering of sc-RNAseq datasets**

UMAP plots of NK cells clusters annotated from human melanoma metastases (GSE139249) (42) and mouse lung tumors (GSE123534) (43) sc-RNAseq public datasets.

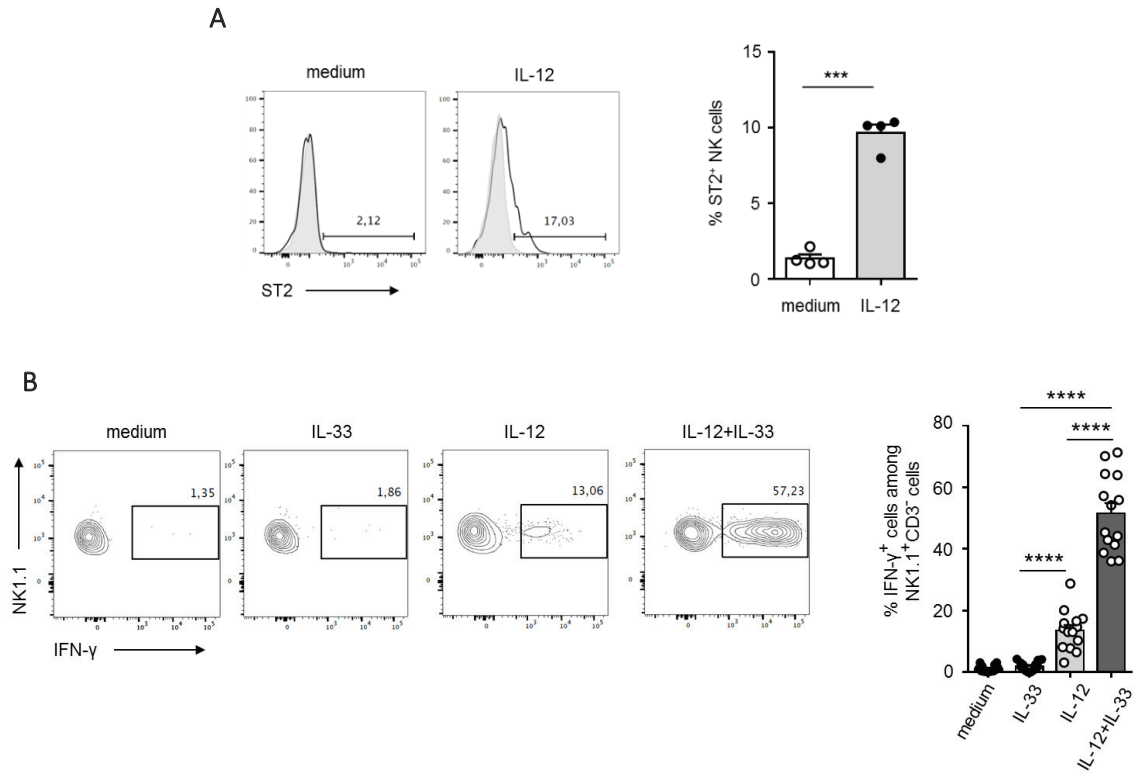


**Fig. S6. Gating strategy to identify NK cells in tumor cell suspensions by flow cytometry**

**(A)** Tumor cell suspensions were stained for CD45, CD3, CD56, and CD7 expression and tumor-infiltrating NK cells were identified using gating strategy as illustrated. Cell viability was determined using Zombie dye (Biolegend).

**(B)** Cell suspensions were obtained from fresh breast tumors to analyze NK cell frequency among total infiltrating cells by flow cytometry according to BC molecular types (n = 46 patients). Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

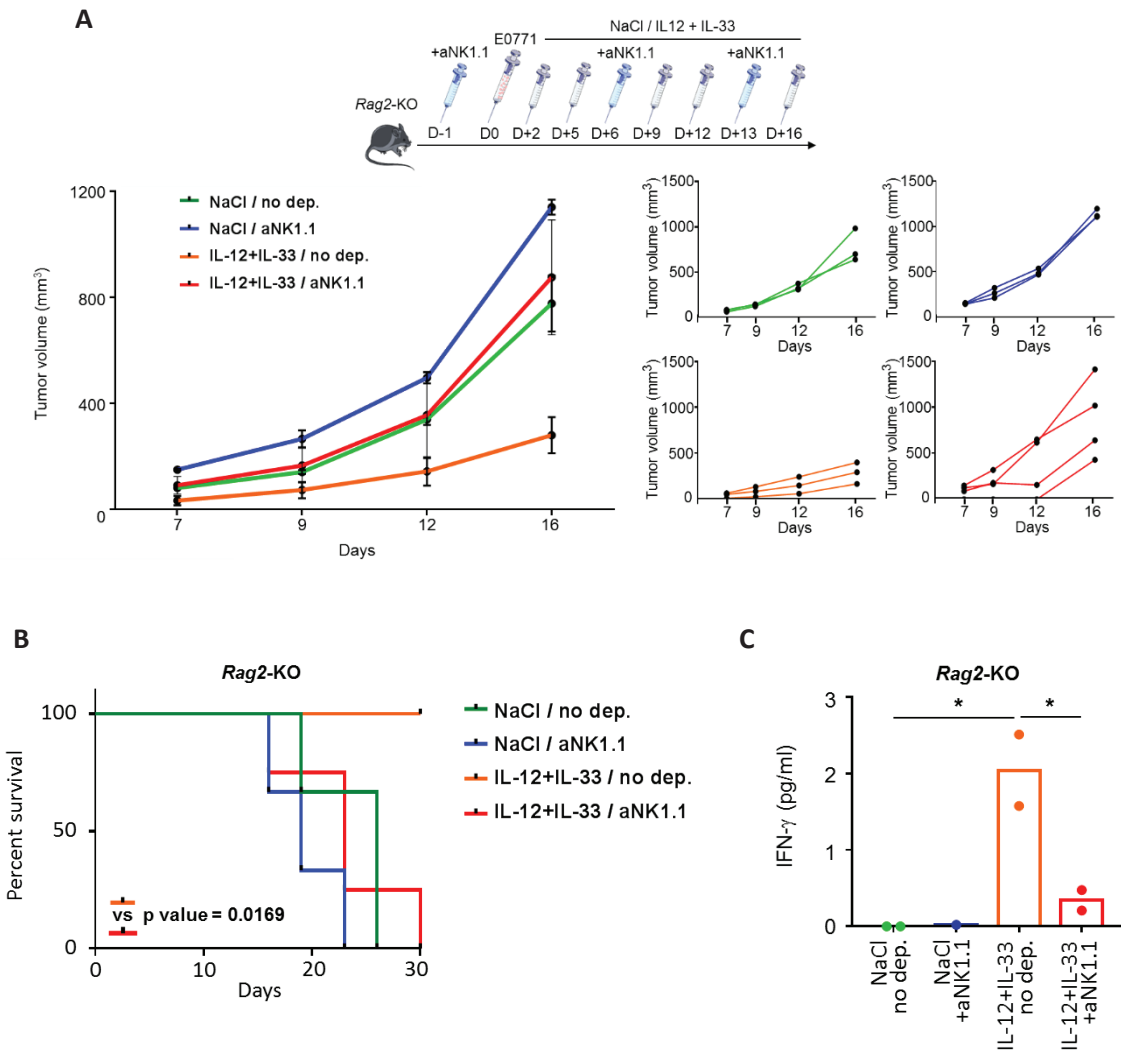




**Fig. S7. IL-12 sensitizes mouse splenic NK cells to the production of IFN- $\gamma$  in response to IL-33**

**(A)** Splenic cells were activated with IL-12 (20 ng/mL) or not for 24 h prior to flow cytometry analysis of ST2 surface expression (black line) or corresponding isotypic control (grey). CD45, NK1.1, and CD3 were used to identify NK cells. Representative histogram plots (left) and quantification (%) (right) of ST2<sup>+</sup> NK cells after medium or IL-12 culture. Horizontal bars represent the mean + SEM (n = 4 individual mice). Paired two-tailed Student's *t*-test was performed.

**(B)** Splenic cells were activated as indicated (20 ng/mL of each cytokine) for 24 h prior to flow cytometry analysis of IFN- $\gamma$  intracellular expression. CD45, NK1.1, and CD3 were used to identify NK cells. Plots are representative of four individual experiments with 3 to 4 mice/experiment and results for each individual mouse are presented in the right panel. Results are expressed as mean + SEM. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.



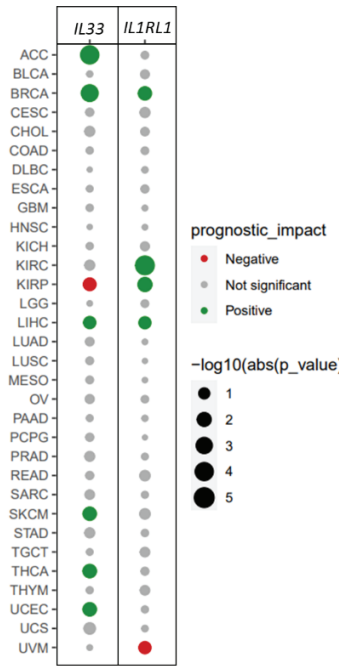
**Fig. S8. Antitumoral effect of IL-33 and IL-12 combination is dependent on NK cells in *Rag2*-KO mice**

**(A)** *Rag2*-KO mice were injected intra-peritoneally with NaCl or anti-NK1.1 depleting antibody prior to intramammary injection with  $2.5 \times 10^5$  E0771 cells on day 0 and then treated in the tumor area with NaCl or a combination of 10 ng/mouse rIL-12 and 100 ng/mouse rIL-33 twice a week from day 2 to day 23. Primary tumor growth was monitored in non-depleted *Rag2*-KO mice treated with NaCl ( $n = 3$ ) or with rIL-12 and rIL-33 combination ( $n = 3$ ) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl ( $n = 3$ ) or with rIL-12 and rIL-33 combination ( $n=4$ ). Two-way ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

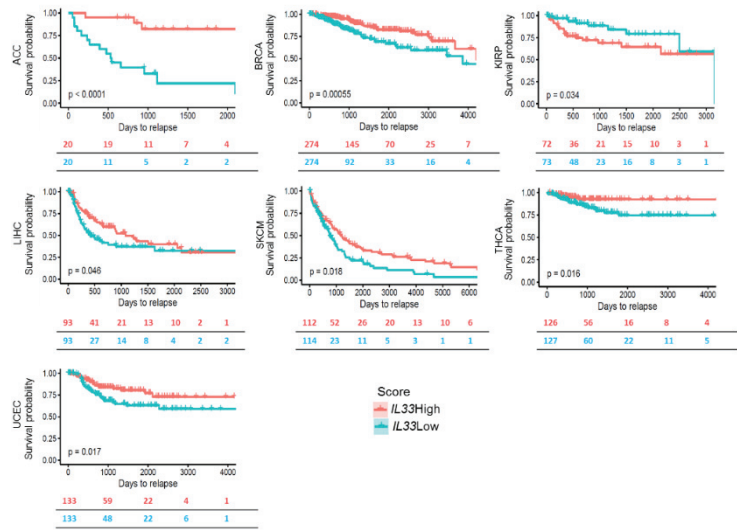
**(B)** Kaplan-Meier survival plots of non-depleted *Rag2*-KO mice treated with NaCl ( $n = 3$ ) or with rIL-12 and rIL-33 combination ( $n = 3$ ) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl ( $n = 3$ ) or with rIL-12 and rIL-33 combination ( $n=4$ ). Mice were sacrificed when longest side of primary tumor reached 17 mm. Log-rank test was performed and the p-value is indicated for non-depleted mice treated with rIL-12 + rIL-33 vs NK cell-depleted mice treated with rIL-12 + rIL-33.

**(C)** Serum was retrieved from blood collected at day 5, 4hrs after NaCl or cytokine injection into the peritumoral area. IFN- $\gamma$  concentration was measured by ELISA in the serum of non-depleted *Rag2*-KO mice treated with NaCl ( $n = 3$ ) or with rIL-12 and rIL-33 combination ( $n = 3$ ) or in NK cell-depleted WT mice treated with NaCl ( $n = 3$ ) or with rIL-12 and rIL-33 combination ( $n = 4$ ). Histogram bars represent the median. Kruskal Wallis test with Dunn's multiple comparisons test was performed.

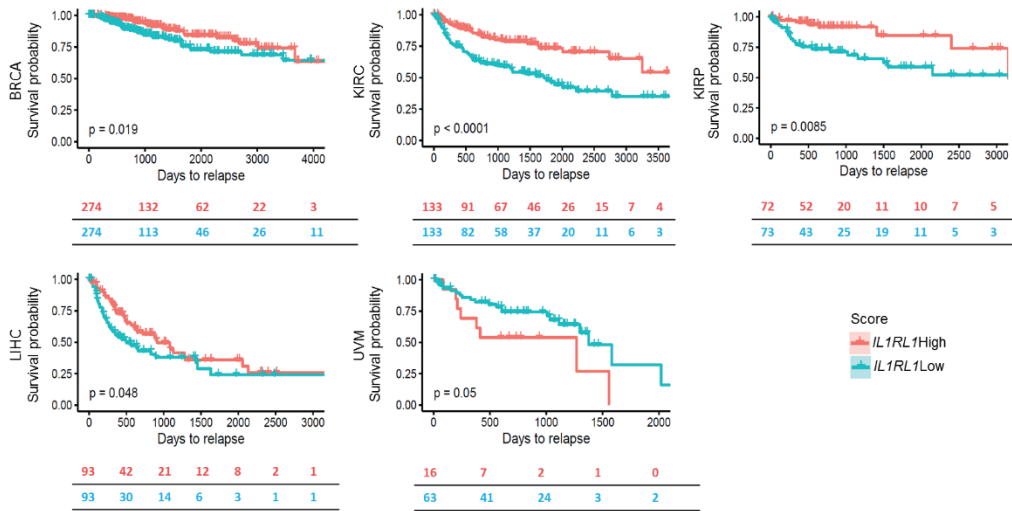
**A**



**B**



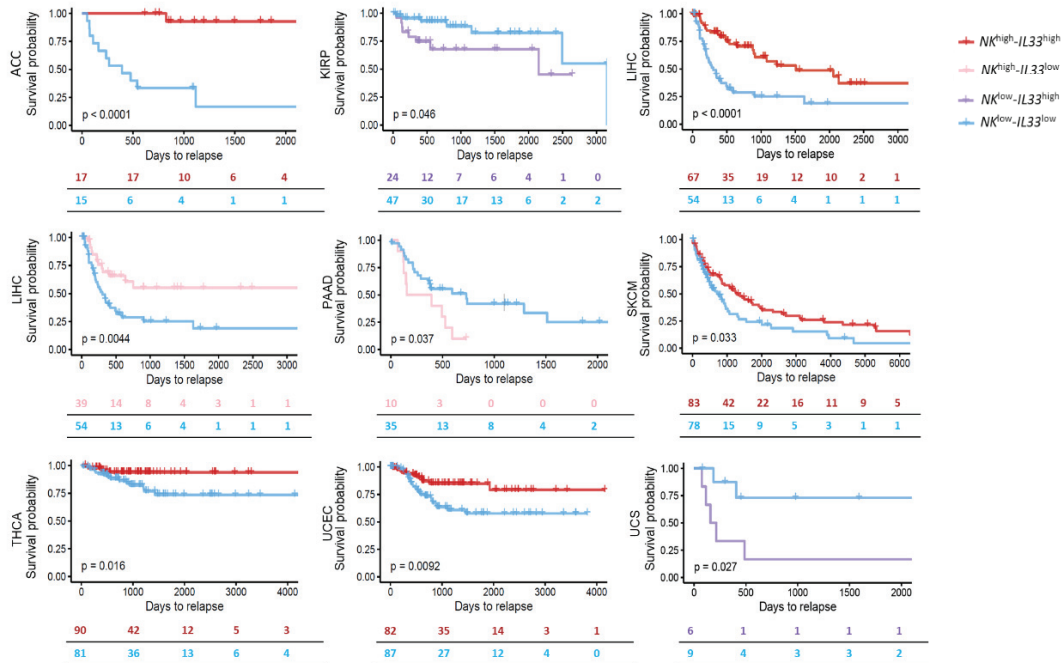
**C**



D

Variable	N	Hazard ratio	p	
Age_cat	(25,45]	150	Reference	
	(45,65]	500	0.71 (0.44, 1.16)	0.171
	(65,75]	166	0.76 (0.40, 1.45)	0.406
	(75,90.1]	106	1.17 (0.58, 2.35)	0.654
Molecular_subtype	Basal	167	Reference	
	Her2	71	0.80 (0.39, 1.66)	0.551
	LumA	495	0.57 (0.35, 0.91)	0.019
	LumB	189	0.43 (0.23, 0.80)	0.008
Stage	1	152	Reference	
	2	536	2.03 (0.95, 4.33)	0.067
	3	218	4.94 (2.28, 10.70)	<0.001***
	4	16	20.39 (7.94, 52.35)	<0.001***
IL33_cat	Low	229	Reference	
	Intermediate1	227	0.46 (0.26, 0.81)	0.007**
	Intermediate2	234	0.65 (0.38, 1.10)	0.107
	High	232	0.45 (0.26, 0.79)	0.006**

E



**Fig. S9. IL-33 is associated with increased overall patient survival for several cancers**

(A) Summary of p-values associated with the log rank test performed to evaluate prognostic value of *IL33* and *IL1RL1* (ST2) in 32 human TCGA cancer data sets (the same as in Fig. 6A, MESO: Mesothelioma ; UVM: Uveal Melanoma were added). Data are represented as a bubble map showing positive (green) or negative (red) impact on progression-free survival. Dots size represents p-values obtained by log-rank test.

**(B)** Patients from TCGA database were stratified as high or low for *IL33* and progression-free survival was analyzed in all cancer data sets. Kaplan-Meier survival curves for ACC, BRCA, KIRP, LIHC, SKCM, THCA, and UCEC patients are represented and p-values were obtained with log-rank test.

**(C)** Patients from TCGA database were stratified as high or low for *IL1RL1* (ST2) and progression-free survival was analyzed in all cancer data sets. Kaplan-Meier survival curves for BRCA, KIRC, KIRP, LIHC, and UVM patients are represented and p-values were obtained with log-rank test.

**(D)** Multivariate Cox analysis of *IL33* impact on prognosis in breast cancers from TCGA dataset regarding the age, molecular subtype, and stage of the tumors p-values were obtained with log-rank test.

**(E)** Kaplan-Maier curves for progression-free survival for  $NK^{high}/IL33^{high}$ ,  $NK^{high}/IL33^{low}$  and  $NK^{low}/IL33^{high}$  scores as compared to  $NK^{low}/IL33^{low}$  in cancer datasets from TCGA that showed statistical significance in Fig. 7B. p-values were obtained with log-rank test.

**Table S1. Reagent and resources table**

REAGENT OR RESOURCE	SOURCE	IDENTIFIER
<b>Flow cytometry antibodies (Human)</b>		
Anti-CD3-BV711	BD Bioscience	Clone UCHT1 Mouse IgG1 κ
Anti-CD3-PerCP	Miltenyi	Clone BW264/56, Mouse IgG2a κ
Anti-CD3-V450	BD Bioscience	Clone UCHT1 Mouse IgG1 κ
Anti-CD4-BB515	BD Bioscience	Clone RPAT4 Mouse IgG1 κ
Anti-CD4-FITC	BD Bioscience	Clone RPAT4 Mouse IgG1 κ
Anti-CD7-BV650	BD Bioscience	Clone M-T701, Mouse IgG1 κ
Anti-CD7-BV711	BD Bioscience	Clone M-T701, Mouse IgG1 κ
Anti-CD7-FITC	Beckman Coulter	Clone 8h8.1, Mouse IgG2a κ
Anti-CD8-PerCP-Cy5.5	BD Bioscience	Clone RPA T8, Mouse IgG1 κ
Anti-CD14-BV510	BD Bioscience	Clone MφP9, Mouse IgG2b κ
Anti-CD16-V500	BD Bioscience	Clone 3G8, Mouse IgG1 κ
Anti-CD25-PE	BD Bioscience	Clone M-A251, Mouse IgG1 κ
Anti-CD45-AF700	BD Bioscience	Clone HI30, Mouse IgG2b κ
Anti-CD45-BV510	BD Bioscience	Clone HI30, Mouse IgG2b κ
Anti-CD56-PEVio770	Miltenyi	Clone AF12-7H3, Mouse IgG1 κ
Anti-CD56-VioBright-FITC	Miltenyi	Clone AF12-7H3, Mouse IgG1 κ
Anti-CD57-APC	BD Bioscience	Clone HNK-1, Mouse IgM κ
Anti-CD69-APC	BD	Clone FN50, Mouse IgG1 κ
Anti-CD127-APC	eBioscience	Clone eBioRDR5, Mouse IgG1 κ
Anti-CD158(KIR2DL1/S1/S3/S5)-PE-Cy7	Biolegend	CloneHP-A4, Mouse IgG2b κ
Anti-CD158e1(KIR3DL1)-PE-Cy7	Biolegend	Clone DX9, Mouse IgG1 κ
Anti-IFNγ-BV421	Biolegend	Clone 4SB3, Mouse IgG1 κ
Anti-IL-1R1-BV421	BD Bioscience	Clone 89412, Mouse IgG1 κ
Anti-IL-18Ra-PE	BD Bioscience	Clone H44, Mouse IgG1 κ
Anti-p-p38-PE	BD Bioscience	Clone 36/p38, Mouse IgG1 κ

Anti-p-p65-PE	BD Bioscience	Clone K10-895.12.50, Mouse IgG2b κ
Anti-p-S6	Cell Signaling Technology	Clone D57.2.2E, Rabbit IgG
Anti-p-STAT4-PE	BD Bioscience	Clone 38/p-Stat4, Mouse IgG2b κ
Anti-ST2-PE	R&D	Polyclonal goat

#### Flow cytometry antibodies (Mouse)

anti-CD11b-APCeFluor 780	eBioscience	Clone M1/70, Rat IgG2b κ
anti-CD27-PerCPeFluor 710	eBioscience	Clone LG.7F9, Haster IgG
anti-IFN-γ-PE	Biolegend	Clone XMG1.2, Rat IgG1 κ
anti-IL-1R-BV421	BD Bioscience	Clone 4E2, Rat IgG2a κ
anti-IL-18Rα-PE	eBioscience	Clone P3TUNYA, Rat IgG2a κ
anti-NK1.1-APC	BD Bioscience	Clone PK136, Mouse IgG2a κ
anti ST2-PE	BD Bioscience	Clone U29-93, Rat IgG2a κ

#### Other antibodies

Anti-goat	Agilent	E0466
Anti-IL-18	MBL	Clone 125-2H, Mouse IgG1 κ
Anti-IL-33	R&D	Clone AF3625, Goat
Anti-NK1.1	BioXCell	Clone PK136
Anti-NKp30	R&D	Clone 210845 Mouse IgG2a κ
Anti-NKp46	R&D	Clone 195314, Mouse IgG2b κ
Anti-PanCK	Agilent	clone AE1-AE3,
Anti-p-STAT4	Cell Signaling Technology	Y693, Rabbit IgG
Anti-ST2	R&D	Clone 97203, Mouse IgG1 κ

#### Reagents

Calcein	Invitrogen	C1430
CTV	Invitrogen	C34557

#### Continued

REAGENT OR RESOURCE	SOURCE	IDENTIFIER
DAPI	Invitrogen	D1306

DNase I	Sigma-Aldrich	D4263
GolgiPlug	BD bioscience	555029
Lisofylline	Cayman chemicals	10010785
Lymphocyte Separation Medium	Eurobio	CMSMSL0101
Pharm Lyse™ Buffer	BD Biosciences	555899
Lyse/fix Buffer Phosflow	BD Biosciences	558049
Perm Buffer III Phosflow	BD Biosciences	558050
RPMI 1640 Medium, GlutaMAX	Gibco	61870036
Sulfinpyrazone	Sigma-Aldrich	S9509
Type IV collagenase	Sigma-Aldrich	C5138
Zombie Dye Aqua	Biolegend	423101

### Cytokines

Recombinant Human IFN- $\alpha$ 2b	Schering-Plough	
Recombinant Human IL-1 $\alpha$	Peptotech	200-01A
Recombinant Human IL-1 $\beta$	Peptotech	200-01B
Recombinant Human IL-1RA	Peptotech	200-01RA
Recombinant Human IL-2	Chiron	
Recombinant Human IL-12	Miltenyi	130-096-704
Recombinant Human IL-15	Peptotech	200-15
Recombinant Human IL-18	MBL	B003-5
Recombinant Human IL-33	Miltenyi	130-109-378
Recombinant Mouse IL-1 $\alpha$	Miltenyi	130-094-050
Recombinant Mouse IL-1 $\beta$	Miltenyi	130-094-053
Recombinant Mouse IL-12	Miltenyi	130-096-707
Recombinant Mouse IL-12 ( <i>in vivo</i> )	R&D	419-ML
Recombinant Mouse IL-18	MBL	B002-5
Recombinant Mouse IL-33	Miltenyi	130-112-958
Recombinant Mouse IL-33 ( <i>in vivo</i> )	Biolegend	580502



---

**Kits**

---

Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 17-plex	BioRad	M5000031YV
ChIP-IT High Sensitivity	Active Motif	53040
Extra Sensitive IFN gamma Mouse ELISA Kit	ThermoFischer	BMS609
FoxP3/Transcription Factor Staining Set	eBioscience	00-5523-00
Human IFN-γ DuoSet ELISA kit	R&D	DY285B
iScript Reverse Transcription kit	BioRad	1708840
MycoAlert™ Mycoplasma Detection Kit	Lonza	LT07-118
NK Cell Isolation Kit, human	Miltenyi	130-092-657
NucleoSpin RNA Kit	Macherey-Nagel	740955

---

**Oligonucleotides**

---

<i>GADD45a</i> TaqMan	ThermoFischer	Hs00169255_m1
Negative Primer Set 1 and 2	Active Motif	71001 and 71002
<i>IL1Rap</i> TaqMan	ThermoFischer	Hs00895050_m1
<i>IL1RL1</i> TaqMan	ThermoFischer	Hs00249384_m1
<i>IL1RL1</i> (promoter) Forward	Agilent	5'-GTGATCATCGGGTTCAGCTTATC-3'
<i>IL1RL1</i> (promoter) Reverse	Agilent	5'-GCTTTACTAAATACAACAGCCAGCCT-3'
SimpleChIP Human <i>PRF1</i> Primers	Cell Signaling Technology	9014S

---

## ARTICLE 2: IL-33 activates NK cells in a context- and subset-dependent manner in health and tumors

**Valentin Picant**, Lara Revol-Bauz, Aurélien Voissière, Yamila Rocca, Dominique Poujol, Anaïs Eberhardt, Christophe Caux, Nathalie Bendriss-Vermare.

Article en préparation en vue d'une soumission à court-terme, présenté sous forme de résultats

### *-Contexte, hypothèse et objectifs :*

Le travail présenté précédemment a démontré l'importance de l'IL-12 dans l'induction de l'expression de ST2 au sein d'une sous-populations de NK humaines, avec une description approfondie de cette population ST2+, et a permis de poser un rationnel fort concernant l'intérêt thérapeutique de l'IL-33 pour stimuler les fonctions anti-tumorales des NK en contexte de cancer.

Néanmoins, différentes questions restent ouvertes à l'issu de ce travail, notamment quant aux contextes permettant l'induction de ST2 à la surface des NK humaines, dont l'expression n'a à ce jour été décrite qu'en cas d'exposition à l'IL-12 recombinante. En effet, l'existence d'autres signaux permettant l'induction de ce récepteur ou encore les contextes physiologiques permettant l'émergence d'une population NK ST2+ restent inconnus. Par ailleurs, l'étude présentée précédemment fait état de l'induction de ST2 par l'IL-12 sur une sous-population curieusement restreinte (~15-20% des NK circulants) de cellules CD56<sup>Dim</sup>, questionnant le potentiel des autres populations NK (et notamment les CD56<sup>Bright</sup>) à exprimer ce récepteur. Face à ces questionnements, une expérience préliminaire de criblage de différentes cytokines connues pour réguler la biologie des NK nous a permis d'identifier différents contextes permettant l'expression de ST2, soit sur certaines sous-populations NK spécifiques, soit sur la majorité de ces cellules.

Ainsi, nous avons émis l'**hypothèse** que l'IL-33 pourrait réguler les fonctions anti-tumorales des NK de façon quantitativement et qualitativement différente selon le contexte et la sous-population de NK considérée. Ce projet a ainsi pour **objectif** de décrire et de comparer les fonctions induites par l'IL-33 selon le contexte et la sous-population de NK considérée, pour d'une part mieux comprendre la biologie de l'axe IL-33/NK et d'autre part identifier le contexte optimal au cours duquel l'IL-33 stimule les fonctions anti-tumorales des NK, afin d'optimiser son utilisation lors d'approches thérapeutiques. Pour cela, ce travail s'est construit en trois axes principaux : **i)** l'étude de la régulation de l'expression de ST2 au sein des populations de NK, **ii)** la caractérisation transcriptomique et fonctionnelle des effets de l'IL-33, y compris à long-terme, sur ces cellules et enfin **iii)** l'utilisation de l'IL-33 en tant qu'agent thérapeutique, seul ou en combinaison avec des agents actuellement évalués en clinique et identifiés pour induire ST2 sur les NK, dans des modèles tumoraux chez la souris.

L'objectif à long terme de ce projet de thèse est ainsi de préciser le rôle de l'IL-33 dans l'immunosurveillance médiée par les NK au cours de la tumorigénèse, mais également de positionner l'IL-33 en tant qu'activateur des NK dont l'utilisation pourrait permettre des avancées fondamentales et cliniques.

**Découvertes principales :**

- Virtuellement toutes les populations de NK humaines peuvent répondre à l'IL-33.
- ST2 (IL-33R) est inductible et différentiellement exprimé selon les sous-populations de NK.
- Les NK ST2+ émergent en cas d'interaction avec les cDC, de façon cytokine-dépendante.
- Les stimulations par l'IL-33 génèrent des NK hautement prolifératives et aux propriétés anti-tumorales augmentées sur le long terme.
- L'IL-33 présente un potentiel thérapeutique en stimulant l'immunosurveillance médiée par les NK *in vivo*.

**Mots-clefs:** NK cells, IL-33, NK/DC crosstalk, CIML, cancer immune surveillance, cancer immunotherapy

## -Résultats

### 1-ST2 expression is induced by pro-inflammatory cytokines, allowing human ST2+ NK cells to emerge under a NK/cDC crosstalk

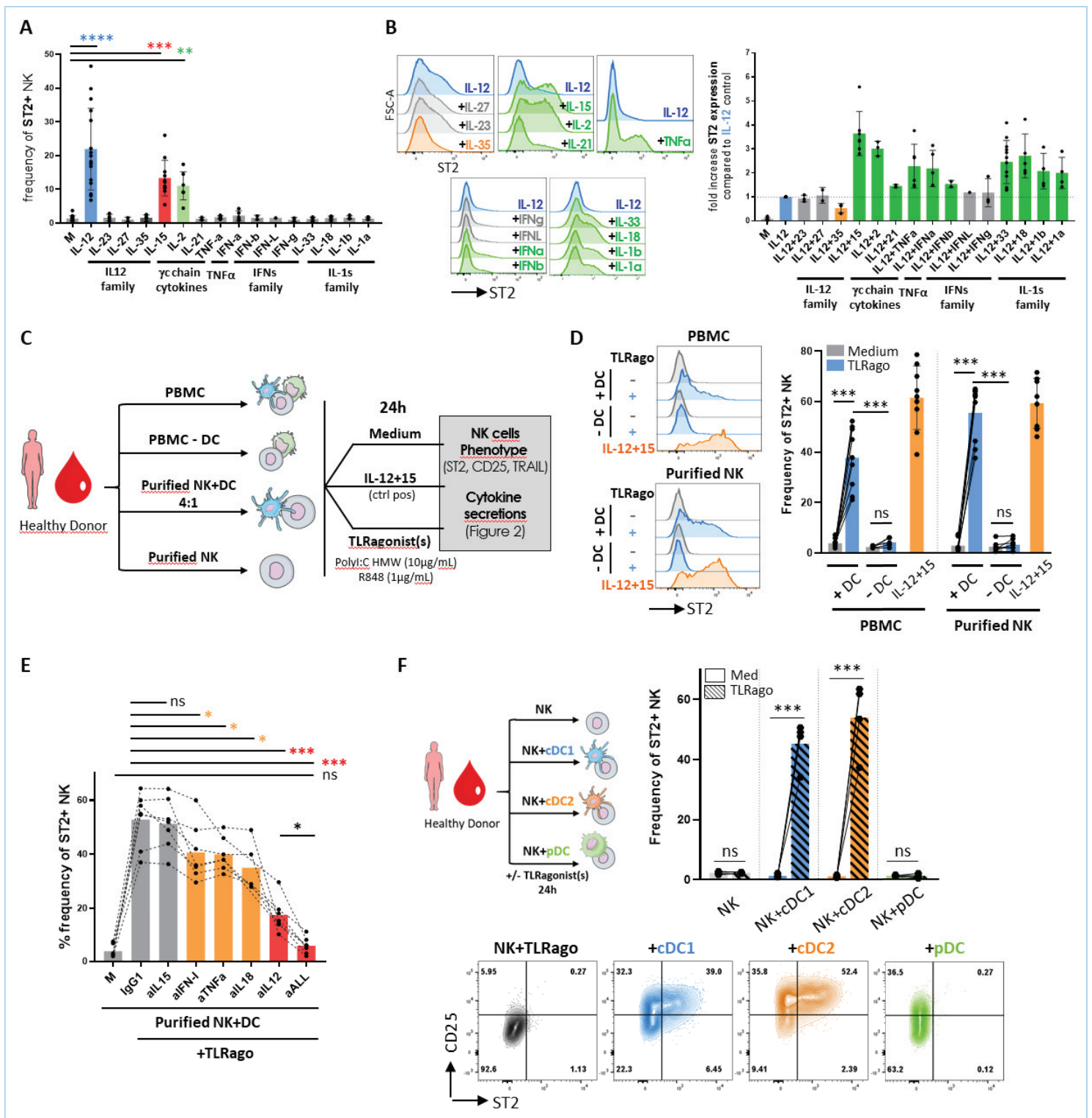
We previously reported the ability of IL-12 to induce Natural Killer (NK) cell IL-33-responsiveness, leading to NK cell activation (Article 1, Eberhardt *et al.* in revision). We investigated the capacity of other well-known NK activating cytokines to induce ST2 expression in human NK cells. In addition to confirming the absence of ST2 in resting NK cells, we found that among the 16 recombinant human cytokines screened, IL-12, IL-15 and IL-2 were able to induce ST2 expression on purified NK cells, with a respective average of 21.9%, 13.3% and 11% positive cells after 24h of incubation (**Fig1.A**). Nonetheless, 8 cytokines unable to induce ST2 by themselves catalyzed IL-12-induced ST2 expression (i.e. IL-21, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-18, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-33 itself), while IL-35 inhibited it. IL-15 and IL-2 combined with IL-12 allowed to reach up to 4-fold more ST2 levels as compared with IL-12 alone, revealing the potential of most NK cells ( $\approx$ 65%) to express ST2 under specific conditions (**Fig1.B**). These synergistic effects were not observed when those 8 cytokines were combined with IL-15 or IL-2 (data not shown).

Interestingly, most of the cytokines identified to induce ST2 expression in NK cells are mainly produced by DC, suggesting that ST2+ NK cells might emerge under a NK/DC crosstalk, which leads to NK cell activation (Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Peterson & Barry, 2021; Walzer *et al.*, 2005). To investigate this hypothesis, we cultured PBMC, PBMC immunomagnetically depleted of DC, purified NK with purified DC at a 4:1 ratio and NK cells alone in presence or absence of the TLR agonists (TLRago) Poly(I:C) and R848 classically used to trigger cytokine production in DCs (Hänel *et al.*, 2022; Hotz *et al.*, 2016) and we used IL-12+IL-15 condition as positive control for ST2 induction (**Fig1.C**). In accordance with previous results, a large proportion of NK cells ( $\approx$ 40%) acquired ST2 expression in TLRago-activated PBMCs (**Fig1.D**). Depletion of DC completely abrogated ST2 induction in NK cells. To further confirm the role of DCs in TLRago-mediated ST2 induction in NK cells, both cell types were purified by immunomagnetic sorting and activated either separately or in coculture. Using purified NK cells, the TLRago did not induce ST2 expression (Fig. 1D); however, in the presence of DCs, TLRago induced ST2 expression in purified NK cells ( $\approx$ 60%), reaching similar levels to IL-12+IL-15 control condition although with lower MFI. These observations demonstrated that ST2 induction in NK cells required the participation of DCs that were likely activated by poly(I:C) and R848 through engagement of TLR3 and TLR7/8 respectively.

To further characterize the molecular and cellular players involved in this NK/DC crosstalk, we first used antibodies specifically neutralizing cytokines identified in Fig1.B (i.e. IL-12, IL-15, pan-IFN-I, TNF $\alpha$ , IL-18) either alone or in combination during purified TLRago-exposed NK/DC cocultures (**Fig1.E**). Blockade of IFN-I, TNF $\alpha$ , and IL-18 moderately diminished ST2 induction, while IL-12 neutralization significantly reduced the percentage of ST2-expressing NK cells (by 3-fold). Importantly, simultaneous blockade of these different cytokines completely abrogated ST2 expression in NK cells, confirming that DC-derived cytokines are involved in the induction of ST2 expression in NK cells. Surprisingly, IL-15 blockade had no effect on ST2 expression, suggesting that (i) IL-15 might be involved in ST2 induction in other contexts or settings or that (ii) we were not able to effectively block IL-15 in our experiments. To identify which DC subset mediates ST2 induction in NK cells, FACS-sorted CD11c+CLEC9A+CD1c-cDC1, CD11c+CLEC9A-CD1c+ cDC2 or CD11c-CD4+CD123+ pDC were cocultured with purified NK cells (at a 4:1 ratio) in presence or absence of TLRago. Only TLRago-activated cDC1 and cDC2, but not pDC, have the potential to generate ST2+ NK cells, while pDC were still able to induce CD25 expression, which is consistent with their respective spectrum of secreted cytokines (IL-12 and IL-15 for cDC, IFN-I

for pDC (Fig1.F) (Kvedaraitė & Ginhoux, 2022). Unability of pDC to generate ST2+ NK cells was further confirmed by using TLR9 agonist CpG-A, known to specifically and strongly activate pDC, where still no ST2 expression was observed in NK cells (data not shown).

In summary, our findings demonstrate that although not expressed at steady state, ST2 expression is unexpectedly induced or regulated by numerous soluble factors in a majority of human NK cells. The emergence of ST2+ NK cell represents a new dimension of the NK/DC crosstalk and specifically relies on cDC-derived pro-inflammatory cytokines.



### **Fig1: ST2 expression is induced in a majority of human NK cells by proinflammatory cytokines and upon NK/cDC crosstalk**

**(A-B)** NK cells were purified from healthy donor's blood and incubated with indicated recombinant human cytokines or combinations for 24h and ST2-positive NK cell frequencies were assessed by FACS. **(A)** Bar graphs illustrate the percentage of ST2-expressing NK cells when exposed to the cytokines alone. **(B) Left:** Representative FACS histogram plots of ST2 expression under indicated conditions, with rhIL-12 in blue and unchanged, increased or decreased expression in grey, green, and orange, respectively. **Right:** Bar graphs report ST2 expression as a fold change using rhIL-12 condition as control. TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  were used at 100ng/ml, IL-2, IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFNL were used at 500U/ml while other cytokines were used at 10ng/ml.

**(C-D)** PBMC, PBMC magnetically depleted of DC, purified NK alone, and purified NK cocultured with purified DC from healthy donor's blood were cultured with or without TLR agonists (R848+Poly(I:C)) or with rhIL-12+IL-15 as a positive control for 24h and NK ST2 expression was quantified by FACS. **(C)** Schema of the protocol used and conditions assessed. **(D) Left:** Representative FACS histogram plots of ST2 expression under indicated conditions. Culture conditions with or without TLR agonists are indicated in grey and blue respectively, while rhIL-12+IL-15 stimulation is highlighted in orange. **Right:** Bar graphs report the percentage of ST2-expressing NK cells in the indicated culture conditions.

**(E)** Purified NK were cocultured with purified DC and exposed to TLR agonists as in Fig1.D, with IgG1 control isotype or neutralizing antibodies targeting DC-derived cytokines (i.e. IL-15, IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-18, IL-12 and a mix of all antibodies). Bar graphs report the percentage of ST2-expressing NK cells in the indicated culture conditions. Decreased expressions reaching statistical significance,  $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ , are highlighted in orange and red, respectively.

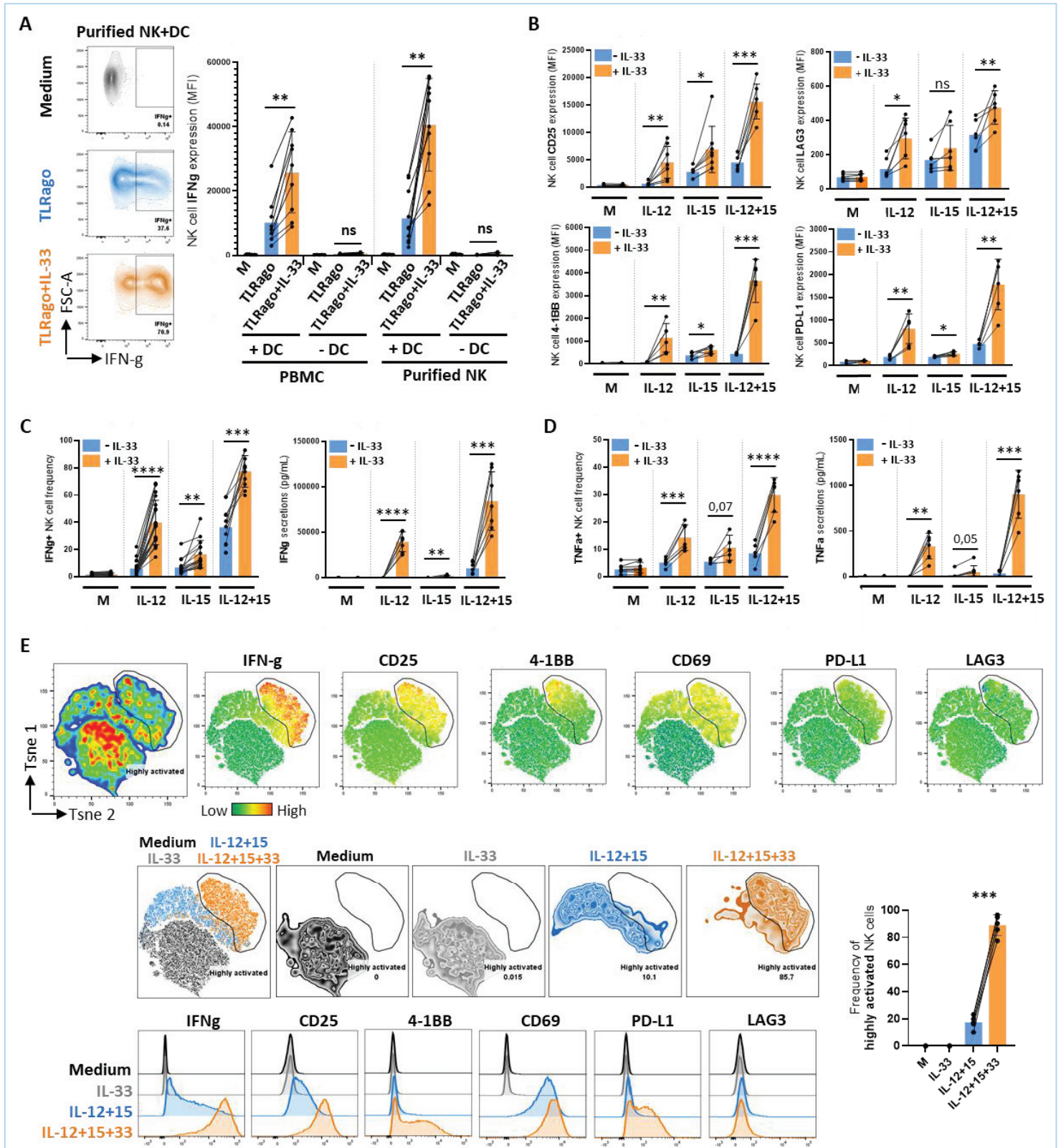
**(F)** Purified NK were coculture with FACS-sorted cDC1 (blue), cDC2 (orange) or pDC (green) and exposed to TLR agonists as in Fig1.D. **Top left:** Schema of the protocol used and conditions assessed. **Bottom:** Representative FACS contour plots of ST2/CD25 expression under indicated conditions. **Top Right:** Bar graphs report the percentage of ST2-expressing NK cells in the indicated culture conditions.

### **2-A large proportion of human NK cells become activated in response to IL-33**

In line with the previous results, we assessed IL-33 responsiveness of human NK cells in culture conditions defined above to trigger ST2 expression (see **Fig.1D**). First, we observed IFN- $\gamma$  expression in NK cells in TLRago-activated PBMC that was further increased (% and MFI) in the presence of IL-33 (**Fig 2.A**). Depletion of DC completely abrogated IFN- $\gamma$  production in NK cells. As previously, NK and DC were purified by immunomagnetic sorting and activated either separately or in coculture. Using purified NK cells, the TLRago did not induce IFN- $\gamma$  expression, even in the presence of IL-33 (Fig. 2A); however, in the presence of DCs, TLRago induced IFN- $\gamma$  expression in purified NK cells that was further increased in the presence of IL-33. Thus, IL-33-dependent IFN- $\gamma$  production in NK cells requires ST2 expression that is induced by TLRago-activated DCs.

Besides induction of IFN- $\gamma$  production, IL-33 effects on human NK cells remained poorly described (Bourgeois et al., 2009; Clark et al., 2021; Ochayon et al., 2020; Qi et al., 2020; Smithgall et al., 2008), especially in combination with other cytokines than IL-12. In that regard and considering both the importance of IL-15 in NK cell biology and in the optimal induction of ST2 expression in combination with IL-12, we characterized the effects of IL-33 combined with IL-12, IL-15 or the combination with the objective to compare IL-33-induced NK functions depending on the cytokine context (**Fig 2 & 3**). First, we confirmed IL-33 ability to highly activate human NK cells through the positive regulation of CD25, 4-1BB, CD69, PD-L1 and LAG3 expression (**Fig 2.B**), consistently with ST2 expression observed previously (**Fig 1**), with IL-12+IL-15+IL-33 combination leading systematically to maximal activation levels, surpassing by far the well-described IL-12+IL-15 and the previously reported IL-12+IL-33

combinations (**Fig 2.B**). Similar observations were obtained by looking at NK cell pro-inflammatory secretions, confirming the potent ability of IL-33 to induce high IFN-g (**Fig 2.C**) and TNF- $\alpha$  (**Fig 2.D**) secretions, with a respective 8.27-fold and 29.9-fold increase as compared to the already highly-activating IL-12+IL-15 stimulation. Interestingly, CD25, CD69, and IFN-g FACS analysis demonstrated a positive signal in up to 80 to 90% of NK cells, highlighting the potential of most human NK cells to respond to IL-33 activating stimulations (**Fig 2.C**, data not shown).



## Fig2: IL-33 combined with ST2-inducing conditions strongly activates human NK cells

**(A)** PBMC, PBMC magnetically depleted of DC, purified NK alone and purified NK cocultured with purified DC from healthy donor's blood were cultured in the same conditions as in Fig1.C/D in the presence or absence of recombinant human IL-33 and intracellular IFN-g secretion in NK was quantified by FACS. **Left:** Representative FACS contour plots of IFN-g expression in DC upon coculture of purified NK and purified inactivated or TLRago-activated DC with or without IL-33. **Right:** Bar graph reports the IFN-g MFI in NK cells in the indicated culture conditions.

**(B-E)** Activation status and cytokine secretions of purified NK cells were assessed following stimulations with rhIL-12, IL-15 and IL-33 either alone or in combination for 24h. **(B)** Bar plots report NK cells surface activation markers (i.e. CD25, 4-1BB, CD69, PD-L1, LAG3) MFI assessed by FACS. **(C)** and **(D)** Bar plots respectively report IFN-g and TNF- $\alpha$  production assessed by FACS in NK cells **(Left)** and quantified in the culture supernatants by ELISA dosage **(Right)**. **(E)** Representative t-SNE analysis of merged FACS data from Medium, IL-33, IL-12+IL-15, IL-12+IL-15+IL-33 culture conditions, with automated cellular dispersion based on indicated marker's MFI signal. Gating identifying highly activated NK cells was defined with automated clustering calculated by FlowSOM algorithm using the following activation markers: IFN-g, CD25, 4-1BB, CD69, PD-L1, LAG3. tSNE plots display **(Top)** the relative expression (based on MFI) of each marker among cells and **(Middle)** NK cells from specific culture conditions. **(Bottom)** Representative FACS histogram with respective expression of the markers used and **(Right)** Bar graphs reporting the frequency of highly activated NK cells in the indicated culture conditions.

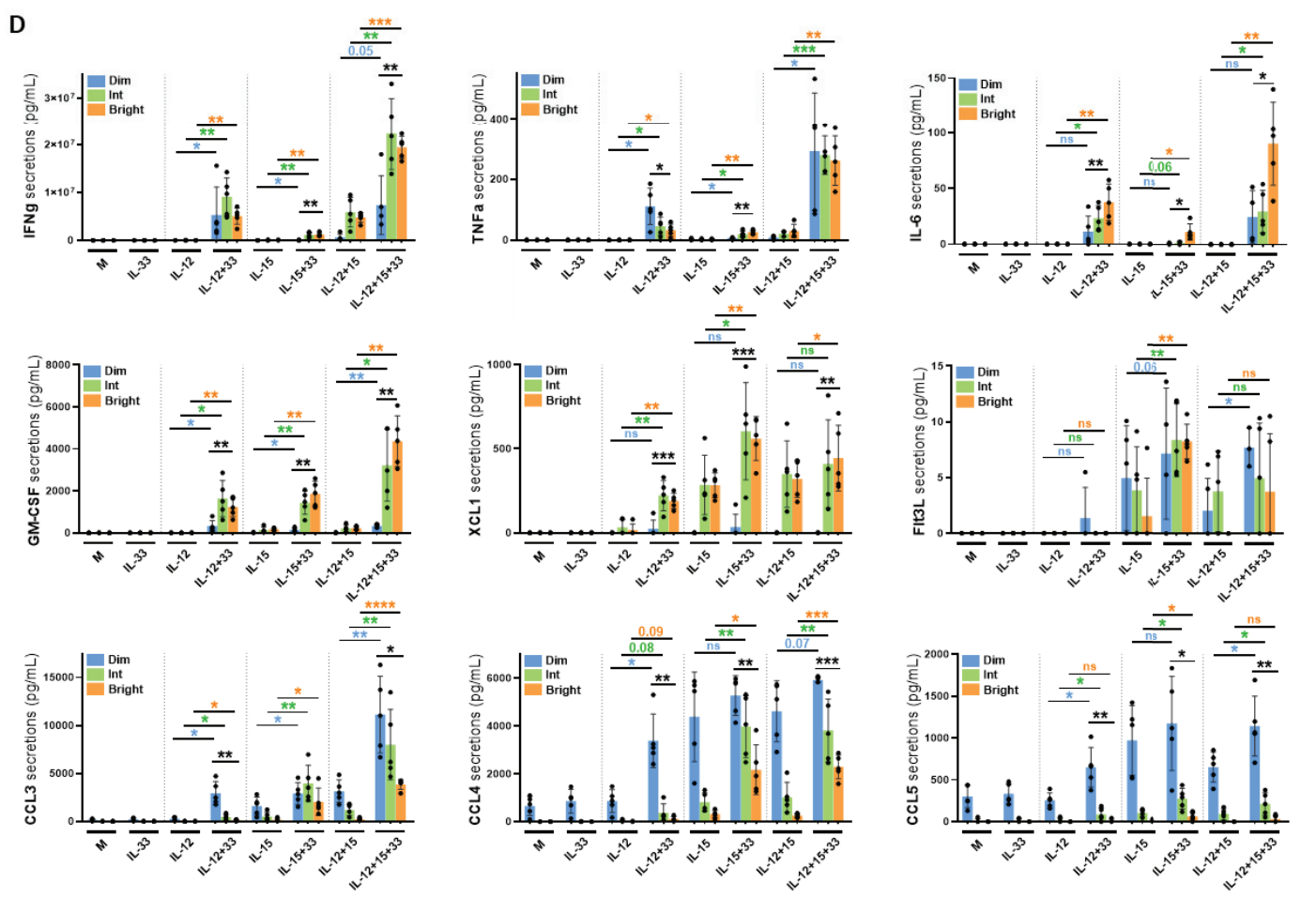
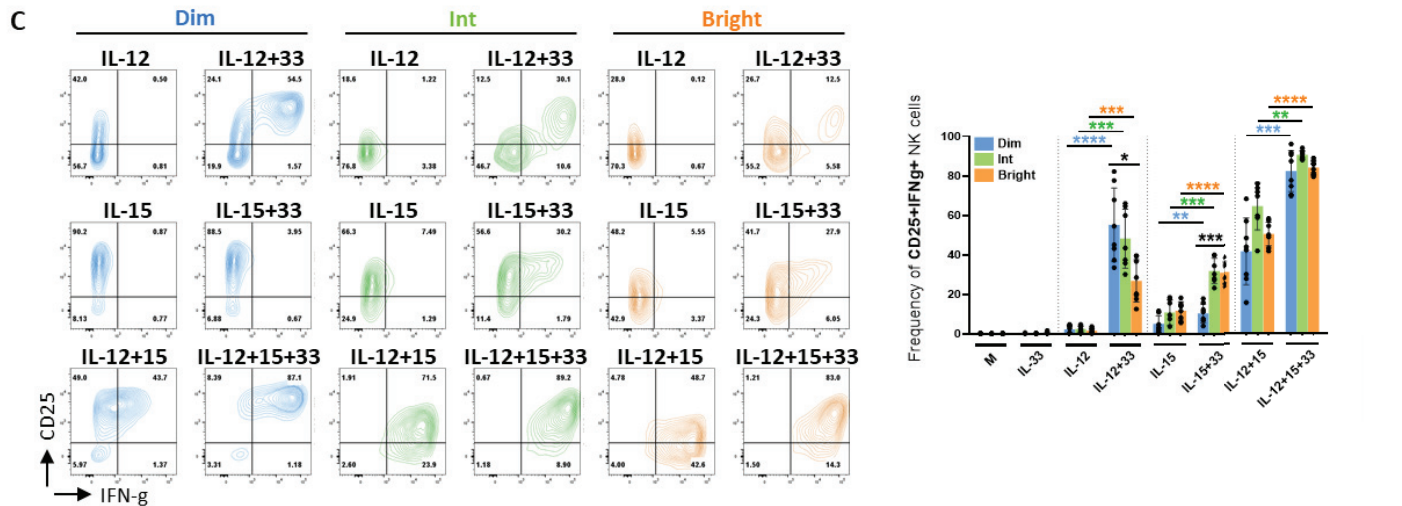
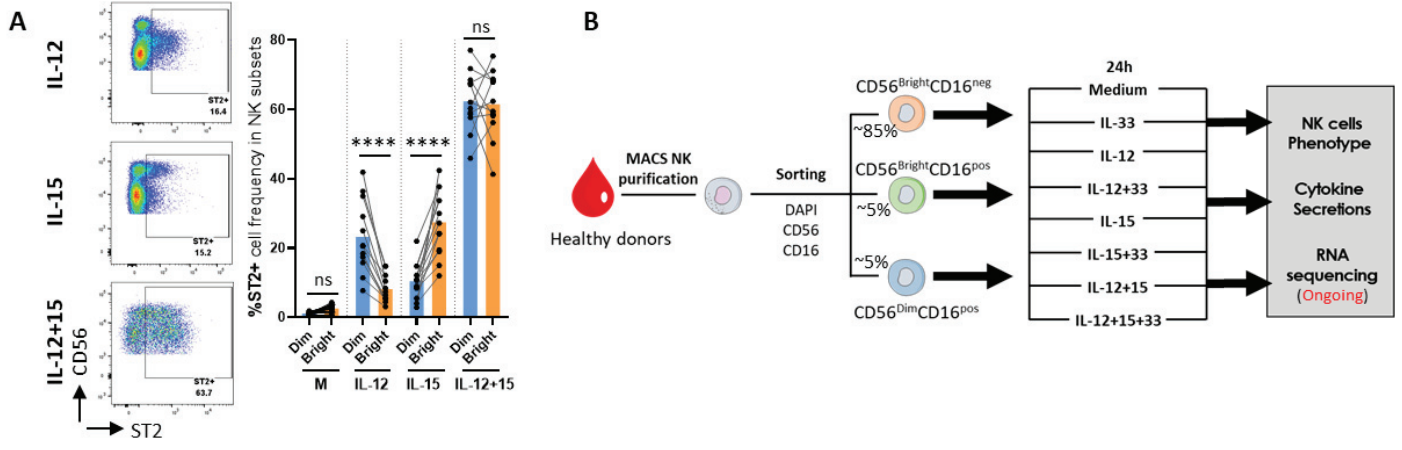
In order to fully appreciate the activation status of NK cells under IL-12+IL-15+IL-33 stimulation, we performed an unsupervised flow cytometry data analysis based on the cumulative expression of the markers IFN-g, CD25, 4-1BB, CD69, PD-L1, LAG3 in a dataset gathering Medium, IL-33, IL-12+IL-15, IL-12+IL-15+IL-33 merged conditions. tSNE (t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding) and unsupervised clustering using FlowSOM algorithm allowed to identify a highly activated cluster of NK cells, that was significantly enriched in IL-12+IL-15+IL-33 conditions (**Fig 2.E**). Interestingly, up to 91% of NK cells exposed to such stimulation harbored a highly activated phenotype.

In summary, although not responding to IL-33 at steady state, 24h-exposure to IL-33 in presence of TLRago-activated DCs or with IL-12 and/or IL-15 catalyzed NK cell activation and cytokine secretions. Our results identified IL-12+IL-15+IL-33 combination triggering the optimal activation of the vast majority of NK cells within short-term culture conditions.

### 3- IL-33 responsiveness of NK cell subsets is differentially controlled by cytokines

Human NK cells can be divided into two main subsets based on CD56 and CD16 expression levels: CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>-/+</sup> and CD56<sup>Dim</sup>CD16<sup>+</sup> subsets. NK cell subsets differentially express cytokine receptors and thus exhibit different patterns of response to cytokines, with CD56<sup>Bright</sup> NK cells being more sensitive to IL-15 as an example (Carson et al., 1994; Wagner et al., 2017). We therefore wondered if such subset-specific ST2 expression and IL-33 reactivity might occur. First, we compared the frequency of ST2-positive NK cells according to CD56 expression under IL-12 and/or IL-15 stimulation and observed a preferential induction of ST2 expression in CD56<sup>Dim</sup> NK by IL-12 and in CD56<sup>Bright</sup> NK by IL-15 respectively, while IL-12/IL-15 synergized to induce similar ST2 expression in both NK subsets (**Fig 3.A**), suggesting that IL-33 might activate NK cells in a subset- and context-dependent manner.





### Fig3: IL-33 activates human NK cell subsets in a context-dependent manner

**(A)** Purified primary NK cells from healthy donors were cultured for 24h in the presence or absence of rhIL-12, rhIL-15 and the combination and ST2 expression in NK cell subsets was assessed by FACS. CD56<sup>Bright</sup> and CD56<sup>Dim</sup> subsets were segregated according to CD56 expression levels. **Left:** Representative FACS histogram plots of ST2 expression according to CD56 marker. **Right:** Bar graphs report the percentage of ST2-expressing CD56<sup>Dim</sup> (in blue) and CD56<sup>Bright</sup> (in orange) NK cells in the indicated culture conditions.

**(B-D)** Human CD56<sup>Dim</sup>CD16<sup>pos</sup>, CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>pos</sup>, and CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>neg</sup> NK subsets, respectively identified in blue, green and orange, were FACS-sorted and stimulated with the indicated cytokines for 24h as schematized in **(B)**. **(C)** Expression of surface CD25 and intracellular IFN-g was assessed in NK cells by FACS **(D)** and levels of cytokines (i.e. IFN-g, TNF- $\alpha$ , IL-6, GM-CSF, XCL1, Flt3L, CCL3, CCL4, CCL5) were quantified in the culture supernatants by ECLIA immunoassays (Meso Scale Discovery).

To investigate this hypothesis, we FACS-sorted CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>-</sup>, CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>+</sup> and CD56<sup>Dim</sup>CD16<sup>+</sup> NK cells, accounting respectively for ~85%, ~5%, ~5% of circulating NK cells and later referred as Bright, Int and Dim. Sorted NK cell subsets were then cultured with IL-12, IL-15, IL-33 and the different combinations for 24h and phenotyped by FACS while supernatants were stored to quantify secreted pro-inflammatory cytokines/chemokines (**Fig 3.B**). In addition, transcriptomic analyses of similarly cultured NK cell subsets have been performed through RNA-sequencing approaches but will be presented in the discussion section since bioinformatics analyses are still ongoing. Consistently with ST2 expression pattern (**Fig.3A**), we observed a greater frequency of CD25<sup>+</sup>IFN-g<sup>+</sup> cells in Dim than Bright NK cells (54 vs 12%) under IL-12+IL-33 stimulation while opposite pattern was observed in IL-15+IL-33 condition (4 vs 28%), although these two combinations were able to activate both NK subsets (**Fig 3.C**). Of note, although the frequency of IFN-g-secreting Bright NK cells was higher under IL-15+IL-33 stimulation, MFI of IL-12+IL-33-treated positive cells appeared much higher. Interestingly, Int NK population cumulated Dim and Bright features with similar frequency of CD25<sup>+</sup>IFN-g<sup>+</sup> NK cells (30%) following both IL-12+IL-33 or IL-15+IL-33 stimulations. No differences were observed between NK subsets under IL-12+IL-15+IL-33 with more than 80% of CD25<sup>+</sup>IFN-g<sup>+</sup> NK cells, regardless of NK subset.

To further characterize the ability of IL-33 to increase NK cell effector functions, while deciphering its context- and subsets-dependent effects, we quantified cytokines and chemokines known to play a role in NK-mediated immunosurveillance (Barry et al., 2018; Böttcher et al., 2018; Dorner et al., 2002; Vitale et al., 2005; Wagner et al., 2017) (i.e. TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, GM-CSF, XCL1, Flt3L, CCL3, CCL4, CCL5, IL-10 and VEGF-A (the last two not being shown)) in culture supernatants (**Fig 3.D**). In accordance with the literature, CD56<sup>Dim</sup> NK cells secreted significantly more CCL3, CCL4, and CCL5 than CD56<sup>Bright</sup> NK cells while the latter is specialized in GM-CSF and XCL1 secretions (Böttcher et al., 2018; Cooper et al., 2001; De Andrade et al., 2019; Fauriat et al., 2010). We confirmed IL-33 ability to increase the production of all tested cytokines and chemokines in each combination condition, since the levels of these soluble factors were significantly increased in the supernatants of at least one NK subset when comparing IL-12+IL-33, IL-15+IL-33, IL-12+IL-15+IL-33 with IL-12, IL-15, IL-12+IL-15 respectively (with Flt3L being the only exception since not detected under IL-12+IL-33 stimulations). Regardless the NK subset, IL-12+IL-33 was more efficient for inducing IFN-g, TNF- $\alpha$ , IL-6 secretion than IL-15+IL-33, while the opposite was observed for XCL1, Flt3L, CCL3, CCL4, CCL5. Interestingly, CCL3, CCL4, CCL5 were only increased in Dim subset under IL-12+IL-33 stimulations while IL-15/IL-33 synergy mainly occurred in Bright subset as observed with IFN-g, TNF- $\alpha$ , IL-6, GM-CSF, XCL1, Flt3L, CCL3, CCL4, CCL5 levels. Of note, Int subset behaved as the Dim counterpart regarding IL-6 secretion but also secreted intermediate levels for CCL3, CCL4, CCL5 while resembling the secretions pattern of Bright NK cells for all other tested

cytokines. Finally, highest levels of IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, GM-CSF, CCL3, and CCL4 were detected in IL-12+IL-15+IL-33 condition.

These results will be nicely supplemented with transcriptomic profiling of NK cell subsets exposed to the different cytokine combinations. Unfortunately, bioinformatic analyses are still ongoing, thus, although preliminary results confirmed the biological data presented above, these analyses will be mentioned only in the discussion section.

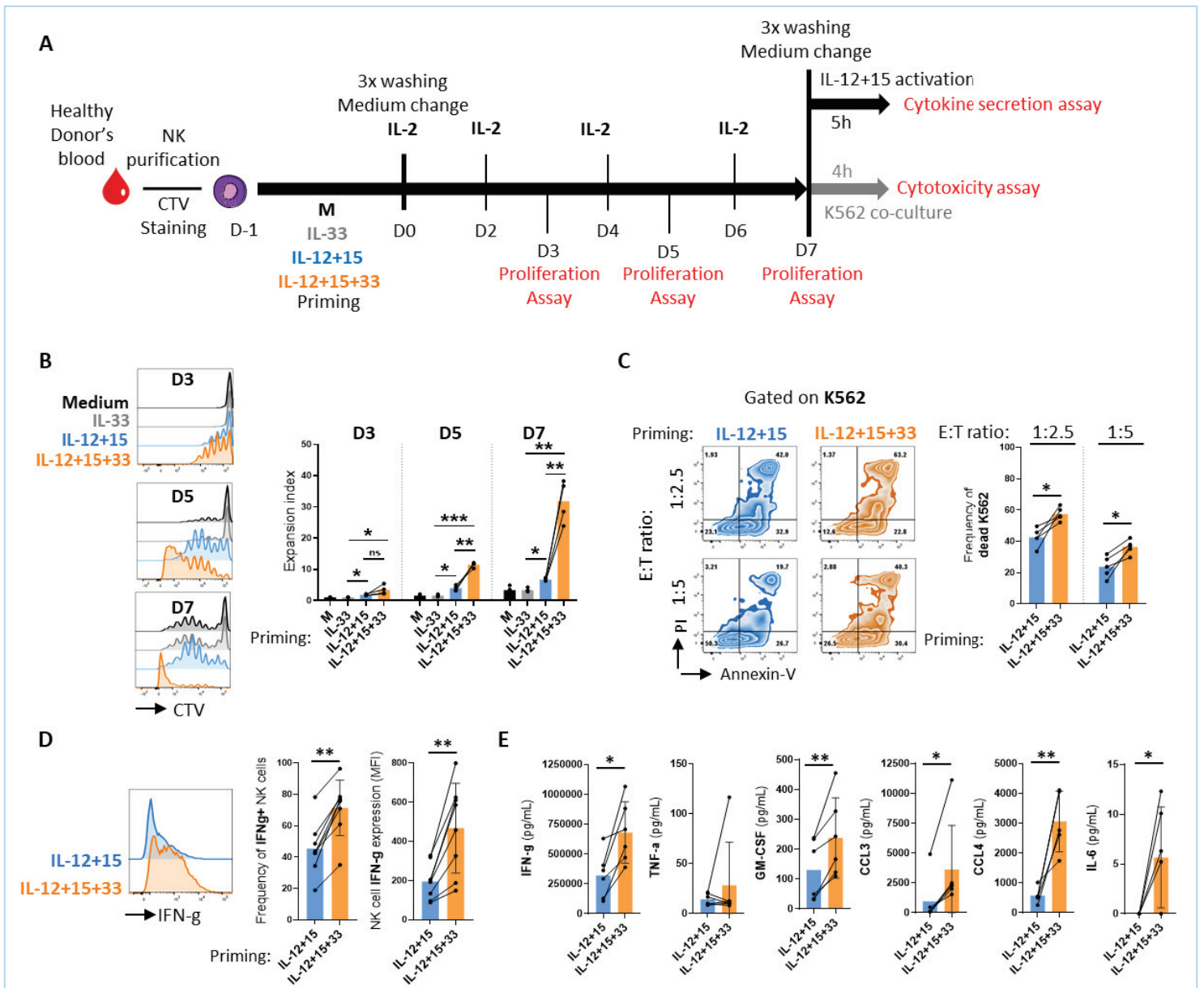
In summary, IL-33 short-term (24h) stimulations are sufficient to activate all NK cell subsets and induce a substantial production of a large variety of cytokines and chemokines. Importantly, IL-33 activates NK cell functions in a context/cytokine- and a subset-dependent manner, which is of strong interest knowing that both frequency of NK cells subsets and amount of IL-12/IL-15 are hugely variable depending of the tissue or the context considered (Dogra et al., 2020; Poli et al., 2009).

#### **4-Cytokine-Induced Memory-Like (CIML) NK cells are induced by a brief stimulation with IL-12, IL-15, and IL-33**

NK cells have been described to acquire adaptive and memory-like features upon brief stimulation with IL-12+IL-15+IL-18 by differentiating into a state with increased proliferation and effector functions upon subsequent reactivation, identified as Cytokine-Induced Memory-Like (CIML) NK cells (Romee et al., 2016; Uppendahl et al., 2019). Thus, CIML NK cells represent a promising therapeutic approach and are currently being assessed in several malignancies in clinics (Tarannum & Romee, 2021; Zhuang et al., 2019). According to the numerous similarities between IL-18 and IL-33 and the reported ability of IL-33 to induce adaptive features in ILC2 (Martinez-Gonzalez et al., 2016), we hypothesized that brief stimulation with IL-12+IL-15+IL-33 might potentially generate CIML NK cells defined as 33-CIML below.

To investigate this hypothesis, we used a protocol previously designed to study CIML, that is divided into three successive phases: A priming phase, a resting/proliferation phase, and a reactivation phase (Cooper et al., 2009; Romee et al., 2016). Briefly, NK cells were purified from healthy donor's blood, stained with Cell Trace Violet (CTV) marker, incubated for 24h in medium or in the presence of IL-33, IL-12+IL-15 or IL-12+IL-15+IL-33 (33-CIML-priming) before being placed in a resting phase with sub-optimal dose of IL-2 used as a pro-survival and -proliferation factor for up to 7 days after which effector functions were assessed (**Fig4.A**). At day 3, early signs of proliferation were only seen in IL-12+IL-15 and 33-CIML conditions. While presence of IL-33 during the priming phase had no impact on NK cell viability (data not shown), frequency of cycling NK cells (data not shown) and number of cycles undergone by NK cells were already increased as soon as day 3 in 33-CIML-primed conditions, with similar results at days 5 and 7. Higher Expansion Index were observed when IL-33 was added to IL-12+IL-15 priming, confirming a higher proliferation of these cells in comparison with IL-12+IL-15-primed NK (**Fig4.B**). 7 days after priming, 33-CIML-primed NK cells displayed increased cytotoxic abilities than their IL-12+IL-15-primed counterparts as observed with greater frequency of lysed K562 target cells following 4-hour cocultures (**Fig4.C**). Consistently, higher levels of pro-inflammatory cytokines and chemokines (except for TNF- $\alpha$ ) were produced by 33-CIML cells following 5h-stimulation with IL-12+IL-15, as observed both by FACS (**Fig4.D**) and immunoassay dosages (**Fig4.E**).

In summary, short-term IL-12+IL-15+IL-33 stimulations deeply activate a vast majority of human NK cells which maintain increased functionality over a long period of time and proliferation. Therefore, such priming represents a potent CIML-inducing strategy, allowing the generation of daughter cells with increased functionality and proliferation potential.



**Fig4: A brief stimulation with IL-12, IL-15, and IL-33 induces CIML features with increased proliferation and long-term effector functions**

**(A-E)** Purified primary NK cells were stained with Cell Trace Violet (CTV), primed for 24h with indicated cytokines (i.e. Medium in black, rhIL-33 in grey, rhIL-12+IL-15 in blue, rhIL-12+IL-15+IL-33 in orange), washed 3 times and incubated with suboptimal doses of IL-2 (100U/ml) for up to 7 days with medium renewal every two days. At day 7, NK cells were washed and their effector functions were assessed, as illustrated in **(A)**.

**(B)** NK cell proliferation was assessed by FACS at day 3, 5, and 7 through CTV staining dilution measurement. **Left:** Representative histogram plots of CTV fluorescence intensity for indicated days and conditions. **Right:** Bar graphs report the Expansion index of indicated conditions calculated by FlowJo's proliferation tool.

**(C)** NK cell cytotoxic ability was assessed by FACS by measuring the frequency of dead AnnexinV<sup>+</sup> PI<sup>+</sup> K562 target cells following a 4h coculture at 1:2.5 and 1:5 effector:target ratios. **Left:** Representative FACS plots of K562 AnnexinV/PI incorporation following coculture with NK cells. **Right:** Bar graphs report the frequency of dead K562 in the indicated conditions.

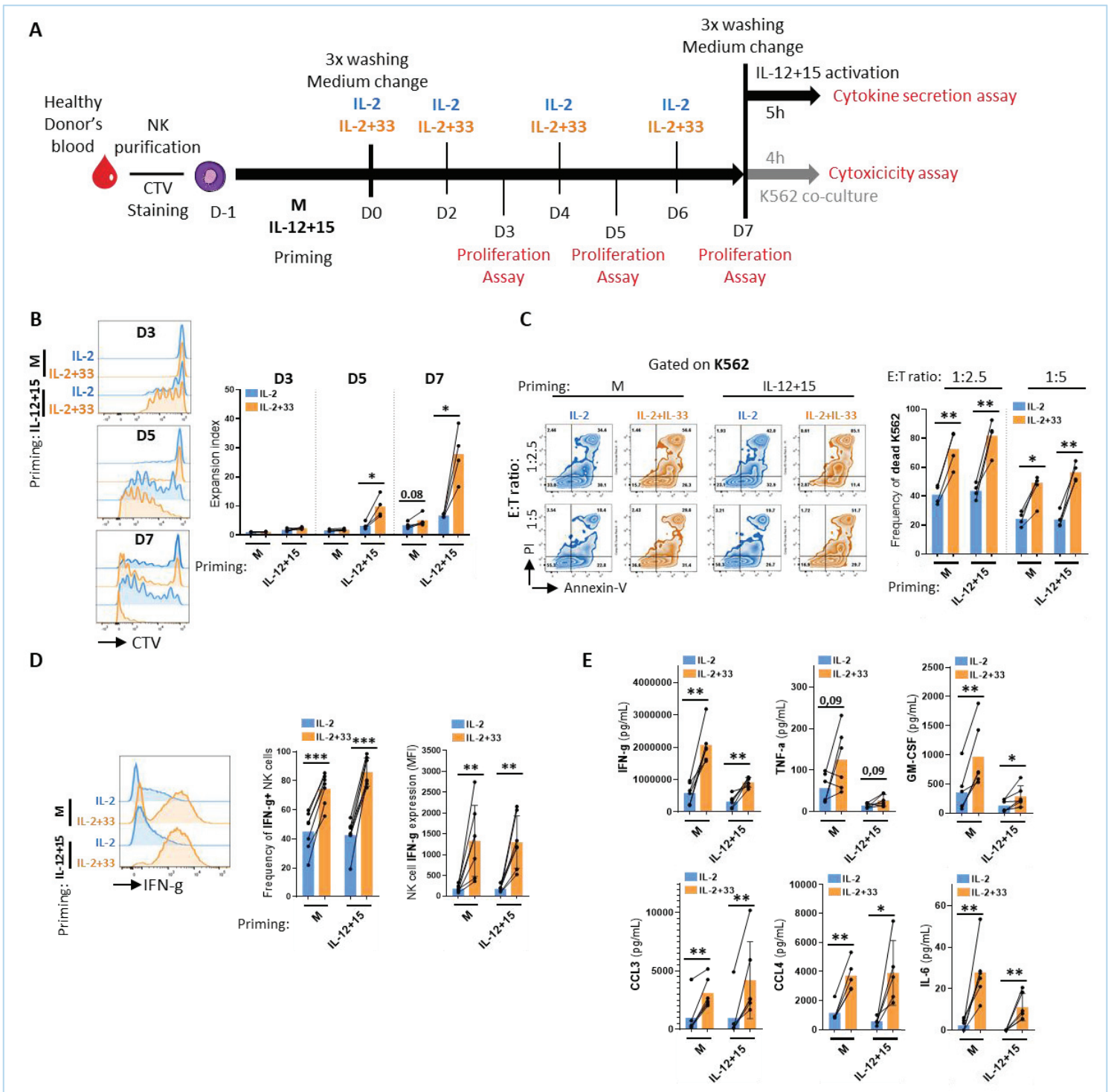
**(D-E)** NK cell cytokine production was assessed both by FACS and quantified in culture supernatants by immunoassays (Meso Scale Discovery) following stimulations with rhIL-12+IL-15 for 5h. **(D) Left:** Representative FACS plots of intracellular IFN-g expression in NK cells. **Right:** Bar graphs report the frequency of IFN-g-positive and MFI signal for NK cells. **(E)** Bar plots report IFN-g, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, CCL3, CCL4, IL-6 concentrations in culture supernatants of NK cells.

### 5-Prolonged exposure to IL-33 increases NK cell effector functions

One remaining challenge of NK-based immunotherapies is the identification of protocols allowing optimal NK cell proliferation while promoting as much as possible their effector functions. Cytokines have been reported as efficient agents to fill this objective, both for *ex vivo* amplification before adoptive transfer or *in vivo* expansions (Hutmacher et al., 2019; Kermer et al., 2012; Olivo Pimentel et al., 2021; Wrangle et al., 2018). In light of the above findings that IL-2 and IL-33 induce their respective receptors (i.e. CD25, ST2), we evaluated the impact of IL-33 long-term exposure on human NK cells with the double objective to investigate if increasing IL-2-induced NK cell proliferation might be one of the direct effects mediated by IL-33 and to mimic prolonged exposures that might happen during chronically inflamed environment such as tumors (Hanahan & Weinberg, 2011).

Purified CTV-stained NK cells were either kept in medium or primed with the optimal ST2-inducing condition (i.e. IL-12+IL-15 stimulation), allowing to compare initially ST2-negative or already IL-33-responsive NK cells, then cultured for 7 days in IL-2 in the presence or absence of IL-33 (**Fig5.A**). As expected, NK cell proliferation was greater in IL-12+IL-15 primed NK cells compared to medium-NK. Although frequency of cycling NK cells was systematically greater in presence of IL-33 (data not shown), expansion index increases only reached significance for IL-12+IL-15-primed NK cells (**Fig 5.B**), highlighting the ability of IL-33 to directly promote IL-2-induced proliferation. Yet, NK cell effector functions were substantially increased following IL-33 long-term exposure regardless the priming received. Indeed, all NK cells exposed to IL-33 for 7 days harbored much higher ability to lyse cocultured K562 target cells (**Fig5.C**) as well as they secreted higher amounts of pro-inflammatory cytokines and chemokines when reactivated with IL-12+IL15 for 5h (**Fig5.D-E**), displaying even higher functionalities than 33-CIML.

Taken together our findings indicated that NK cells chronically-exposed to IL-33 appear to undergo greater proliferation while being primed for increased responsiveness to stimuli, both in terms of cytotoxicity and cytokine secretions. Interestingly, in contrast to IL-15 prolonged activation (Bou-Tayeh et al., 2021; Felices et al., 2018), IL-33-exposed NK cells did not exhibit exhaustion features.



**Fig5: A long stimulation with IL-33 generates NK cells with increased effector functions**

(A-E) Purified primary NK cells were stained with Cell Trace Violet (CTV), primed for 24h with indicated cytokines (i.e. Medium or rhIL-12+IL-15), washed 3 times, and incubated with suboptimal doses of IL-2 (100U/ml) with or without rhIL-33 (10ng/ml), respectively identified in blue and orange, for up to 7 days, with medium renewal every two days. At day 7, NK cells were washed and their effector functions were assessed, as illustrated in (A).

(B) NK cell proliferation was assessed by FACS at day 3, 5, and 7 through CTV staining dilution measurement. **Left:** Representative histogram plots of CTV fluorescence intensity for indicated days and conditions. **Right:** Bar graphs report the Expansion index of indicated conditions calculated by FlowJo's proliferation tool.

**(C)** NK cell cytotoxic ability was assessed by FACS by measuring the frequency of dead AnnexinV+ PI+ K562 target cells following a 4h coculture, at 1:2.5 and 1:5 effector:target ratios. **Left:** Representative FACS plots of K562 AnnexinV/PI incorporation following coculture with NK cells. **Right:** Bar graphs report the frequency of dead K562 in the indicated conditions.

**(D-E)** NK cell cytokine production was assessed both by FACS and quantified in culture supernatants by immunoassays (Meso Scale Discovery) following stimulations with rIL-12+IL-15 for 5h. **(D) Left:** Representative FACS plots of IFN-g intracellular expression in NK cells. **Right:** Bar graphs report the frequency of IFN-g-positive and MFI signal for NK cells. **(E)** Bar plots report IFN-g, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, CCL3, CCL4, IL-6 concentrations in culture supernatants of NK cells.

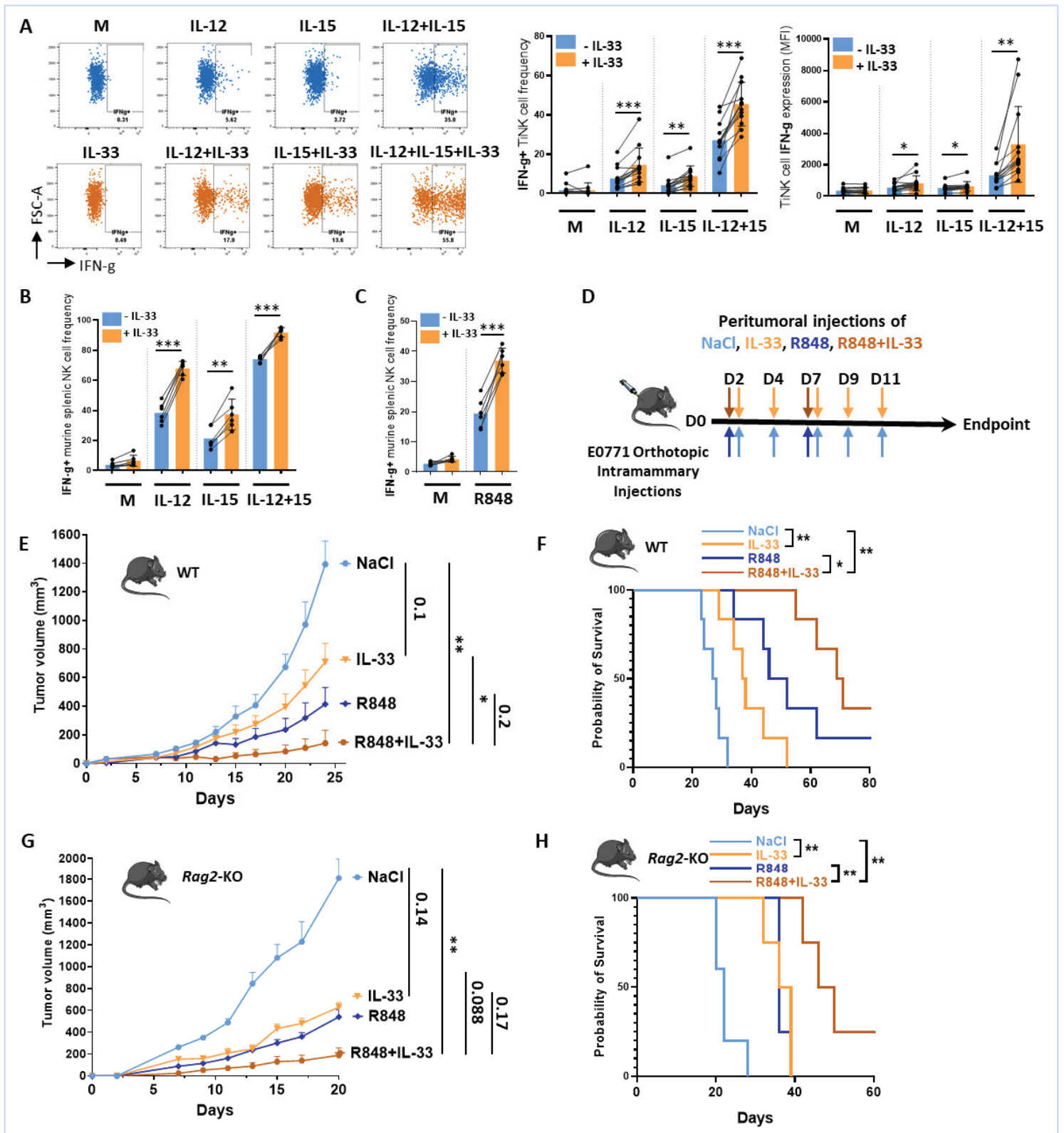
### **6-IL-33 drives tumor rejection *in vivo* and synergizes with DC-targeting therapies**

NK-mediated immunosurveillance has been described in many tumors and associated with good prognosis in many human cancers (Chew et al., 2010; Cursons et al., 2019; Denkert et al., 2018; Imai et al., 2000; Ishigami et al., 2000; Peng et al., 2017; Takamami et al., 2001). Yet, NK cells become dysfunctional in tumor context, a process that has been linked with tumor progression (Gao et al., 2017), highlighting the importance of identifying new ways to reinvigorate tumor-infiltrating NK cells (TiNK). According to our abovementioned findings, we hypothesized that exogenous IL-33 might be used as a therapeutic agent to drive NK-mediated tumor rejection.

To investigate the potential of TiNK to respond to IL-33, we cultured single cell suspensions derived from mechanically and enzymatically digested fresh human tumors (prospectively collected from breast, ovarian, colon and kidney cancer patients) with IL-12, IL-15 and IL-33. Similar patterns of IFN-g production were observed in TiNK in response to IL-12, IL-15, and IL-33 compared to control NK from HD blood, although with lower levels of expression (**Fig 6.A**). Interestingly, ongoing experiments that will be discussed later demonstrate i) the co-presence of IL-33 and ST2-inducing cytokines (i.e. IL-12 p40, IL-15, TNF $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-1 $\alpha/\beta$ , IL-18) in human tumors, ii) the colocalization of NK and cDC into the tumor microenvironment, and iii) the expression of ST2 in a fraction of TiNK.

Before assessing the therapeutic potential of IL-33 in preclinical tumor models *in vivo*, we first investigated whether murine NK cells present similar reactivity as human NK cells to IL-33 *ex vivo*. Similarly, to human NK cells, IL-12, IL-15 and cDC-activating TLRago R848 allowed murine NK cells in total splenocytes to get activated by IL-33 (**Fig6.B-C**). In light of our finding that ST2+ NK cells emerge under a NK/DC crosstalk (**Fig1.D-F**) and in regards with the promising results from ongoing clinical trials for molecules inducing NK/DC crosstalk into the tumor microenvironment (i.e. TLRago, STING agonists) (Rolfo et al., 2023), we decided to evaluate anti-tumor properties of IL-33 either alone or in combination with R848 in the orthotopic E0771 mammary tumor model known to be controlled by NK cells (Stellas et al., 2023) (**Fig 6.D**). IL-33 peritumoral injection as a single agent was sufficient to reduce tumor growth and increase mice survival compared with the NaCl control group, although being less effective than R848 (**Fig6.E-F**). Interestingly, mIL-33 and R848 worked in synergy leading to stronger antitumor effects than R848 alone. Importantly, similar results were obtained in *Rag2-KO* mice (**Fig6.G-H**), thus excluding potential involvement of CD8+ T lymphocytes known to respond to IL-33 and suggesting a NK-mediated tumor rejection.

In summary, we identified IL-33 as an interesting therapeutic agent with anti-tumor properties that might be driven by TiNK cells, although further experiments are needed to confirm this hypothesis and they will be discussed later.



**Fig6: IL-33 drives tumor rejection *in vivo* and synergizes with DC-targeting therapies**

(A) Single cell suspensions derived from mechanically and enzymatically digested human fresh tumors from breast, ovarian, colon and kidney cancer patients were stimulated *ex vivo* with rhIL-12, rhIL-15, rhIL-33 either alone or in combination and IFN-g intracellular production in tumor-infiltrating CD56+CD7+CD3- NK cells was assessed by FACS. Conditions without IL-33 are identified in blue and with IL-33 in orange. **Left:** Representative FACS plots of IFN-g expression in tumor-infiltrating (Ti)NK cells under indicated stimulations. **Right:** Bar graphs report the frequency of IFN-g-positive and MFI signal in stimulated TiNK.



**(B-C)** Murine splenocytes were prepared as for tumors in Fig6.A, and were then stimulated either with murine recombinant cytokines **(B)** or TLR agonists **(C)** and IFN- $\gamma$ -positive NK1.1+CD3- cells were measured by FACS.

**(D-H)**  $2.5 \times 10^5$  E0771 tumor cells were orthotopically injected in the mammary fat pad of C57BL/6 **(D-E)** WT mice or **(F-G)** *Rag2*-KO mice. 2 days later, mice were treated in the tumor area with NaCl, IL-33, R848, or in combination, as schematized in **(D)**. **(E and G)** Tumor volume and **(F and H)** mice survival were monitored overtime.

## Partie 2 : Identification de l'IL-35 comme un nouvel inhibiteur des NK humaines

### ARTICLE 3: Interleukin-35 impairs human NK cell effector functions by inducing an ILC1-like conversion

**Valentin Picant**, Lara Revol-Bauz, Laurie Tonon, Dominique Poujol, Emilie Picard, Céline Rodriguez, Cyril Degletagne, Christophe Caux, Nathalie Bendriss-Vermare.

Article en cours de finalisation en vue d'une soumission imminente (septembre/octobre 2023)

#### *-Contexte, hypothèse et objectifs :*

L'IL-35 est une cytokine découverte relativement récemment, dont les effets immunosuppresseurs semblent impliqués dans de nombreux processus physiopathologiques, tels que la grossesse ou lors d'inflammations chroniques. En effet, cette cytokine participe à l'induction de la tolérance immunitaire en inhibant et assurant la conversion de populations immunitaires aux fonctions pro-inflammatoires vers un profil immunosuppresseur et en stimulant les fonctions des cellules immunorégulatrices. Néanmoins, ses effets directs sur les NK humaines restent à ce jour inconnus. De façon fortuite, nous avons observé une diminution de l'activation des NK humaines exposées à l'IL-35 *in vitro*. Ainsi, nous avons émis l'**hypothèse** que l'IL-35 régule négativement les fonctions effectrices des NK humaines et participe à leurs altérations fonctionnelles observées au cours de différents processus physiopathologiques. Ce projet a ainsi eu pour **objectif** de décrire pour la première fois les effets de l'IL-35 sur les NK humaines, en caractérisant les mécanismes au travers desquels cette dernière participe à l'inhibition des fonctions effectrices des NK. Pour cela, ce travail s'est construit en trois axes principaux : **i)** mettre en évidence et caractériser l'effet inhibiteur de l'IL-35 lors d'activation courte des NK (24h), **ii)** évaluer l'impact d'une exposition longue (>7jours) à l'IL-35 mimant des contextes d'inflammations chroniques, et enfin **iii)** caractériser, au travers de profilages transcriptomiques à l'échelle de la cellule unique, phénotypiques et fonctionnels, les mécanismes par lesquels l'IL-35 modifie les fonctions des NK.

La retombée à long terme de ce projet de thèse sera ainsi d'identifier l'IL-35 comme un nouveau régulateur négatif des NK, potentiellement impliqué dans l'altération fonctionnelle de ces dernières observée dans divers contextes physiopathologiques, et de proposer un rationnel pour le ciblage thérapeutique de cette molécule en clinique.

#### **Découvertes :**

- Les NK primaires humaines sont sensibles aux effets immunosuppresseurs de l'IL-35.
- L'IL-35 polarise fonctionnellement les NK vers un profil tolérogène et pro-angiogénique.
- Une exposition à long-terme à l'IL-35 induit une conversion des NK en ILC1-like de façon dépendante du TGF- $\beta$ .
- Les ILC1-like dérivées de NK et induites par l'IL-35 sont hétérogènes.

**Mots-clefs :** NK cells, IL-35, Immunosuppression, ILC1-like conversion, TGF- $\beta$

*-Article scientifique*

**Interleukin-35 impairs human NK cell effector functions by inducing their ILC1-like conversion**

Valentin Picant<sup>1</sup>, Lara Revol-Bauz<sup>1</sup>, Laurie Tonon<sup>2</sup>, Dominique Poujol<sup>1</sup>, Emilie Picard<sup>1</sup>, Céline Rodriguez<sup>1</sup>, Cyril Degletagne<sup>3</sup>, Christophe Caux<sup>1</sup>, Nathalie Bendriss-Vermare<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CISTAR team, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, INSERM U1052, CNRS UMR5286, Université de Lyon, Université Lyon 1, Centre Léon Bérard, F-69000 Lyon, France.

<sup>2</sup> Fondation Synergie-Lyon-Cancer, Centre Léon Bérard, F-69000 Lyon, France.

<sup>3</sup> Genomic platform, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, INSERM U1052, CNRS UMR5286, Université de Lyon, Université Lyon 1, Centre Léon Bérard, F-69000 Lyon, France.

\*Corresponding author. Email: [nathalie.bendriss-vermare@lyon.unicancer.fr](mailto:nathalie.bendriss-vermare@lyon.unicancer.fr)

**Highlights:**

- Human NK cells are sensitive to IL-35 immunosuppressive effects
- IL-35 functionally polarize effector NK cells toward a tolerogenic pro-angiogenic profile
- Long-term exposure to IL-35 induce an NK to ILC1-like conversion in a TGF- $\beta$ -dependent manner
- IL-35-induced NK-derived ILC1-like are heterogeneous

## **Abstract**

Interleukin 35 (IL-35), a new member of the IL-12 family, plays a role in immune suppression. However, whether IL-35 can inhibit NK cell activity, especially in humans, is still enigmatic. In this study, we observed that human NK cells express the IL-35 receptor chains, mainly *il12rb2* and *il27ra*, that are further upregulated upon NK activation. Consequently, brief exposure to IL-35 (24h) impaired NK cell proliferation and phenotypic activation associated with altered expression of activating and inhibitory NK receptors. Furthermore, brief exposure to IL-35 inhibited NK cell effector functions, i.e. IFN- $\gamma$  production and cytotoxicity, while promoting the production of angiogenic factors by NK cells. Furthermore, chronic exposure to IL-35 (>6days) induced NK cells in a functionally hyporesponsive state that was associated with a TGF- $\beta$ -dependent conversion of NK cells into CD9+ CD103+ CD49a+ ILC1-like cells. Single cell RNAseq further confirmed these observations and revealed ILC1-like heterogeneity that depends on the ex-NK state. Thus, our findings identified IL-35 as a new driver of plasticity between conventional NK cells and ILC1 populations leading to impaired effector functions.

**Keywords:** NK cells, IL-35, immunosuppression, ILC1-like conversion, chronic inflammation

## Introduction

Innate lymphoid cells (ILCs) are heterogeneous innate lymphocytes classified into 5 subsets that share effector functions and transcriptional factors with their adaptive T cell counterparts (Cherrier et al., 2018). Natural killer (NK) cells express the transcription factor (TF) Eomes and exert cytotoxic activity like cytotoxic CD8 T cells. ILC1, ILC2 and ILC3 are characterized by the expression of T-bet, GATA3 and ROR $\gamma$ t and functionally mirror their counterparts Th1, Th2 and Th17, respectively. Among the ILC family, NK cells and ILC1s have been reported to be involved in the anti-viral and anti-tumor type 1 responses and to secrete IFN- $\gamma$ . Both cell subsets share many similarities at a transcriptional and phenotypic level such as the expression of T-bet and natural killer receptors including CD56, NKp44, NKp46 and CD161 (Spits et al., 2016). Originally, NK cells were discriminated from ILC1s by their selective expression of Eomes and their cytotoxic function through high production of granzymes and perforin (Bernink et al., 2013; Wolf et al., 2022). However, recent studies evidence that this dichotomy was not that clear. Indeed, subsets of ILC1 expressing Eomes and secreting granzymes and perforin were identified in pathological conditions in both humans (Cella & Robinette, 2021) and mice (Di Censo et al., 2021; Friedrich et al., 2021). Importantly, these subsets of ILC1 were endowed with cytotoxic properties and were able to efficiently kill target cells (Nixon et al., 2022). In addition, it has been reported that NK cells from peripheral blood were able to differentiate towards ILC1-like NK cells in the tumor microenvironment (TME) of human head and neck cancer (Moreno-Nieves et al., 2021). ILC1-like NK cells, as an intermediate state between NK and ILC1, share phenotypical and functional features with NK cells, although displaying reduced ability to kill target cells and to interact with other anti-tumor immune cells (Lopes et al., 2023). These observations suggest a high plasticity between NK and ILC1 according to their environment where cytotoxic NK cells can convert into low/non-cytotoxic ILC1 and ILC1 can acquire cytotoxic features.

NK cells are key players against pathogenic threats such as infections and cancers (Denkert et al., 2018; Malmberg et al., 2017). They ensure host defenses through their intrinsic cytotoxic ability leading to dangerous cell lysis (Vivier et al., 2008), but also through their unique aptitude to secrete cytokines and chemokines such as IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  or XCL1 that promotes attraction, survival and activation of other immune effector cells such as dendritic cells (DCs) (Barry et al., 2018; Böttcher et al., 2018) and T cells (Huntington et al., 2020; Mocikat et al., 2003). These essential and complementary roles allow to generate a complete and efficient innate and adaptive immune response and are provided by distinct NK cell subsets. Human NK cells are subdivided into two main subsets based on CD56 expression, known as CD56<sup>Bright</sup> and CD56<sup>Dim</sup> NK cells (Nagler et al., 1989). Interestingly, although CD56<sup>Bright</sup> NK cells mature into CD56<sup>dim</sup>, those two subsets have been shown to differ in terms of phenotype, location, responsiveness to external stimulation and at some degree in their functions (Cooper, Fehniger, & Caligiuri, 2001; Vivier et al., 2008). Indeed, CD56<sup>Dim</sup> NK cells have high cytotoxic

properties mediated by a strong production of granzymes and perforin (Cooper, Fehniger, Turner, et al., 2001; Poli et al., 2009) while CD56<sup>Bright</sup> NK cells are poorly cytotoxic (Cooper, Fehniger, Turner, et al., 2001) and have a more regulatory function by the secretion of large amounts of cytokines (Vivier et al., 2008). NK cell function relies on the integration and the balance between both activating and inhibitory signals, allowing to perpetually and finely regulates the state and level of activation of these cells. Among these signals, activating cytokines such as interleukin (IL)-12, -15 and -18 favor NK cell activation, as well as maturation and survival (Ferlazzo et al., 2004; Serti et al., 2014). On the contrary, in immunosuppressive microenvironment such as TME, NK cell phenotype and functions may be altered. Indeed, TME is well known to be enriched in inhibitory cytokines which were shown to affect NK cells. The production of TGF- $\beta$  by myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) (Y. Mao et al., 2014) and regulatory T cells (Tregs) (W. Liu et al., 2017) has been reported to largely decrease NK cell cytotoxic activity and IFN- $\gamma$  production in non-small cell lung cancer (NSCLC) and melanoma, respectively.

Among inhibitory cytokines, IL-35 has recently been classified as new member of the IL-12 family. IL-35 is mainly produced by regulatory cells such as activated Tregs (Collison et al., 2007, 2010), regulatory B cells (Bregs) (R. X. Wang et al., 2014) and has been described as a potent immunosuppressor involved in different pathologies. Indeed, IL-35 has been reported to suppress immune responses through complementary processes, such as the inhibition of effector T cells (Turnis et al., 2016), the polarization of macrophages and neutrophils (Zhang et al., 2016; Zou et al., 2017) toward pro-tumoral cells, while promoting Treg and Breg conversion and expansion (Collison et al., 2010; R. X. Wang et al., 2014). On lymphocytes, these effects are mediated through engagement of heterodimeric receptors composed of different combinations of GP130, IL-12R $\beta$ 2 and IL-27R $\alpha$  subunits (Collison et al., 2012; R. X. Wang et al., 2014). Invariably, IL-35 has been correlated with disease progression and bad prognosis in mice models of chronic inflammatory diseases or cancers and consistent observations were made in patients (Jin et al., 2014; Larousserie et al., 2019). The effect of IL-35 on NK cells has poorly been studied. Recently, Breg-derived IL-35 have been reported to diminish mice NK cells-mediated anti-tumor immunity in pancreatic cancer models (Berger et al., 2022). However, to our knowledge, the effect of IL-35 on human primary NK cells have never been studied.

We propose here to evaluate the effects of IL-35 on human primary NK cells in both acute and chronic stimulation in order to mimic long-term pathologies in which NK cell dysfunction occurs. To address this question, we used human primary NK cells to investigate the direct impact of IL-35 exposure on the phenotype, the identity, main functions and activities of these cells. Our results highlight strong suppressor effects of IL-35 on NK cell phenotype, pro-inflammatory and cytotoxic functions, while promoting an ILC1-like conversion that might be of importance in various chronic inflammatory contexts.

## **Material and methods**

### **Human primary NK cells isolation**

Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) were isolated from whole blood of healthy donors (EFS Rhône-Alpes) by density gradient centrifugation on Lymphocyte Separation Medium (CMSMSL01, Eurobio). Total NK cells were purified from PBMCs by negative immune-selection using the Human NK cell isolation kit (130-092-657 Miltenyi) following the manufacturer's instructions and purity always exceeded 95%.

### **Short-term culture**

NK cells were cultured in RPMI GlutaMAX (72400-021 Gibco) complemented with 10% Foetal Calf Serum, 1% penicillin-streptomycin (15140-122 Gibco), 1x Non-Essential Amino Acids (11140-035 Gibco), 1x Sodium Pyruvate (11360-070 Gibco) (complete RPMI, cRPMI). cRPMI was supplemented with IL-2 (PL1077Y FR Clinigen) at 1000 UI/mL or with IL-12 (Miltenyi Premium Grade 130-096-798) and/or IL-18 (B001-5 MBL) at 10ng/mL each, for NK cell activation, in presence or absence of IL-35 at 200 ng/mL (200-37 Peprotech)

### **Long-term culture and blocking experiment**

NK cells were cultured in RPMI GlutaMAX (72400-021 Gibco) complemented with 20% AB Serum, 1% penicillin-streptomycin (15140-122 Gibco), 1x Non-Essential Amino Acids, 1x Sodium Pyruvate (RPMI+SAB). RPMI+SAB was supplemented with IL-2 at 100UI/mL in presence or absence of IL-35 at 100ng/mL. For blocking experiment, 1 $\mu$ M Galunisertib (LY-364947 Sigma) was added in the culture medium. Culture medium was renewed every 2 days for 7 days.

### **Proliferation assay**

NK cells were stained with 5  $\mu$ M Cell Trace Violet (CTV) (C34557A Invitrogen) for 20 min at 37°C, then washed twice. NK cells were activated overnight in RPMI+SAB supplemented with IL-12 and/or IL-15 (200-15 Peprotech). Subsequently, NK cells were washed three times and cultured for 9 days in RPMI+SAB supplemented with IL-2 at 100UI/mL in presence or absence of IL-35 at 200ng/mL. Culture medium was renewed every 2 days. CTV dilution was analyzed by flow cytometry on day 3, 5, 7 and 9 and the number of cells at the end of proliferation assay was evaluated using Flow-count Fluorospheres (7547053 Beckman Coulter)

### **Cytotoxic assay**

K562 cells were stained with 5  $\mu$ M CTV for 20 min at 37°C, then washed twice. K562 were co-culture with NK cells at indicated effector to target ratio for 4 hours at 37°C. After 4 hours, cells were stained with APC Annexin V Apoptosis Detection Kit with PI (640932 Biolegend), following manufacturer's instructions. NK cytotoxicity was monitored by flow cytometry analysis of K562 cells apoptosis.

### **Cytokine secretion assay**

Active TGF- $\beta$ 1 was quantified in long-term culture supernatants of activated NK cells using LEGEND MAX™ Free Active TGF- $\beta$ 1 ELISA Kit (437707 Biolegend) following manufacturer's instructions.

The following cytokines and chemokines were quantified in culture supernatant of activated NK cells using the MSD technology: IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF, CCL3 (MIP-1 $\alpha$ ), CCL4 (MIP-1 $\beta$ ), XCL1 (Lymphotactin), FLT3-L, VEGF-A, IL-8, CCL5 (RANTES). Quantifications of all cytokines except XCL1 and CCL5 were performed according to the U-plex protocol following manufacturer's instructions. Quantifications of XCL1 and CCL5 were performed according to the R-plex protocol following manufacturer's instructions. Samples were acquired with the MESO QuickPlex SQ 120 instrument.

### **Staining and flow cytometry**

To prepare immunostaining, cells were washed twice. Then, cells were incubated with a viability dye (Zombie Nir 423106 Biolegend or Zombie Aqua 433102 Biolegend) for 20min at 4°C. Surface staining was performed using the antibodies listed in Table 1 for 15min at 4°C. Sample were fixed in 4% formaldehyde solution (Sigma F8775-500ML).

For IFN- $\gamma$  intracellular staining, Golgi Plug (51-2301KZ, BD Biosciences) was added at 1 $\mu$ L for 1 million cells in the culture medium, 4 hours prior to staining. Viability and surface staining were performed as previously described. Then, cells were fixed in 4% formaldehyde solution and permeabilized in 0,5% saponin (84510-100G Sigma). Intracellular staining was performed using the antibodies listed in Table 1, for 25 min at room temperature.

For transcription factor staining, viability and surface staining were performed as previously described. Then, cells were fixed in 4% formaldehyde solution and permeabilized using the FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set (00-5523-00 eBioscience). Transcription factor staining was performed using the antibodies listed in Table1 for 35 min 4°C

After staining, cells were washed twice and samples were acquired on LSR Fortessa flow cytometer (BD Biosciences). Results were analyzed using FlowJo software (BD v10.8.1)

### **Cell preparation for RNAseq**

MACS-purified total NK cells were stained with antibodies for CD56 and CD16, FACS sorted using a FACS Aria II (BD), and collected in cRPMI. Cell viability was determined by DAPI staining (1  $\mu$ g/mL, D1306 Invitrogen). After sorting, CD56<sup>Dim</sup> and CD56<sup>Bright</sup> NK cells were cultured for 24 hours in cRPMI supplemented with IL-12 and/or IL-18.

### **RNAseq**

100 000 cells from each population and condition were resuspended in 350  $\mu$ l TCL lysis buffer (Qiagen) supplemented with 1 %  $\beta$ -mercaptoethanol. Total RNA extraction was performed using the Single Cell RNA Purification Kit (51800 Norgen) following the manufacturer's instructions, including an additional treatment with rDNAse (79254 Qiagen) to avoid DNA contamination. RNA quality was addressed using 4200 TapeStation (Agilent) automated electrophoresis with RIN always exceeding 8, and total RNA was quantified using Qubit<sup>TM</sup>4 Fluorometer (ThermoFischer). Reverse transcription and DNA amplification was performed with SmartSeqV4 (Takara) using 10 ng of RNA as template. DNA library was prepared with Nextera XT DNA library Prep kit (Illumina), hybridized on NovaSeqS1 Flow cell and sequenced on NovaSeq sequencing platform (Illumina) with a paired-end protocol.

### **RNAseq bioinformatic analysis**

Raw sequencing reads were aligned on the human genome (hg38 version) with STAR (v2.7.3a). We conducted gene expression quantification for each sample using the Salmon tool (v1.4). The analysis was based on the GENCODE v37 annotations of the human genome. Thorough quality controls were



performed, and our focus was limited to protein-coding genes. The DESeq2 R package (v1.34.0) was used to normalize raw counts and DESeq2 normalized expressions for Il12rb2, Il27ra et Il6st were extracted for each cell population and each culture condition.

### **Cell preparation for scRNAseq**

MACS-purified total NK cells were cultured in RPMI+SAB supplemented with IL-2 at 100UI/mL in presence or absence of IL-35 at 200ng/mL. Culture medium was renewed every 2 days. Around 2 million NK cells were collected at day 0, day 2 and day 4 and washed twice before further processing

### **scRNAseq**

For each collection day, NK treated with or without IL-35 were barcoded following Cell Multiplexing Oligos (CMOs) labeling protocol (CellPlex Kit) developed by 10X Genomics. Briefly, NK were independently incubated with specific CMOs, washed 3 times in PBS + 1% BSA and pooled together. The number of live cells was determined with a Luna-FL Dual fluorescence cell counter (Logos Biosystems), loaded on a 10X G chip to obtain an expected cell recovery population of 11,000 cells per channel ( $\approx$ 5,000 cells per condition) and run on the Chromium iX system (10X Genomics) according to manufacturer's instructions. Gene Expression and Cell Multiplexing single-cell RNA-seq libraries were generated with the Chromium Single Cell 3' v.3.1 kit with feature barcoding technology (10X Genomics). Gene Expression and Cell Multiplexing libraries were sequenced on the NovaSeq 6000 platform (Illumina) to obtain around 50,000 reads and 5,000 reads per cell respectively.

### **scRNAseq bioinformatic analysis**

The raw data underwent processing with CellRanger v7.1.0, enabling gene expression quantification and sample demultiplexing. Following this, the single-cell analysis was conducted using the R package Seurat. To ensure the quality and informativeness of cells, several filtering steps were implemented. Genes present in fewer than 3 cells, cells with fewer than 500 transcripts, and cells expressing fewer than 500 genes were removed. Additionally, cells with more than 10% of transcripts from mitochondrial genes were excluded to minimize the impact of potential low-quality or dead cells. For data normalization, Seurat's NormalizeData function was employed, utilizing log-normalization. Subsequently, the data was scaled using the ScaleData function from the same package to facilitate further analysis. To reduce the dimensionality of the data and simplify its representation, a Principal Component Analysis (PCA) was performed. To address the potential influence of donor-specific effects, data integration was carried out using the harmony package. This step aimed to harmonize the data from different donors, ensuring robust and unbiased downstream analyses.

### **Quantification and statistical analysis**

Statistical analyses were performed using the GraphPad software and tests conducted are indicated in the figure legends. P-values lower than 0.05 were considered to be significant, with stars corresponding to \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  and \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . If no stars are indicated, no statistically significant difference was found.

**Table 1: Flow cytometry antibodies**

Antibodies (clone)	Clone	Reference	Supplier
Surface			
CD3-BV711	UCHT1	563725	BD Bioscience
CD9-Pe-Cy7	HI9a	312116	Biolegend
CD14-BV711	M5E2	301838	Biolegend
CD16-FITC	3G8	555406	BD Bioscience
CD19-BV711	HIB19	302246	Biolegend
CD25-BB515	2A3	564467	BD Bioscience
CD49a-APC	TS2/7	328314	Biolegend
CD56-APC	NCAM16.2	341027	BD Bioscience
CD56-VioBright-FITC	AF12-7H3	130-113-309	Miltenyi
CD69-APCFire750	FN50	310946	Biolegend
CD96-PE	6F9	562379	BD Bioscience
CD103-PE	Ber-ACT8	350206	Biolegend
CD127 (IL-7Ra)-APC-Cy7	A019D5	351348	Biolegend
CD137 (41BB)-PE	4B4-1	309804	Biolegend
CD159a (NKG2A)-APC	REA110	130-113-563	Miltenyi
CD223(LAG3)-PECF594	T47-530	565718	BD Bioscience
CD226 (DNAM-1)-BV421	11A8	338331	Biolegend
CD274 (PD-L1)-BV711	29e.2A3	329722	Biolegend
CD314 (NKG2D)-BV650	1D11	563408	BD Bioscience
CD335 (NKP46)-BV510	9 E 2	564064	BD Bioscience
CD336 (NKp44)-PE-Cy7	p44-8	325116	Biolegend
CD337 (NKp30)-BV711	p30-15	563383	BD Bioscience
CD366 (TIM-3)-BV421	7D3	565562	BD Bioscience
TIGIT-PE-Cy7	A15153G	372714	Biolegend
Intracellular			
IFN- $\gamma$ -BV421	4S-B3	502532	Biolegend
IFN- $\gamma$ -PE	B27	554701	BD Bioscience
Transcription factor			
ROR $\gamma$ t-PE	Q21-559	563081	BD Bioscience
T-bet-PECF 594	O4-46	562467	BD Bioscience
Eomes-PE	X4-83	566749	BD Bioscience

**Table 2: List of genes used in gene signatures**

Gene signatures	Genes Up	Genes Down
<b>NK CD56<sup>Bright</sup></b>	LEF1, TCF7, BACH2, TOX2, GZMK, NCR2, CCR7, CD300C, KIT, IL7R, IL9R, RUNX2, ITGA1, IL1R1	ZEB2, ZBTB16, PRDM1, CXCR1, CXCR2, CX3CR1, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, TIGIT, FCGR3A, FCGR3B, S1PR5, CD6, CD160
<b>NK CD56<sup>Dim</sup></b>	ZEB2, ZBTB16, PRDM1, CXCR1, CXCR2, CX3CR1, KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, TIGIT, FCGR3A, FCGR3B, S1PR5, CD6, CD160	LEF1, TCF7, BACH2, TOX2, GZMK, NCR2, CCR7, CD300C, KIT, IL7R, IL9R, RUNX2, ITGA1, IL1R1
<b>ILC1-like</b>	CD9, ITGAE, ITGA1, CXCR4, CXCR3, CXCR6, SMAD7, RGS16	KLF2, LGALS1, ITGA4, PLEK, S1PR5, CD160

## Results

### IL-35 negatively regulates human NK cell maturation and function

We first evaluated the impact of IL-35 on NK cell maturation and IFN- $\gamma$  production in response to different cytokines (IL-12, IL-15, IL-2, IL-18) that are well known to activate NK cells through different receptors and signaling pathways (Chakir et al., 2001; Deblaker-Hohe et al., 1995; Fehniger et al., 1999; Ferlazzo et al., 2004; Leong et al., 2014; Marçais et al., 2014). As recently reported for mouse NK cells (Li et al., 2022), we observed that cytokine-induced secretion of IFN- $\gamma$  and expression of CD25 in human NK cells, were strongly reduced in the presence of IL-35 (**Fig. 1A**). The percentage (**Fig. 1A**) as well as the intensity (**Fig. S1A** and **S1B**) of IFN- $\gamma$  and CD25 expressions were strongly affected in each culture condition. The strongest inhibition of IFN- $\gamma$  and CD25 expression was observed in the presence of IL-12 and IL-18 combination (**Fig. S1A** and **S1B**), in a dose-dependent manner in presence of IL-35 (**Fig. S1C** and **S1D**). Based on the dose response experiment, we decided to use IL-35 at 100ng/ml for the rest of the experiments. Using the combined expression of 6 markers, T-SNE analysis identified the emergence of an activated NK cell cluster in IL-12 and IL-18 (**Fig. 1B**), defined by the acquisition of IFN- $\gamma$ , CD25, 4-1BB, PD-L1, LAG-3, and CD69 (**Fig. S1E**). We observed a strong reduction of the proportion of IL-12+IL-18-induced activated NK cells in the presence of IL-35 (**Fig. 1B**), as evidenced by the reduced expression and frequency of NK cells positive for each individual marker (**Fig. 1C**). Accordingly, besides IFN- $\gamma$ , IL-35 induced a global impairment of cytokines and chemokines production by IL-12+IL-18-activated NK cells (**Fig. 1D** and **Fig. S1F**). Reduced expression of T-bet, Eomes, and ROR $\gamma$ t in the presence of IL-35 also illustrates its negative impact on NK cell identity (**Fig. 1E** and **Fig. S1G**). Overall these results indicate for the first time that human NK cells are a direct target of IL-35, which decreases cell maturation and function, in different cytokine contexts.

### IL-35 inhibits human NK cell proliferation but not survival

Then we wanted to investigate the proliferative capacity of IL-35-exposed NK cells. Since IL-35 negatively impacts CD25 expression in NK cells (**Fig. 1**), we performed cell proliferation assays in the presence of IL-2 +/- IL-35 for 3, 5, 7, and 9 days, following a priming phase where NK cells were exposed to cytokines known to induce CD25 (i.e. IL-12 or IL-15, either alone or in combination), in the absence of IL-35, for 16h (**Fig. 2A**). Analysis of Cell Trace Violet (CTV) peaks by flow cytometry showed a strong time-dependent NK cell proliferation in response to IL-2, which was enhanced gradually from medium -> IL-12 -> IL-15 -> IL-12+IL-15 preactivation conditions (**Fig. 2B**), coherently with CD25 expression (**Fig. S2A**). Despite induced expression of CD25 in all priming conditions, IL-35-exposed NK cells were significantly less proliferative in response to IL-2 than control NK (**Fig. 2B**), in agreement with macroscopic observation of culture wells (**Fig. S2B**), and with a lower proportion of cycling cells (**Fig. 2C**) and a lower cell number (**Fig. 2D**) compared to IL-2 alone, as illustrated for priming condition in

medium. Gating of cultured cells for viability showed no significant differences in survival between cultures in the presence or absence of IL-35 at each time point (**Fig. 2E**), indicating that the decreased cell number in cultures containing IL-35 was not because of cell death. These data demonstrate that IL-35 is also a strong inhibitor of human NK cell proliferation.

### **IL-35 inhibits more mature CD56<sup>Dim</sup> than immature CD56<sup>Bright</sup> human NK cells**

Next, we aimed to characterize more deeply the NK cell subset that was sensitive to IL-35. In IL-12 and IL-18 activation context, IL-35 inhibited more strongly the production of IFN-g and the expression of CD25 and 4-1BB in CD56<sup>Dim</sup> than CD56<sup>Bright</sup> NK cells (**Fig. 3A**). We then explored the expression of IL-35 receptors in human NK cells. To date, 4 different forms of IL-35 receptors have been described on murine immune cells. IL-12Rb2 and gp130 heterodimer or homodimers were found expressed by murine T cells while IL12Rb2 and IL27RA heterodimer was expressed by B cells (Collison et al., 2012; R. X. Wang et al., 2014; Ye et al., 2021). Using our RNAseq dataset recently generated on human NK cells, we identified high expression of *Il12rb2* and *Il27ra* genes in resting NK<sup>Dim</sup> and NK<sup>Bright</sup> cells, while *Il6st* gene was less expressed. The highest levels of *Il27ra* gene were observed in NK<sup>Dim</sup> while *Il2rb2* gene was more abundant in NK<sup>Bright</sup> cells (**Fig. 3A**). Similar and low levels of *Il6st* gene were found in both NK cell subsets. These observations were confirmed in an independent RNAseq dataset from ImmGen consortium (**Fig. S3A**), which also showed that NK cells expressed the highest levels of *Il27ra* and *Il12rb2* genes among different lymphocyte populations. Furthermore, IL-12 and to a lesser extent IL-18 upregulates the expression of *Il12rb2* and *Il6st* genes in both NK<sup>Dim</sup> and NK<sup>Bright</sup> cells, while *Il27ra* levels remained almost similar (**Fig. 3A**) following NK cell activation. Altogether these results highlight differences in the sensitivity of human NK cell subsets to IL-35 probably due to different expression patterns and regulations of IL-35 receptor chains, the inhibitory effect of IL-35 being more prominent in mature CD56<sup>Dim</sup> NK cells.

### **Long term exposure to IL-35 leads to NK cell hyporesponsiveness**

We next wanted to investigate the impact of long-term exposure of human NK cells to IL-35 on their helper and cytotoxic properties. NK cells were cultured in IL-2 vs IL-2+IL-35 for 7 days and then reactivated with IL-12 and IL-18 for 24h or with K562 cells for 4h to assess their capacity to produce cytokines and to kill target cells respectively (**Fig. 4A**). As shown in **Fig. 4B**, the frequency of IFN-g-producing cells as well as the intensity of IFN-g expression, as assessed by flow cytometry, were strongly reduced in NK cells cultured with IL-2 and IL-35 compared to IL-2 alone following IL-12 and IL-18 activation. This observation was confirmed following quantification of IFN-g levels in culture supernatants of NK cells and extended to other cytokines and chemokines known to be produced by activated NK cells (**Fig. 4C**). Indeed, we observed a global and strong (>50%) reduction of IFN-g, TNF-a,

GM-CSF, CCL3/4, XCL1 and FLT3-L production by IL-35-exposed NK cells in response to IL-12 and IL-18 stimulation compared to control NK (not exposed to IL-35). IL-35 also strongly decreased NK cell cytotoxicity towards K562 target cells (**Fig. 4D**). These results indicate that chronic exposure of human NK cells to IL-35 led to a dysfunctional/hyporeactive state that is more profound than the one observed for short-term (24h) exposure.

### **IL-35 alters the expression of NK cell surface receptors**

We next addressed whether long term exposure to IL-35 also affects the expression of NK cell receptors (**Fig. 5A**). We found that NK cells cultured with IL-2 and IL-35 for 7 days showed lower expression of activating receptors such as Nkp30, Nkp44, Nkp46, DNAM-1 and NKG2D than NK cells cultured with IL-2 alone (**Fig. 5B**). These results showed that IL-35 inhibited NK cells' ability to recognize and kill tumors, in agreement with their reduced killing functions (**Fig. 4D**). Besides its marked negative effects on NK functions and expression of activating receptors, IL-35 unexpectedly also downregulates the expression of the inhibitory receptors NKG2A, TIGIT, and TIM-3 by NK cells, while CD96 and LAG3 were slightly upregulated and no difference was observed for PD-L1 (**Fig. 5C**). Using the combined expression of activating receptors (**Fig. S4A**), T-SNE analysis identified two distinct clusters of NK cells between IL-2 and IL-2+IL-35 conditions (**Fig. 5B**), while the clustering of cells based on the inhibitory receptors was less clear between the two culture conditions (**Fig. S4B**). Interestingly, long term exposure of human NK cells to IL-35 positively impacts the expression of tissue residency markers such as CD49a, CD103, and CD9. Indeed, CD9 was induced and CD103 and CD49a were upregulated on human NK cells cultured with IL-2 and IL-35 compared to IL-2 alone (**Fig. 5D**). T-SNE analysis identified the emergence of a specific cluster after 7 days of IL-35 exposure, defined by the acquisition of CD9, CD103, and CD49a (**Fig. S4C**). These results indicate that NK cells chronically exposed to IL-35, despite poor proliferation and hyporesponsiveness, do not display an exhausted phenotype and acquire tissue residency features.

### **IL-35 drives the conversion of human NK cells into an ILC1-like phenotype in a TGF- $\beta$ -dependent manner**

It was recently shown that the acquisition of CD9 and CD103 reflected the conversion of NK cells to an ILC1-like phenotype following chronic exposure to TGF- $\beta$  *in vitro* (Hawke et al., 2020). This observation prompted us to evaluate the potential of IL-35 to induce human NK cell conversion to ILC-1-like cells after 7 days *in vitro*. Chronic exposure of human peripheral NK cells to IL-35 induced the progressive conversion of these cells to an ILC1-like phenotype, as indicated by the acquisition of CD9 and CD103 (**Fig. S5A** and **Fig. 6**). The acquisition of each marker was not uniform across all NK cells within the culture in IL-2 and IL-35 (**Fig. S5A**). Instead, cultured cells exhibited stochastic variability in their

propensity to adopt an ILC1-like phenotype in response to prolonged IL-35 exposure, with NK cells segregating into single-positive CD9<sup>+</sup> CD103<sup>-</sup> or CD9<sup>-</sup> CD103<sup>+</sup> subsets, double-positive CD9<sup>+</sup> CD103<sup>+</sup> cells, or CD9<sup>-</sup> CD103<sup>-</sup> cells, which failed to express either surface marker, despite the continued presence of IL-35 (**Fig. S5A**). Over 8 days of culture in the presence of both IL-35 and IL-2, the number of cells adopting a converted phenotype increased progressively, with nearly all cells expressing either one or both of CD9 and CD103 by 8 d. Although IL-2 alone did not promote conversion, the combination of IL-2 and IL-35 resulted in a significantly greater proportion of CD9<sup>+</sup>, CD103<sup>+</sup>, and dual-positive NK cells at both 4 and 8 d of culture (**Fig. S5A**). T-SNE analysis identified the emergence of a cluster of ILC1-like cells along time in the presence of IL-2 and IL-35 (**Fig. 6A**), defined by the combined expression of CD9, CD103, and CD49a (shown individually in **Fig. S5B**). Whereas chronic exposure to IL-35 and IL-2 lowered the overall expression of Eomes in human NK cells compared to IL-2 alone (**Fig. 6B**), the level of Tbet expression within cells exposed to both IL-35 and IL-2 did not vary (**Fig. 6B**). We next wanted to examine whether the acquisition of ILC-1 like phenotype/features was linked to cell proliferation. We observed that cycling cells expressed higher levels of CD9, CD103, and CD49b, but these markers are also expressed in non-cycling cells (**Fig. 6C**). To support this observation, ILC1-like markers acquisition can occur in absence of IL-2, albeit to a lesser extent (**Fig. S5A**). While the production of most cytokines and chemokines by NK cells in response to IL-12 and IL-18 was inhibited by short exposure to IL-35 (**Fig. 1D**), higher levels of pro-angiogenic and immunosuppressive factors (VEGF-A, IL-8, CCL5) were secreted in this context (**Fig. 6D**). Importantly, we also detected active TGF- $\beta$ 1 in the supernatants of IL-35-exposed NK cells (**Fig. 6E**). In line with this observation, we demonstrated that ILC1-like cell conversion triggered by chronic exposure to IL-35 with IL-2 was TGF- $\beta$ -dependent. Using a TGF- $\beta$  inhibitor galunisertib that we validated for its potential to prevent NK cells conversion into ILC1-like cells in the presence of TGF- $\beta$  (**Fig. S5C**), we showed that blocking autocrine TGF- $\beta$ 1 impaired the acquisition of tissue residency markers (CD9 and CD103) (**Fig. 6F**) and prevented the downregulation of Eomes expression (**Fig. S5D**) in IL-2 and IL-15 culture. Altogether these results demonstrate that IL-35 induces a TGF- $\beta$ -dependent conversion of NK cells to an ILC1-like phenotype, characterized by the production of proangiogenic, tolerogenic, and immunosuppressive molecules.

### **Both conventional and adaptive human NK cells respond to IL-35 and acquire an ILC1-like phenotype**

For a more in-depth analysis of i) the effect of IL-35 on human NK cells, ii) the conversion process into ILC1-like phenotype, and iii) the emerging ILC1-like population, we performed scRNAseq analysis of cells after 2 and 4 days in culture with IL-2 or IL-2+IL-35. In agreement with our flow cytometry data, unsupervised clustering identified 9 clusters (C1 - C9, **Fig. 7A**). These consisted of CD56<sup>Dim</sup> NK cells (C1, C8, C9), CD56<sup>Bright</sup> NK cells (C6), adaptive NK cells (C4, later referred to as AdaptNK), as confirmed by

their respective marker genes (**Fig. S6A**) and by using CD56<sup>Bright</sup> and CD56<sup>Dim</sup> gene signatures (**Fig. S6B-C, Table 2**). The clusters 5 and 7 and part of clusters 2 and 6 were associated with cell proliferation (**Fig. 7B**). Interestingly, while all the other clusters were composed of cells cultured in control (IL-2) and test (IL-2+IL-35) conditions, cluster 3 was found to be strictly dependent on the presence of IL-35 (**Fig. 7C**). As our previous results showed that IL-35 differentially regulates NK cell according to their maturation (**Fig. 3**) or proliferative state (**Fig. 6C**), we therefore compared the genes differentially expressed in the presence versus absence of IL-35 between AdaptNK cells, CD56<sup>Dim</sup> and CD56<sup>Bright</sup> altogether and referred to as ConvNK, and proliferative clusters (ProlifNK). In accordance with our previous data, we observed a consistent downregulation of genes associated with NK cell cytotoxicity (i.e. GZMA, GZMK, GZMB, GNLY, PRF1), pro-inflammatory cytokines (i.e. IFNG, CCL3, CCL4, XCL1, XCL2, CSF2) or activating receptors (i.e. TNFRSF9, CD224, CD226, NCR3, SLAMF7, KLRB1) (**Fig. 7D**) and an upregulation of genes associated with tissue residency (i.e. ITGA1, ITGAE, CD9, CXCR3, CXCR4, RUNX2), angiogenesis (i.e. CCL5, TGFB1, GIT1), TGF- $\beta$  response (i.e. SKIL, SOX4, ZFH3, ITGA1) and reduced functionality (i.e. CD96, CISH, SOCS1, SH2D1B) across all three populations (**Fig. 7E**). Yet, differentially expressed genes appeared to vary depending on the NK population considered, with a total of 55.5% and 50.5% genes being respectively downregulated or upregulated in only one NK population. We then separated AdaptNK, ConvNK and ProlifNK in order to study the impact of IL-35 on each specific population. Unsupervised clustering revealed the existence of an IL-35-induced cluster into AdaptNK (C3) and ConvNK (C2), while all clusters observed in ProlifNK were mostly enriched in IL-2-treated NK cells, consistently with the anti-proliferative effect of IL-35 (**Fig. 7F, Fig. S6D**). We next sought to evaluate the ability of IL-35 to induce the ILC1-like conversion across NK cell populations and observed a significant increase in an ILC1-like gene signature score (**Table 2**) in the presence of IL-35 for all three populations, with a clear overlap between IL-35-induced clusters and the cells presenting the highest ILC1-like signature score in both AdaptNK and ConvNK (**Fig. 7G, Fig. S6E**). The comparison of the genes specifically expressed in the identified ILC1-like cluster versus all other clusters revealed only a partial overlap between marker genes of AdaptNK- and ConvNK-derived ILC1 cells (**Fig. 7H**). Taken together, these results further confirm the ability of IL-35 to inhibit NK cell effector functions by inducing an ILC1-like conversion, and suggest an intra-ILC1-like heterogeneity that depends on the ex-NK state.

## Discussion

Recent studies have established the important role for IL-35 in immune suppression through the inhibition of T cell responses and the induction of IL-35-producing regulatory T and B cells, but its role on NK cell biology remains poorly understood, especially in humans. In this study, we first demonstrated that IL-35 potently suppresses human NK cell effector functions and proliferation. Beyond this inhibitory role, long term exposure to IL-35 also drives human NK cells conversion into ILC-1-like cells, where TGF- $\beta$  signaling contributes to this plasticity. These findings uncover a novel role for IL-35 in regulating human NK cell functions which provides additional clues for therapeutic targeting of IL-35.

IL-35 is initially described as an immunosuppressive cytokine specifically produced by natural Treg and is required for maximal Treg function *in vitro* and *in vivo* (Collison et al., 2007, 2010). In the present study, we evaluated the function of human IL-35 on human NK cells by analyzing the phenotype and cytokine secretion profile of IL-35-treated NK cells. Our data indicate that short term exposure to IL-35 impairs the upregulation of activation markers as well as their production of proinflammatory cytokines/chemokines in response to IL-2, IL-12, IL-18, and IL-15 and their IL-2-mediated proliferation. In contrast, IL-35 was also able to induce a tolerogenic/proangiogenic profile of NK cells by inducing their production of TGF- $\beta$ , VEGF-A, IL-8, CCL5. Thus, IL-35 is not only capable of interfering with activating signals in NK cells but can also deliver positive signals to them.

Next we explored the mechanisms by which IL-35 exerted its effects on NK cells. Using our RNAseq data and public transcriptomic data from the ImmGen consortium (Human cell atlas, <http://immunecellatlas.net/>), we observed the expression of *il12rb2*, *il27ra* and *il6st* genes, respectively encoding the protein subunits IL-12R $\beta$ 2, IL-27R $\alpha$  and gp130 within the circulating NK of healthy donors. These 2 datasets converge towards a higher expression of *il12rb2* in CD56<sup>Bright</sup> NKs and of *il27ra* in CD56<sup>Dim</sup> NKs at the basal state, whereas *il6st* seems to be very little expressed in the 2 NK populations. Moreover, our RNAseq data show that the expression of these genes is increased after NK activation by IL-12 and IL-18. All these data suggest potential disparities in the expression of the IL-35 receptor(s) depending on the NK subpopulation and the context, but also point towards a potential preferential expression of the IL-12R $\beta$ 2/IL-27R $\alpha$  receptor, which would be in agreement with the observations made for human T cells (J. Liu, Chen, et al., 2019; Ma et al., 2016). Because IL-35 and IL-12 share the p35 subunit, it has been recently described that IL-35 inhibits IL-12 stimulation by competing with the IL-12R $\beta$ 2 receptor (Mahfooz et al., 2023). Eventhough this observation may explain how IL-35 interferes with IL-12 bioactivity, the mechanisms wherein human IL-35 suppresses IL-2, IL-15, and IL-18 signaling are still unknown. As these cytokines use receptors and signaling pathways distinct from the ones used by IL-12, it suggests that IL-35 by itself mediates inhibitory signaling cascades in human NK cells that are still unknown. As it was shown that IL-35 mediated regulatory



functions in human T cells via the phosphorylation of STAT1 and STAT3 (J. Liu, Hao, et al., 2019) and as our data suggest that the IL35R composition in human NK cells seems to be similar to the one of human T cells, we can speculate that IL-35 signaled through the activation of STAT1 and STAT3 in human NK cells. We also observed that the short-term exposure of human NK cells to IL-35 leads to the downregulated expression of T-bet, Eomes, and ROR $\gamma$ t that are known to be essential for NK cell effector functions (Collins et al., 2017; Gill et al., 2012; Wagner et al., 2020; Wong et al., 2023). This observation may partly explain why NK cells are inhibited. Our results here proved for the first time that IL-35 suppressed human NK cell activation and proliferation.

Furthermore, our study also revealed that long-term exposure of NK cells to IL-35 induces the expression of residency markers (CD9 CD103 and CD49a) that are characteristic of the newly described ILC1-like phenotype as well as hyporesponsiveness of these cells to further activation. We thus identify IL-35 as a new actor in the process of NK conversion into ILC1-like cells. This conversion might thus explain the loss of NK effector functions. Despite results converging towards a decrease in the proliferative and cytotoxic potential of NK-derived ILC1-like, our results are in contradiction with other studies regarding the secretory capacities of these cells. Indeed, there are to date studies suggesting a decreased production (Cortez et al., 2016; Rautela et al., 2019) or on the contrary an increased production (Gao et al., 2017; Hawke et al., 2020) of IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  or GM-CSF by ILC1-like cells. These discrepancies may be explained by the heterogeneity of the environments, the original NK populations from which the ILC1-like derive or the stimuli used.

Recognition of this capacity of circulating NK cells to adopt an ILC1-like phenotype has resulted in an appreciation of a role for these cells in tissue remodeling and angiogenesis across a variety of conditions, including pregnancy (Cerdeira et al., 2013; Keskin et al., 2007) and cancer (Gao et al., 2017). Interestingly, ILC-1-like cells have been recently observed in several chronic inflammatory diseases (cancer, infections, obesity) (Gao et al., 2017; Moreno-Nieves et al., 2021; Park et al., 2019). Indeed, since the first description in 2017 of NK acquiring ILC-1 properties with loss of effector functions in a mouse model of melanoma (Gao et al., 2017), cells with phenotypic or functional characteristics of ILC-1 within tumors accumulate, without being associated with ILC1-like or IL-35 expression. Indeed, NK CD9+CD49a+CXCR4+NKG2D<sup>low</sup>, presenting a weak cytotoxicity in favor of secretion of VEGF, IL-8 and CCL5 have been observed in patients with prostate cancers) (Gallazzi et al., 2021). Similarly, a study by scRNAseq of the immune infiltrate of tumors of the esophagus reveals the presence of a cluster of cells presenting a strong expression of the ITGA1 gene as well as a very low expression of cytotoxicity and proliferation gene signatures (Zheng et al., 2020). In addition, the acquisition of CD9 and CD103 markers, concomitant with a decrease in effector functions, have been observed on the surface of NK cells cocultured with glioblastoma (Shaim et al., 2021) or ovarian cancer tumor cells (Gonzalez et al., 2021). Thus, and although not representing a formal proof, these results constitute a body of indices

in favor of an important role of the process of conversion in ILC1-like in various cancers, which it would be interesting to evaluate in more detail and to compare with IL-35, overexpressed in many cancers and correlated with a poor prognosis (Chatrabnous et al., 2019; Hao et al., 2018; Heim et al., 2019; Huang et al., 2017; Lee et al., 2018; S. Liu et al., 2021; Ma et al., 2016; Nishino et al., 2011; Q. Tao et al., 2015; Z. Wang et al., 2013; Zhao et al., 2017; Zhou et al., 2017; Zhu et al., 2020). Thus, our results reinforce the role of NK transdifferentiation in the loss of immune surveillance functions in cancers (Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017; Park et al., 2019).

Moreover, this ILC-1-like phenotype is shared with decidual NK cells (dNK) (Cerdeira et al., 2013; Hou et al., 2023; Montaldo et al., 2016; Vento-Tormo et al., 2018) and salivary gland ILC1 (Cortez et al., 2016) that (i) have been described to present a significantly reduced cytotoxicity compared to circulating NKs, as well as lower secretion capacities of IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  (Filipovic et al., 2018; Huhn et al., 2020; Y. Tao et al., 2021), (ii) are tolerogenic, and (iii) express immunosuppressive and pro-angiogenic factors (Cerdeira et al., 2013; Hanna et al., 2006; Hou et al., 2023; Huhn et al., 2020; Lash et al., 2006; Y. Tao et al., 2021; Vento-Tormo et al., 2018). Interestingly, trophoblasts have been described as an important source of IL-35, coupled with the presence of decidual iTr35. These observations suggest a potential involvement of IL-35 in the conversion of NK in the decidua (J. Liu, Hao, et al., 2019; Lombardelli et al., 2022; H. Mao et al., 2013). Furthermore, salivary gland ILC1s emerge under the influence of TGF- $\beta$ , as demonstrated by the use of Tgrbr2-KO models (Cortez et al., 2016). Thus, it seems particularly tempting to speculate that dNK and salivary gland ILC1s actually represent ILC1-like transdifferentiated NKs.

Furthermore, our observations echo the notion of "NKreg" which has been proposed on the basis of the production of TGF- $\beta$ , IL-10 and/or pro-angiogenic factors by NK (Horwitz et al., 1999; Jiang et al., 2018; Ramírez-Ramírez et al., 2019; Saito et al., 2007), especially during viral contexts and cancers, although the signals inducing the NKreg still remain unknown. Thus, our work, in agreement with the participation of IL-35 in the functions of LTreg and LBreg (Collison et al., 2007, 2010; Hao et al., 2018) and the production of pro-angiogenic factors (Huang et al., 2018; Z. Wang et al., 2013), positions IL-35 as one of the signals responsible for the emergence of "NKreg". All these data allow us to put forward two hypotheses: (i) IL-35 polarizes NK cells into "NKreg" producing TGF- $\beta$ , in turn inducing a conversion to ILC1-like or (ii) "NKreg" cells and "ILC1-like" actually correspond to a unique population.

Our study showed that IL-35 triggers the secretion and/or activation of TGF- $\beta$  by NKs, that, in an autocrine way, induces ILC1-like conversion. TGF- $\beta$ , initially produced in latent form (SLC complex composed of the mature form of TGF $\beta$  complexed with the LAP peptide), needs to be activated by proteases (Illman et al., 2006; Kessenbrock et al., 2010; Murphy-Ullrich & Suto, 2018; Roth et al., 2013; Shaim et al., 2021; Travis & Sheppard, 2014; Worthington et al., 2015; Yang et al., 2007). Therefore,

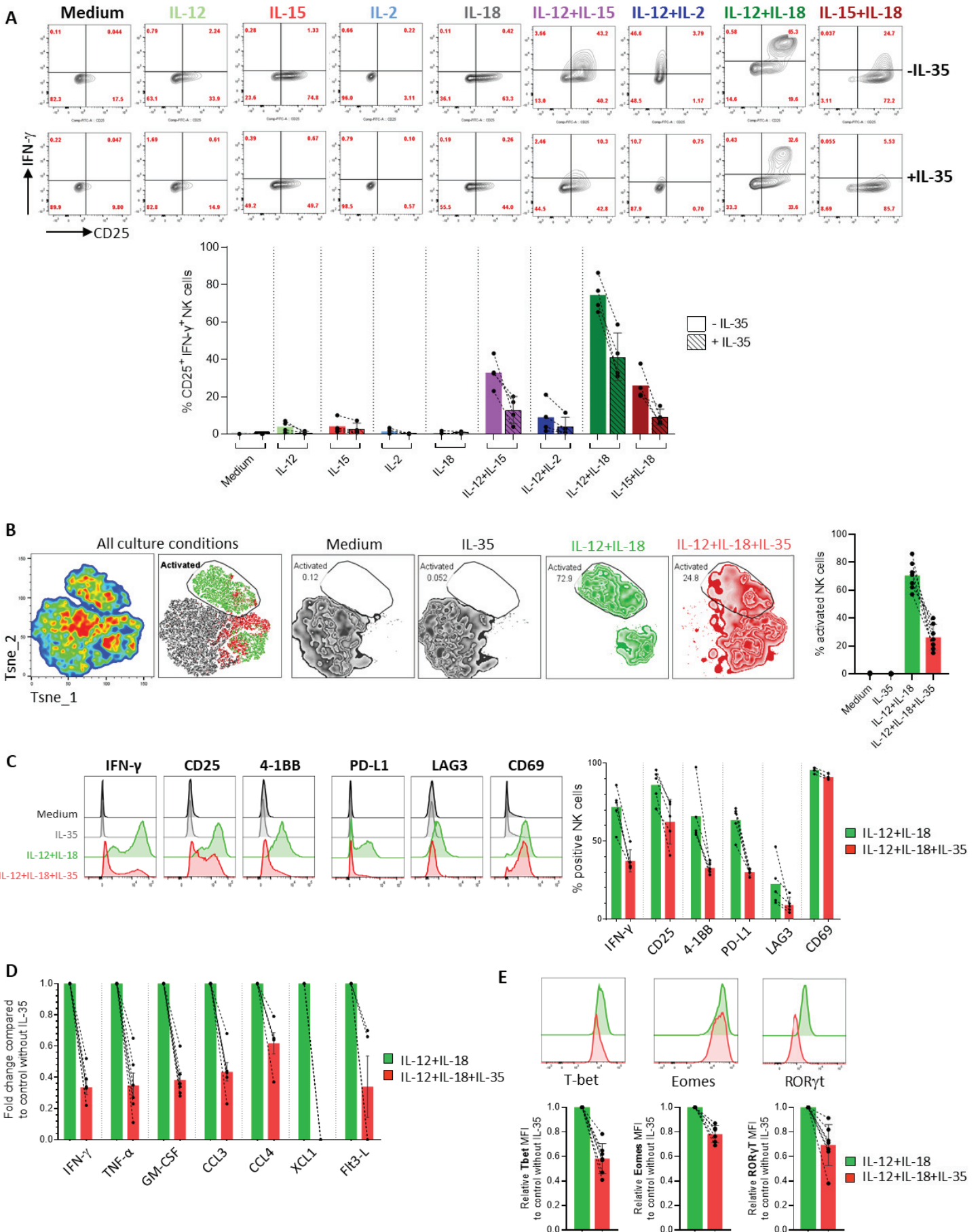
the detection of active TGF- $\beta$  in the culture supernatants of purified NK cells exposed to IL-35 suggests that these cells, in addition to secreting TGF- $\beta$ , also possess the machinery necessary for its activation. Our scRNAseq analysis highlights the overexpression of the ITGB1 ( $\alpha\text{v}\beta\text{1}$ ), ITGA5 ( $\alpha\text{v}\beta\text{5}$ ) genes within NK exposed to IL-35 and could constitute first targets of interest. Although initiated by IL-35, the conversion of NK cells into ILC1-like cells is dependent on TGF- $\beta$ . Actually, several studies have demonstrated the capacity of TGF- $\beta$  to drive this conversion of NK cells to an ILC1-like state (Cortez et al., 2017; Gao et al., 2017), through TAK1-mediated activation of p38 in primary human NK cells (Hawke et al., 2020). So far we have no element enabling us to determine whether the TGF- $\beta$  and the pro-angiogenic factors detected in response to IL-35 are secreted by all the NK exposed to IL-35 or specifically converted ILC1-like cells. In this context, a recent study comparing CD9+ and CD9- NK cells reports a link between the expression of CD9, decreased cytotoxicity and production of IFN-g/TNF- $\alpha$ /GM-CSF as well as acquisition of IL-8 expression (Gonzalez et al., 2021). Several studies showed that NK cells exposed to TGF- $\beta$  harbor decidual features (Cerdeira et al., 2013; Keskin et al., 2007). Furthermore, salivary gland ILC1s, sharing phenotypic and functional characteristics of ILC1-like cells, emerge under the influence of TGF- $\beta$ , as demonstrated by the use of Tgrbr2-KO models (Cortez et al., 2016).

ILC1-like cells have been observed (i) in various contexts and environments (cancers, parasitic infections, non-alcoholic fatty liver disease associated with obesity, in vitro culture) and (ii) following the conversion of different NK populations (CD56<sup>Bright</sup> circulating NK or CD56<sup>Dim</sup>, liver resident NK) (Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017; Hawke et al., 2020; Moreno-Nieves et al., 2021; Park et al., 2019). Although no study has addressed this question to date, these differences could result in unexpected heterogeneity of ILC1-like cells. In this context, our scRNAseq analysis of the conversion of circulating human NK cells provides new insight into how heterogeneity within this population can influence plasticity. It allows us to demonstrate that ILC1-likes derived from conventional NK (NKG2C-) present a different transcriptomic signature, although partially overlapping, from that obtained from ILC1-likes converted from Adaptive NK (NKG2C+). Furthermore, our in vitro conversion experiments demonstrate the coexistence of CD9-CD103-, CD9+CD103-, CD9-CD103+ and CD9+CD103+ cells (despite a continuous decrease in the double negative population in favor of populations expressing at least the one of the markers mentioned), as previously described for TGF- $\beta$ -induced NK conversion into ILC-1-like cells (Hawke et al., 2020). This observation, beyond demonstrating a continuum between non-converted cells (double negative population) and terminally converted cells (double positive population), tends to imply the existence of alternative trajectories in the acquisition of the ILC1-like phenotype that we are currently evaluating through trajectories and velocity analyses.

All those results confirm that IL-35 induces proangiogenic, tolerogenic, immunosuppressive features of human primary NK cells and conversion into ILC1-like cells (in a TGF- $\beta$ -dependent manner). It is important to note that our studies were limited to the in vitro modeling of the NK to ILC1-like conversion and did not assess the importance of IL-35 on NK cells in vivo. Moving forward, additional work in mouse models will be required to confirm the cooperative actions of IL-2 and IL-35 in promoting ILC1-like differentiation of circulating NK cells.

In summary, we have been able to expand the current knowledge of the immune suppressive role of IL-35 through the first description of human NK cell inhibition and conversion to ILC1-like cells. Although additional studies are still needed to fully understand the underlying mechanisms and to explore the functional relevance this IL-35/NK/ILC-1-like cells axis has on disease outcome, current findings support that IL-35 plays a critical role in maintaining immune suppression and IL-35 may represent a valid immunotherapeutic strategy for the treatment of several diseases.

# Figure legends



**Fig. 1: IL-35 negatively regulates human NK cell maturation and function**

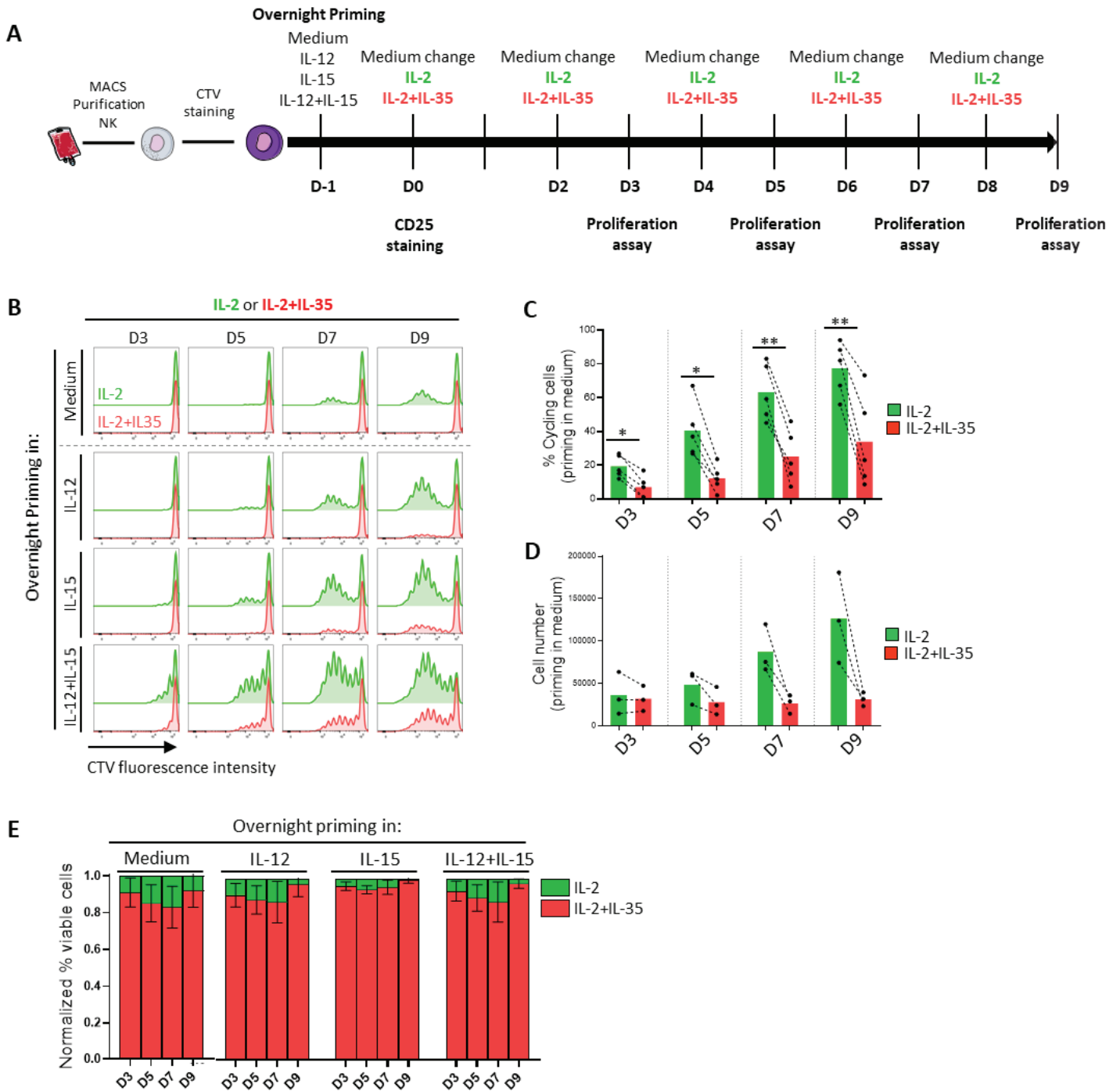
**A)** Healthy donors' blood NK cells were activated as indicated for 24 h, IL-12, IL-15, IL-2, and IL-18 were used at 10 ng/mL, IL-35 that was used at 100 ng/ml. Representative flow cytometry plots for CD25 surface and IFN- $\gamma$  intracellular expression (upper) and quantification (%) (lower) of CD25<sup>+</sup> IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.

**B)** Two-dimensional T-SNE plots showing NK cell clustering based on surface marker profiles (IFN-g/CD25/41BB/PDL1/LAG3/CD69), after culture as indicated in Fig1A. Representative T-sne (left) and quantification (%) (lower) of activated NK cells after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. n = 7 experiments.

**C)** Representative raw histograms of IFN-g, CD25, 41BB, PDL1, LAG3, and CD69 in NK cells that were cultured as indicated (left). Cumulative histogram of % positive NK cells for each marker in IL-12+IL-18 vs IL-12+IL-18+IL-35-treated conditions.

**D)** Supernatants from NK cells cultured for 24h in the presence of IL-12 and IL-18 with or without IL-35 were collected to quantify cytokine and chemokine release by ECLIA assay. Results are expressed as fold change compared to control condition without IL-35 (n = 3 to 6 individual donors). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**E)** Representative flow cytometry plots (upper) and quantification (lower) of T-bet, Eomes, and ROR $\gamma$ t expression in NK cells cultured for 24h in the presence of IL-12 and IL-18 with or without IL-35. Results are expressed as MFI expression for each marker in IL-35 condition relative to control condition without IL-35.

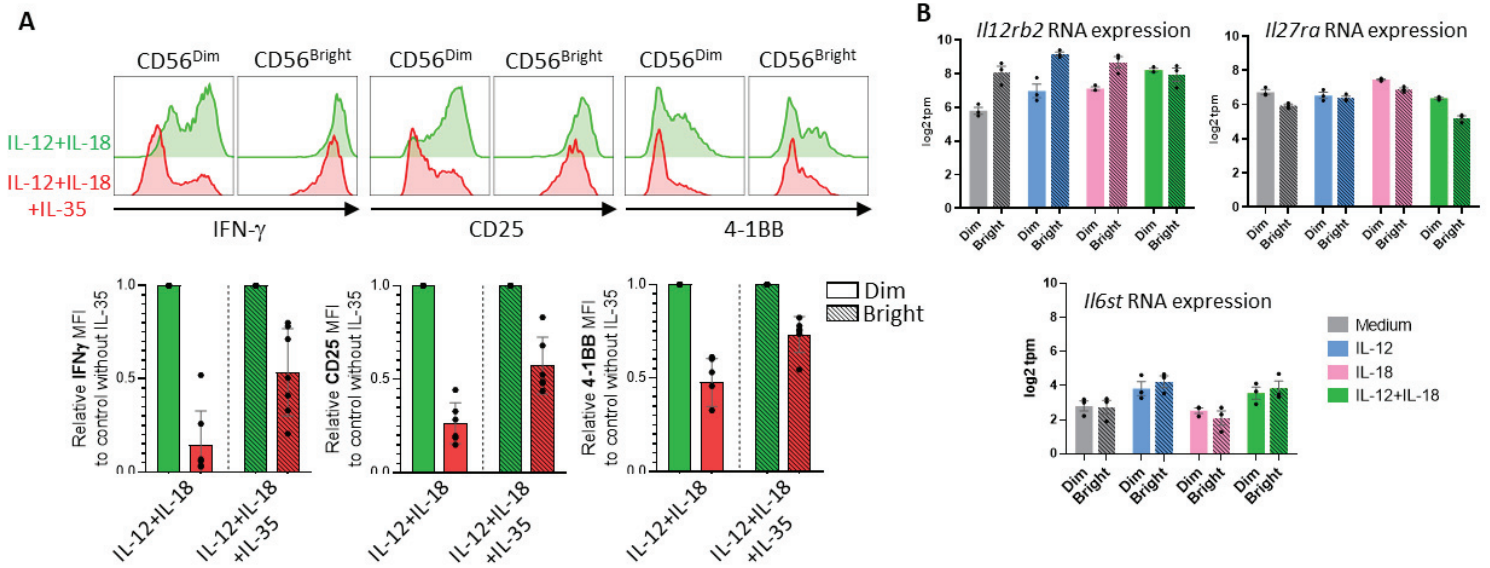


**Fig. 2: IL-35 inhibits human NK cell proliferation but not survival**

**A)** Schematic representation of the protocol used to assess NK cell proliferation. Healthy donors' blood NK cells were pre-activated for 16h as indicated, labeled with CTV, and cultured in low dose IL-2 (100 UI/ml) with or without IL-35 (100ng/ml) for 3, 5, 7, and 9 days.

**B)** Representative flow cytometry plots for CTV fluorescence intensity for all preactivation conditions and quantification of **C)** % cycling cells and **D)** number of cells that without preactivation and after 3, 5, 7, and 9 days of proliferation in IL-2 versus IL-2+IL-15 (n=5 and 3 experiments respectively).

**E)** Quantification of the proportion of viable NK cells after 3, 5, 7 and 9 days (D3, D5, D7, D9, respectively) of proliferation in IL-2 with or without IL-35 (n = 3). Results are expressed as normalized to the IL-2 control condition.

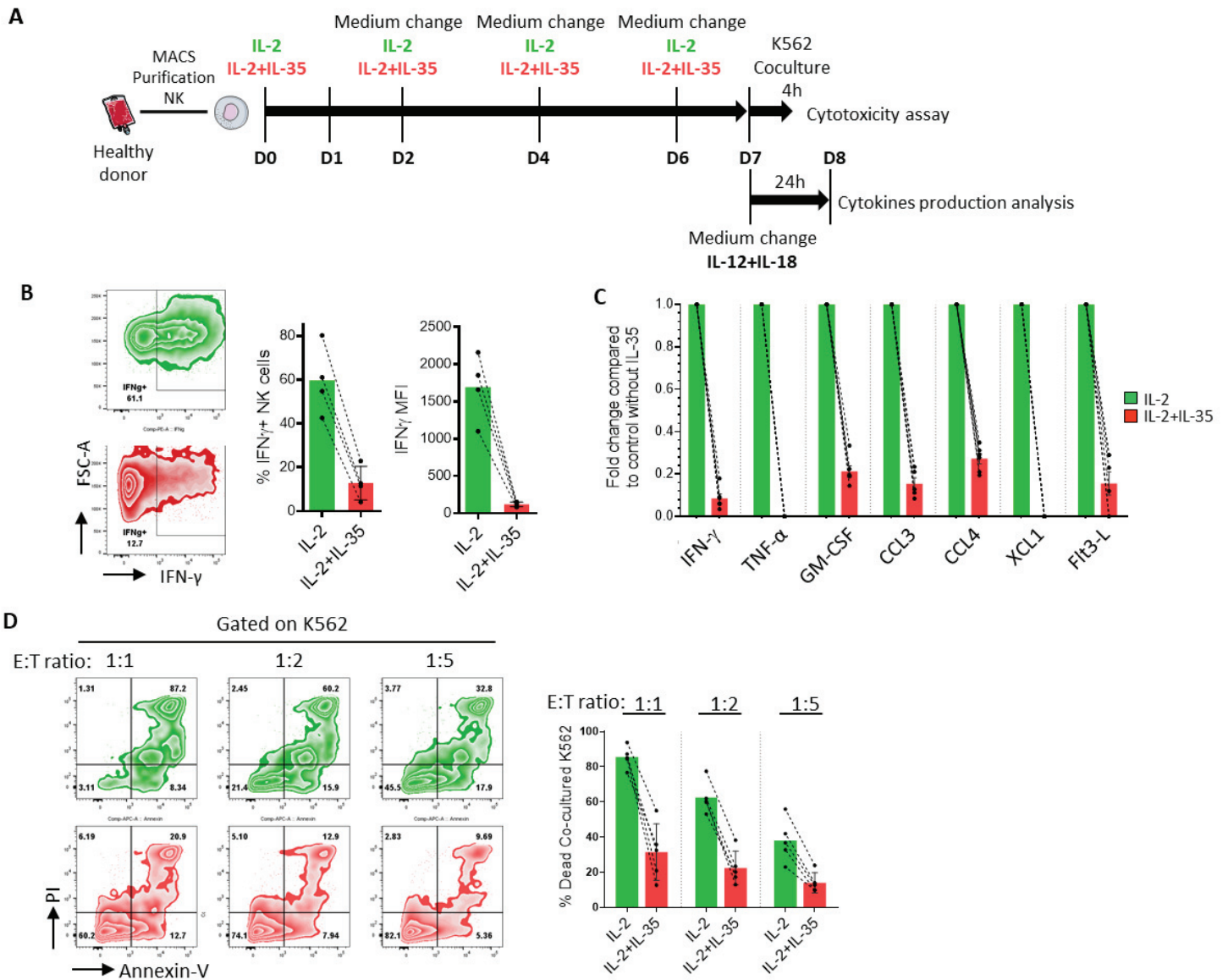


**Fig. 3: IL-35 inhibits more mature CD56<sup>Dim</sup> than immature CD56<sup>Bright</sup> human NK cells**

**A)** Healthy donors' blood NK cells were activated with IL-12 and IL-18 (10 ng/ml) with or without IL-35 (100 ng/ml) for 24 h. CD56 surface expression levels were used to discriminate between CD56<sup>Bright</sup> and CD56<sup>Dim</sup> NK cells. Representative flow cytometry plots (upper) and quantification (lower) of IFN- $\gamma$  intracellular expression and CD25 and 4-1BB surface expression are shown for CD56<sup>Bright</sup> and CD56<sup>Dim</sup> NK cells. Results are expressed as relative MFI for each marker compared to control condition without IL-35. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.

**B)** *Il12rb2*, *Il27ra*, and *Il6st* gene expression in resting or activated CD56<sup>Bright</sup> and CD56<sup>Dim</sup> NK cells with IL-12 (10 ng/ml) with or without IL-18 (10 ng/ml) for 24h. Results are extracted from our RNAseq dataset and expressed in log<sub>2</sub> tpm as mean + SEM of three individual experiments. Each symbol represents one donor. Two-tailed paired Student t-test was performed.





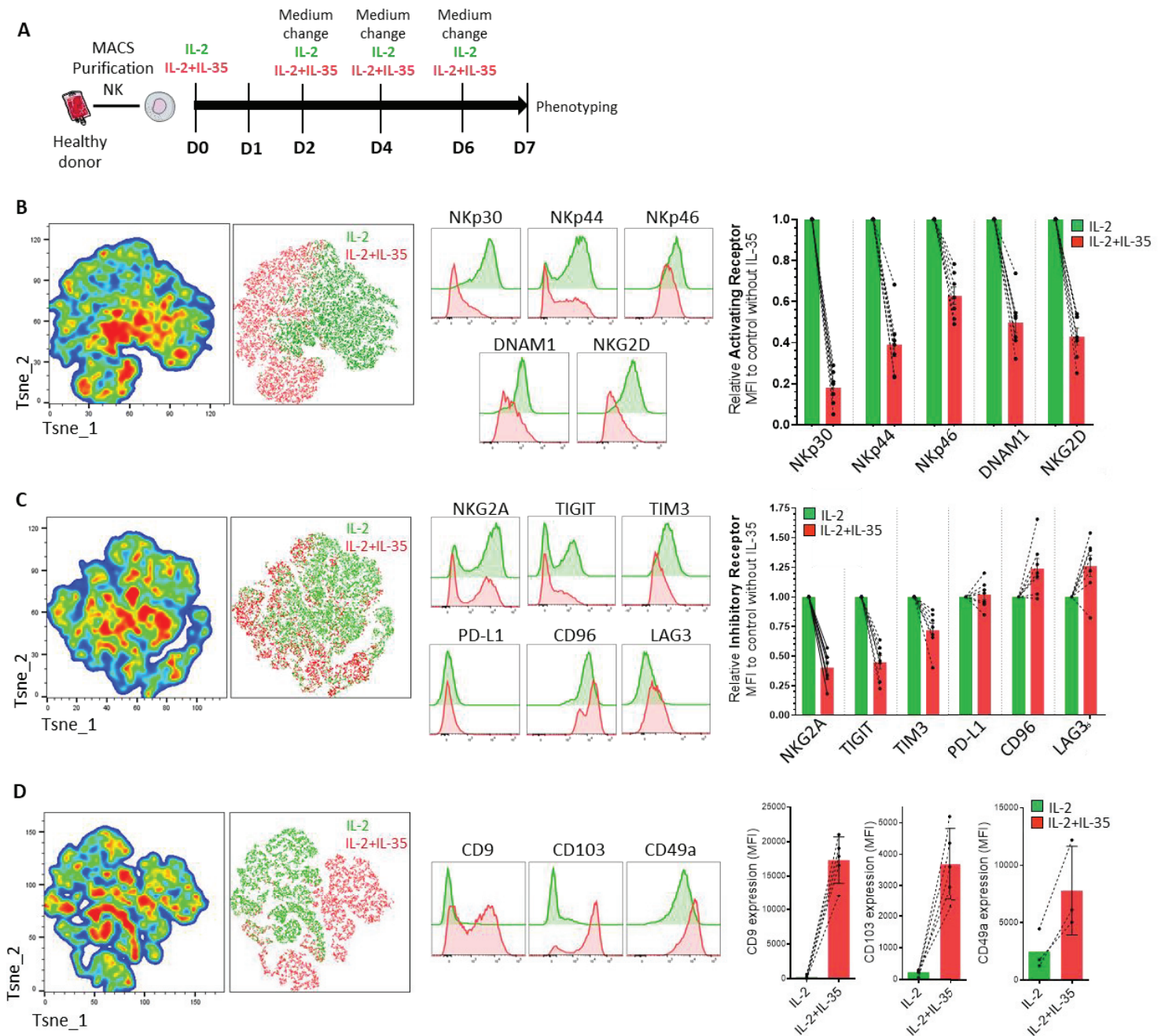
**Fig. 4: Long term exposure to IL-35 leads to NK cell hyporesponsiveness**

**A)** Schematic representation of the protocol used to assess NK cell cytotoxicity and cytokine production after long term exposure to IL-35. Healthy donors' blood NK cells were cultured in low dose IL-2 (100 UI/mL) with or without IL-35 (100ng/ml) for 7 days and then either cocultured with K562 at 1:1, 1:2, 1:5 E/T ratio for 4h or with IL-12 and IL-18 for 24h.

**B)** Representative flow cytometry plots for IFN-g intracellular expression (left) and quantification of intracellular IFN-g production (% producing NK cells and MFI IFN-g) (right) for n=4 individual donors after 7 days in IL-2 with or without IL-35 followed by 24h activation with IL-12 and IL-18.

**C)** Supernatants from NK cells were collected after 7 days in IL-2 with or without IL-35 followed by 24h activation with IL-12 and IL-18 to quantify cytokine and chemokine release by ECLIA assay. Results are expressed as fold change compared to control condition without IL-35 (n = 3 to 6 individual donors). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**D)** Representative flow cytometry plots for AnnexinV/PI expression (left) and quantification of % dead K562 cells (right) after 7d-culture of NK cells in IL-2 with or without IL-35 followed by 4h-coculture NK/K562. Histogram bars represent the median (n=5 individual donors). One-way repeated measures ANOVA with Dunnett's multiple comparisons test against levels in medium was performed.



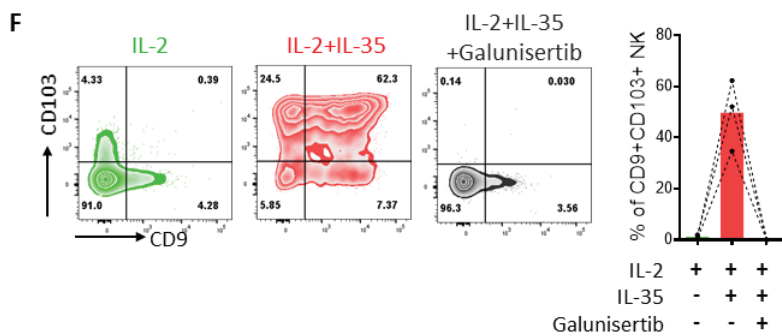
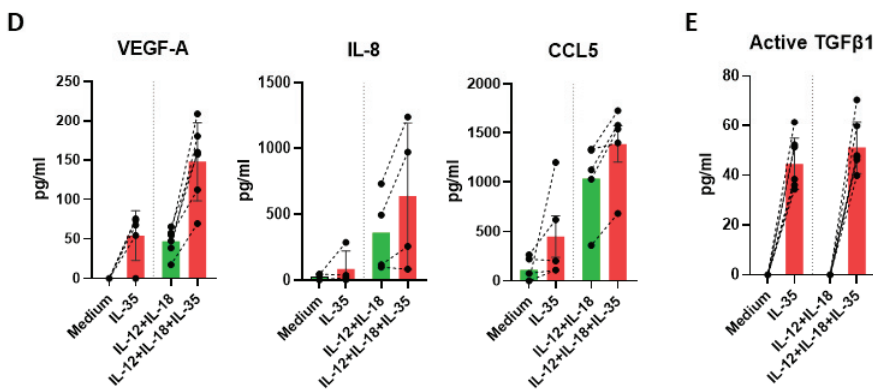
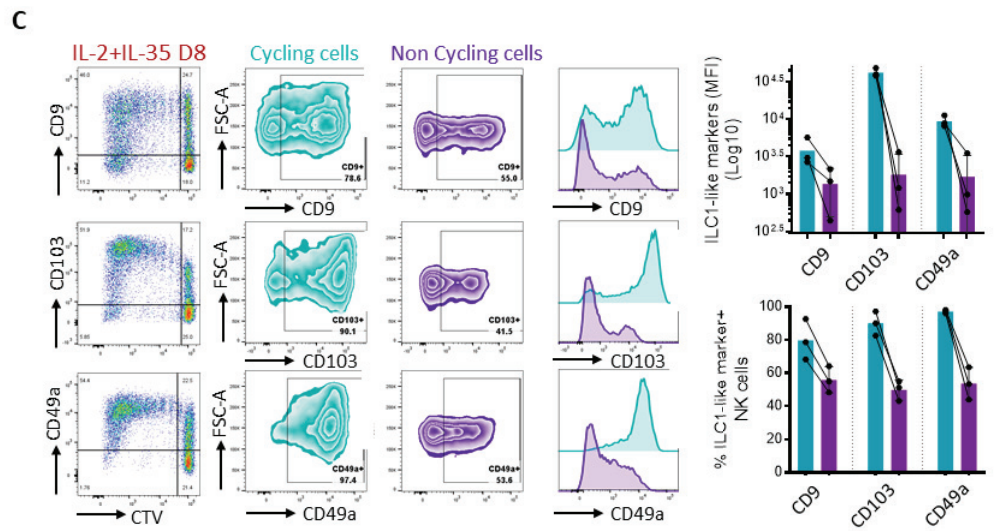
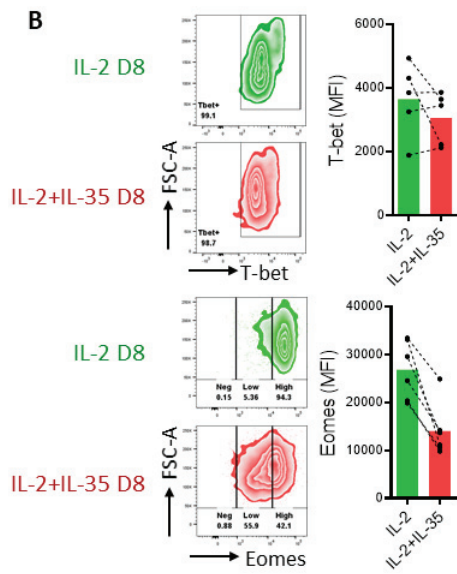
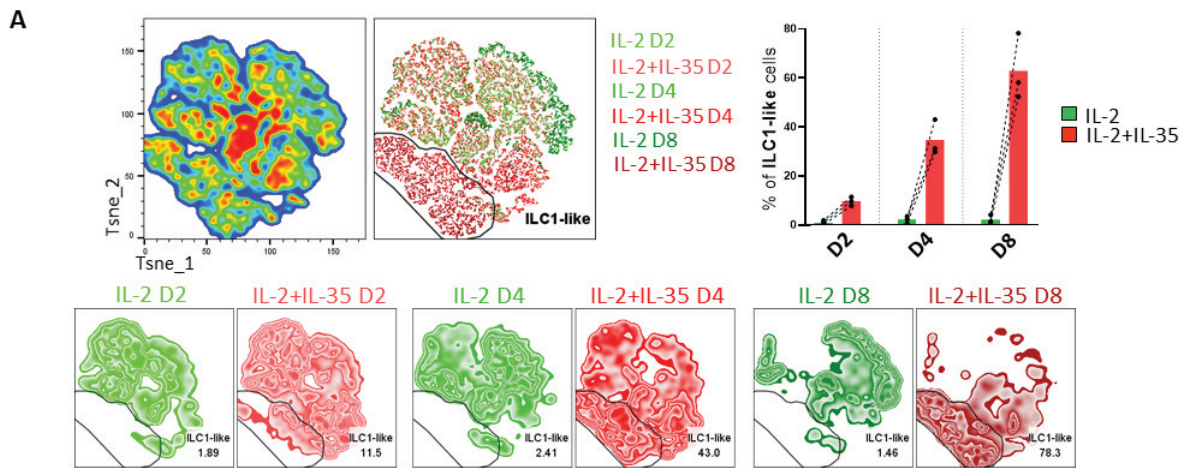
**Fig. 5: IL-35 alters the expression of NK cell surface receptors**

**A)** Schematic representation of the protocol used to assess NK cell phenotype. Healthy donors' blood NK cells were cultured in low dose IL-2 (100 UI/mL) with or without IL-35 (100ng/ml) for 7 days.

**B)** Representative two-dimensional T-SNE plots (left) showing NK cell clustering based on surface activating receptors' expression (NKp30, NKp44, NKp46, NKG2D, DNAM1), after 7d-culture in IL-2 with or without IL-35, as indicated in Fig. 5A. Representative flow cytometry plots (middle) and quantification of surface activating receptors' expression (right) are shown. Results are expressed as relative MFI for each marker compared to control condition without IL-35. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 7 experiments.

**C)** Representative two-dimensional T-SNE plots (left) showing NK cell clustering based on surface inhibitory receptors' expression (NKG2A, TIGIT, TIM-3, PD-L1, CD96, LAG-3), after 7d-culture in IL-2 with or without IL-35, as indicated in Fig. 5A. Representative flow cytometry plots (middle) and quantification of surface activating receptors' expression (right) are shown. Results are expressed as relative MFI for each marker compared to control condition without IL-35. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 7 experiments.

**D)** Representative two-dimensional T-SNE plots (left) showing NK cell clustering based on surface inhibitory receptors' expression (CD9, CD103, CD49a), after 7d-culture in IL-2 with or without IL-35, as indicated in Fig. 5A. Representative flow cytometry plots (middle) and quantification of MFI surface activating receptors' expression (right) are shown. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 3 to 5 experiments.



**Fig. 6: IL-35 drives the conversion of human NK cells into an ILC1-like phenotype in a TGF- $\beta$ -dependent manner**

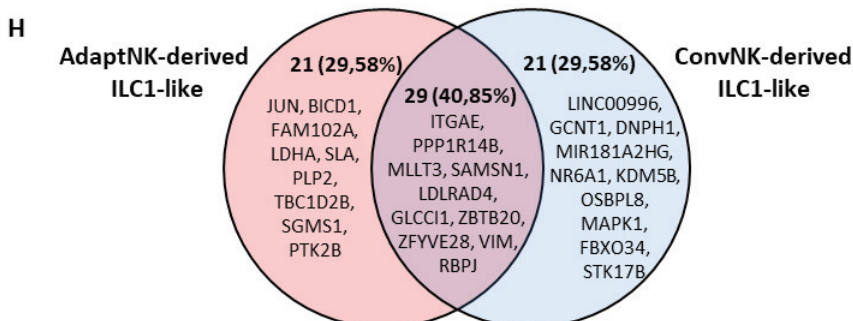
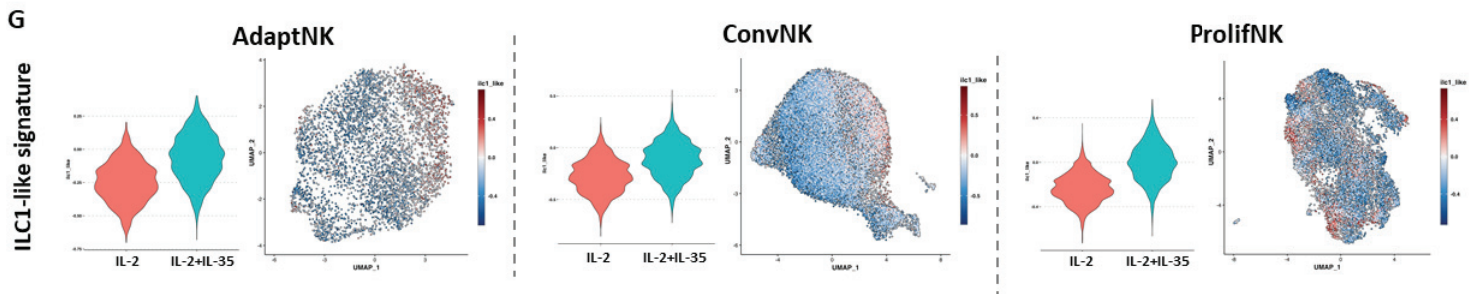
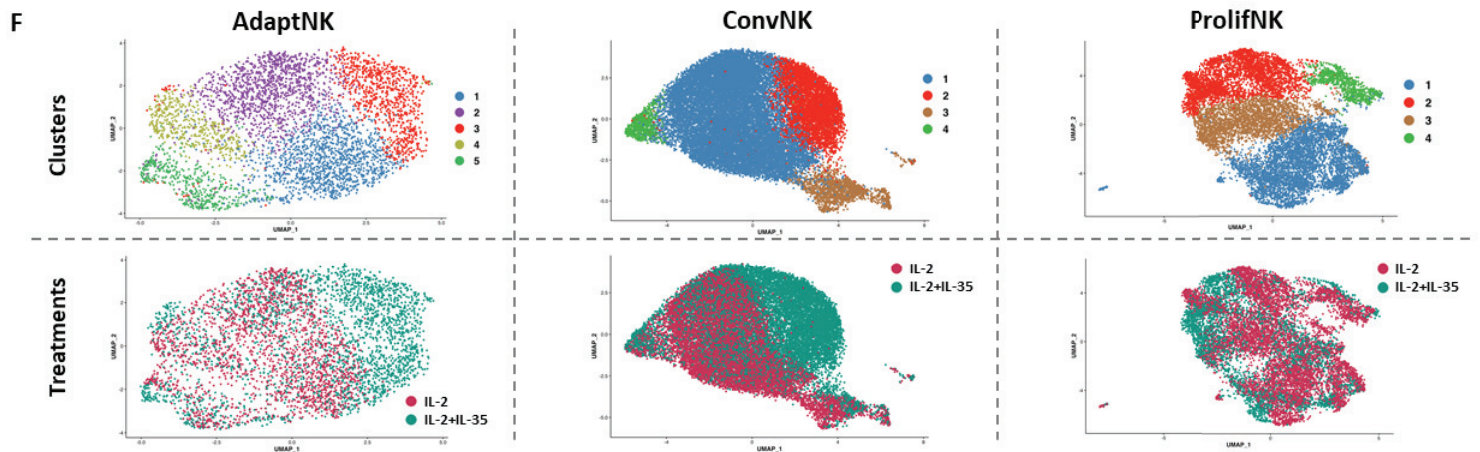
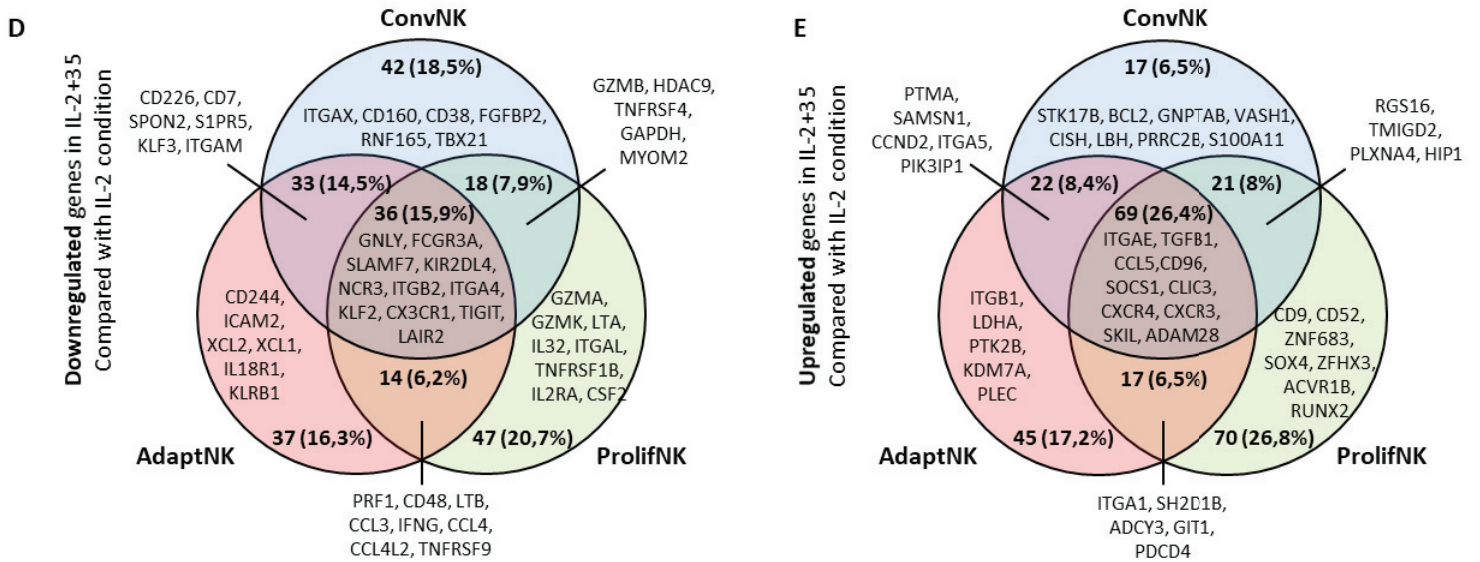
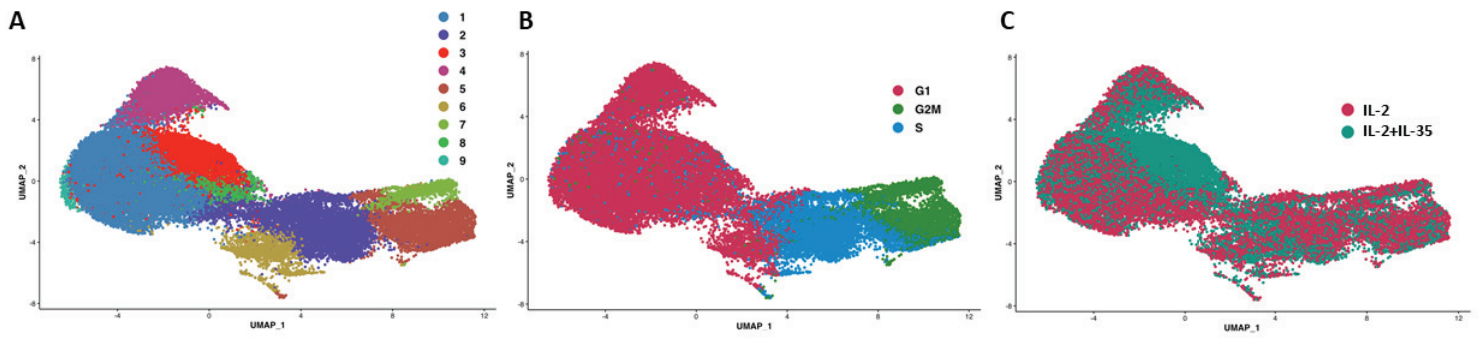
**A)** Two-dimensional T-SNE plots showing NK cell clustering based on surface marker profiles (CD103, CD9, CD49a) after 2, 4, and 8 days in culture with or without IL-2 and IL-35. Representative T-sne (upper left and lower) and quantification (%) (upper right) of ILC-1-like cells. Histogram bars indicate the mean. n = 3 experiments.

**B)** Representative flow cytometry plots (left) and quantification (right) of T-bet (upper) and Eomes (lower) MFI expression in NK cells cultured for 8 days in the presence of IL-2 with or without IL-35. n=5 experiments.

**C)** Representative flow cytometry plots (left) and quantification (right) of % and MFI CD9, CD103, and CD49a expression in ILC-1-like cells after 8 days of culture in the presence of IL-2 with IL-35 according to their proliferation status (cycling vs non cycling) based on CTV fluorescence intensity. n=3 experiments.

**D-E)** Supernatants from NK cells cultured for 24h in the presence of medium versus IL-12 and IL-18 with or without IL-35 were collected to quantify **D)** VEGF-A, IL-8, and CCL5 release by ECLIA assay and **E)** active TGF- $\beta$ 1 by ELISA. n = 4 to 6 individual donors. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

**F)** Representative flow cytometry plots (left) for CD9 and CD103 expression in NK cells after 8 days in culture with IL-2, IL-35 and a TGF- $\beta$  inhibitor and quantification (right) of % CD9+ CD103+ cells in the same culture condition. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.



**Fig. 7: Both conventional and adaptive NK cells respond to IL-35 by acquiring an ILC1-like phenotype**

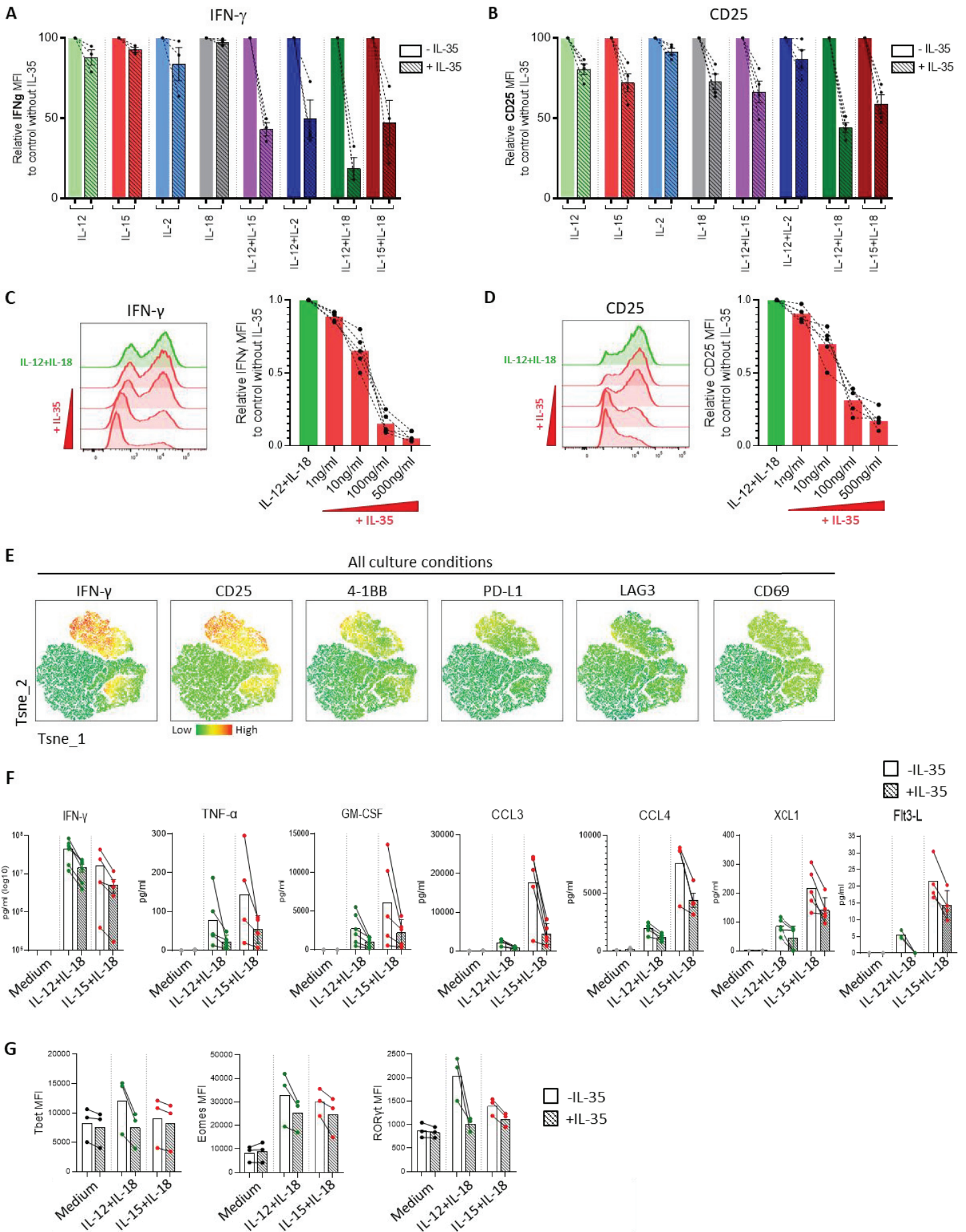
**A-C)** UMAP of human purified NK cells cultured in IL-2 with or without IL-35 for 2 or 4 days from two different healthy donors. Cells are colored according to **A)** the unsupervised clustering, **B)** the proliferation phase, and **C)** the treatment received.

**D-E)** Venn diagram of significantly **D)** downregulated or **E)** upregulated genes in IL-2+IL-35-exposed cells compared to IL-2-exposed control cells, by comparing ConvNK, AdaptNK, and ProlifNK being respectively colored in blue, red and green.

**F)** UMAP of AdaptNK (left), ConvNK (middle), and ProlifNK (right). Cells are colored according to (top) the unsupervised clustering or to (bottom) the treatment received.

**G)** Violin plots and UMAP respectively showing the distribution across Seurat clusters and NK cells of an ILC1-like signature score in presence or absence of IL-35 among AdaptNK (left), ConvNK (middle) and ProlifNK (right). Signature score is color-coded in the UMAPs on a scale based on the z-score distribution, from -1 (blue) to +1 (red).

**H)** Venn diagram of the top50 most highly expressed genes among genes specifically expressed in the identified ILC1-like cluster versus other clusters from ConvNK (blue) and AdaptNK (red) cells.





**Fig. S1: IL-35 is a potent, dose-dependent, inhibitor of human NK cells**

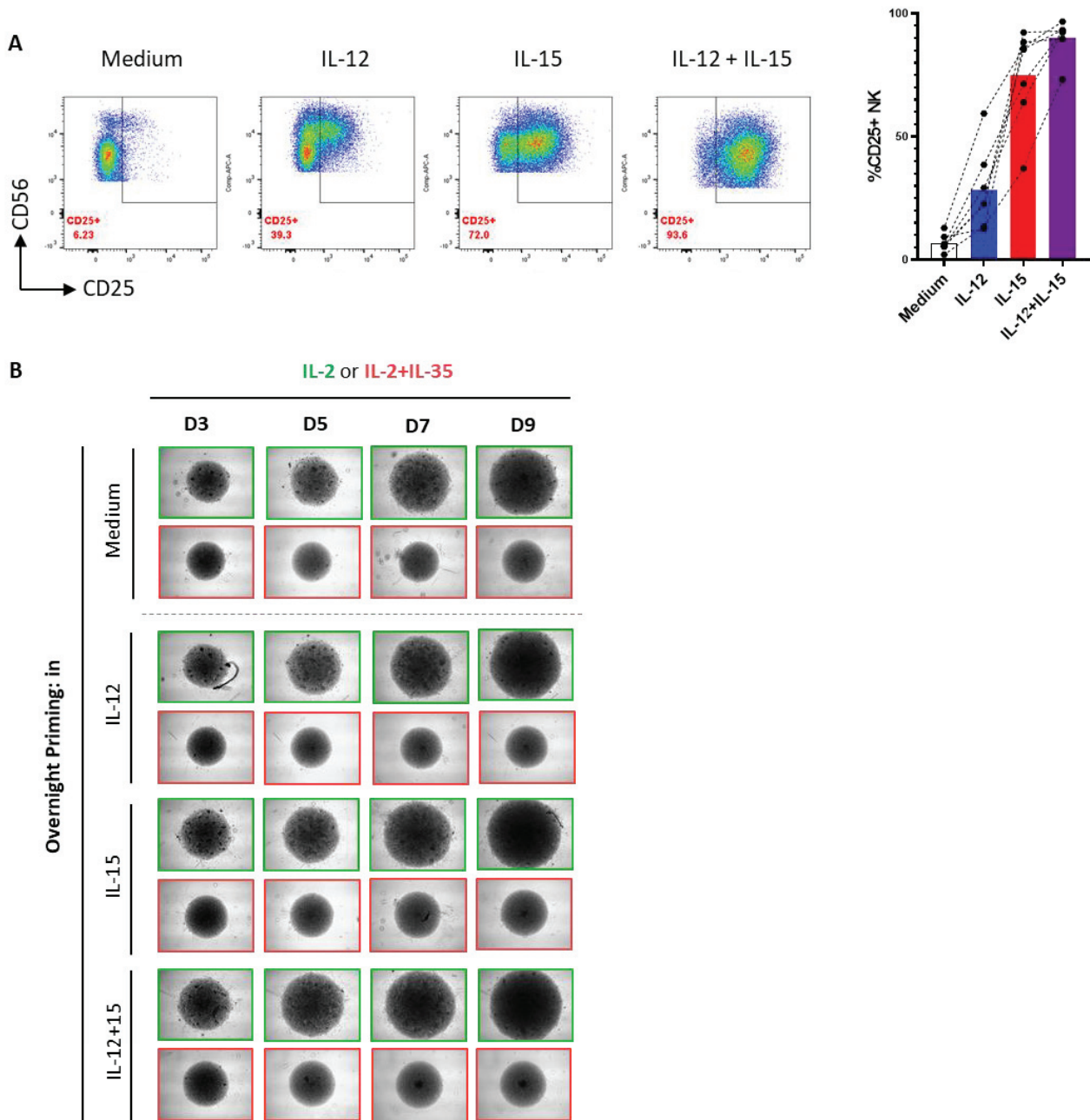
**A and B)** MFI expression of **A)** IFN-g and **B)** CD25 in the presence of IL-35 relative to control without IL-35 for each cytokine activation condition.

**C and D)** NK cells were isolated from the blood of healthy donors and activated for 24 h with IL-12+IL-18, alone or in combination with increasing doses of IL-35 (0 to 500 ng/mL) prior to analysis of **C)** intracellular IFN-g and **D)** CD25 expression by flow cytometry. Representative flow cytometry plots (left) and quantification (%) (right) of IFN- $\gamma$  intracellular expression and CD25 surface expression in NK cells 24h after cytokine activation. Histogram bars indicate the median. Two-way ANOVA test with Bonferroni's multiple comparisons test was performed; n = 4 experiments.

**E)** Heat mapping of surface marker intensity for IFN $\gamma$ , CD25, 4-1BB, LAG3, PD-L1, CD69 expression in NK cells after 24h of culture in the presence of Medium and IL-12+IL-18, with or without IL-35.

**F)** Raw data of cytokines and chemokines levels quantified by ECLIA in the supernatants from NK cells that were cultured for 24h in medium, IL-12+IL-18 and IL-15+IL-18 with or without IL-35 (n = 3 to 6 individual donors). Results are expressed in pg/ml. One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.

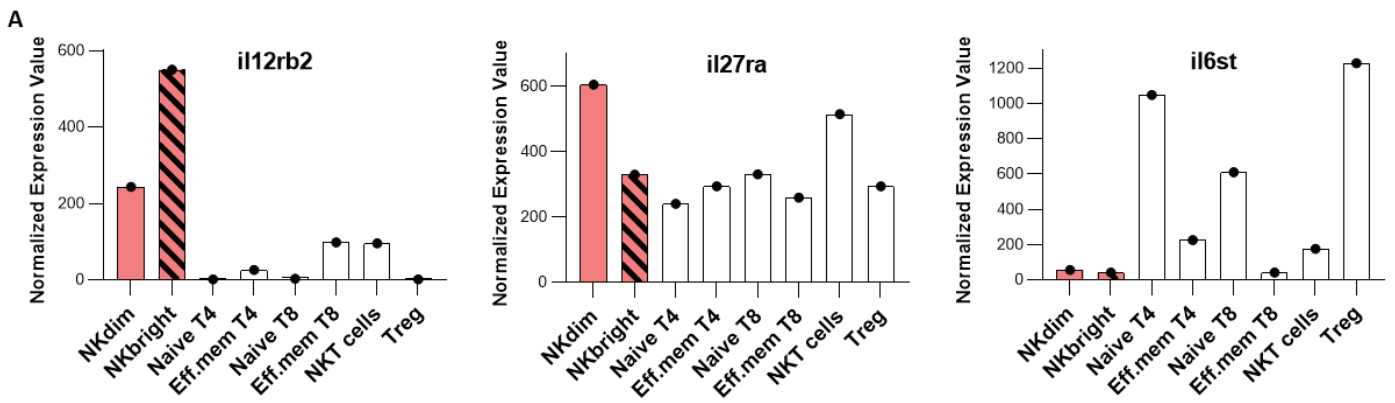
**G)** Raw data of T-bet, Eomes, and RORgt expression analyzed by flow cytometry in NK cells that were cultured for 24h in medium, IL-12+IL-18 and IL-15+IL-18 with or without IL-35 (n = 3 individual donors). One-way repeated measures ANOVA with Tukey's multiple comparisons test was performed.



**Fig. S2: IL-35 inhibits NK cell IL-2-induced proliferation but not survival**

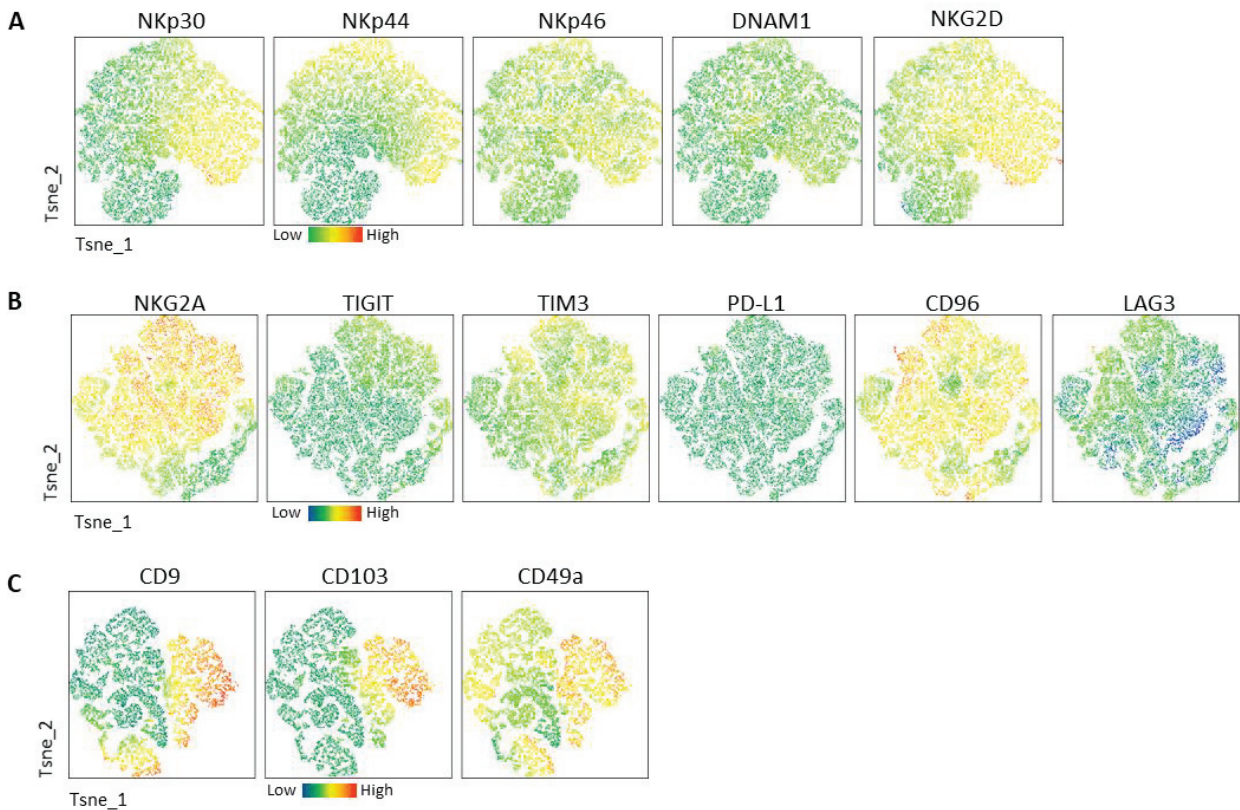
**A)** Representative flow cytometry plots for CD25 and CD56 expression (left) and quantification of % CD25-expressing NK cells (right) after 16h-preactivation in medium, IL-12, IL-15, IL-12+IL-15 (n=5 experiments).

**B)** Illustrative images of culture wells of preactivated NK cells for 16h as indicated and then cultured in IL-2 with or without IL-35 for 3, 5, 7, and 9 days.



**Fig. S3: IL-35 inhibits more mature  $CD56^{Dim}$  than immature  $CD56^{Bright}$  human NK cells**

**A)** *Il12rb2*, *Il27ra*, and *Il6st* gene expression in non activated immune cell populations from ImmGen public RNAseq dataset.

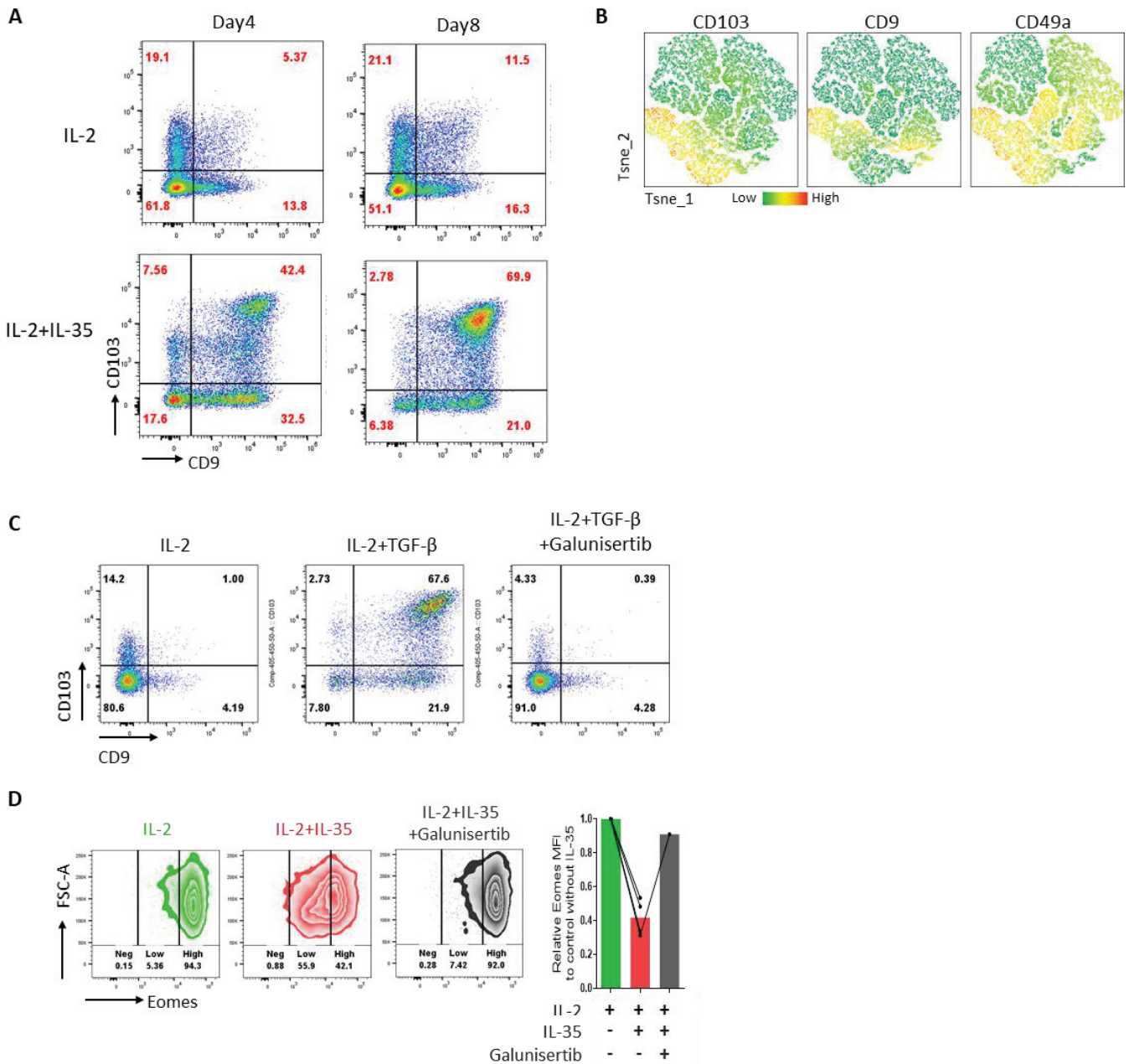


**Fig. S4: IL-35 alters the expression of NK cell surface receptors**

**A)** Heat mapping of surface marker intensity for NKp30, NKp44, NKp46, NKG2D, DNAM1 expression in NK cells after 7d-culture in IL-2 with or without IL-35, as indicated in Fig. 5A.

**B)** Heat mapping of surface marker intensity for NKG2A, TIGIT, TIM-3, PD-L1, CD96, LAG-3 expression in NK cells after 7d-culture in IL-2 with or without IL-35, as indicated in Fig. 5A.

**C)** Heat mapping of surface marker intensity for CD9, CD103, CD49a expression in NK cells after 7d-culture in IL-2 with or without IL-35, as indicated in Fig. 5A.



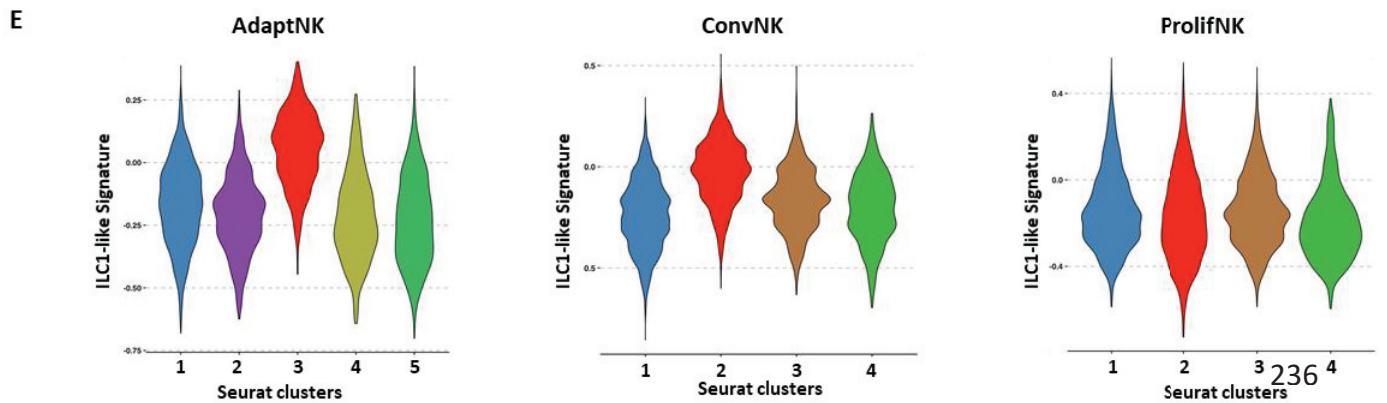
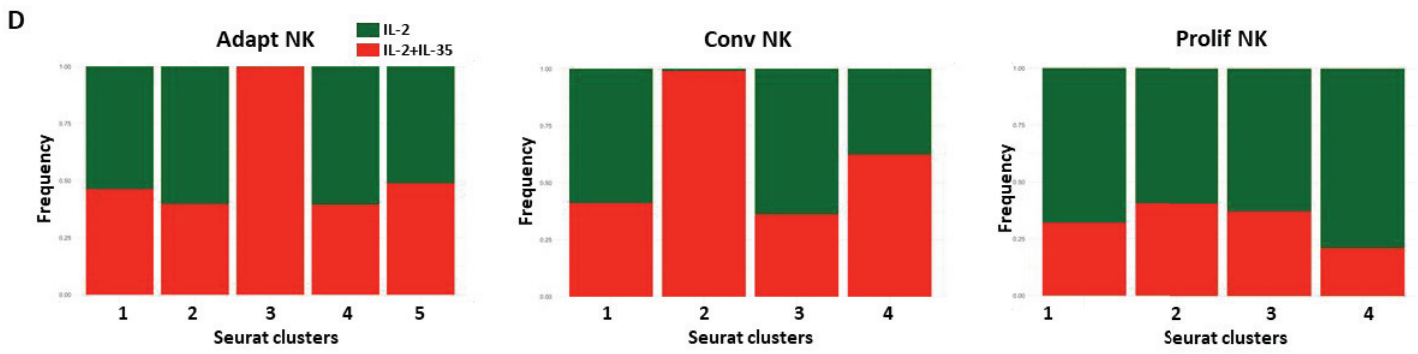
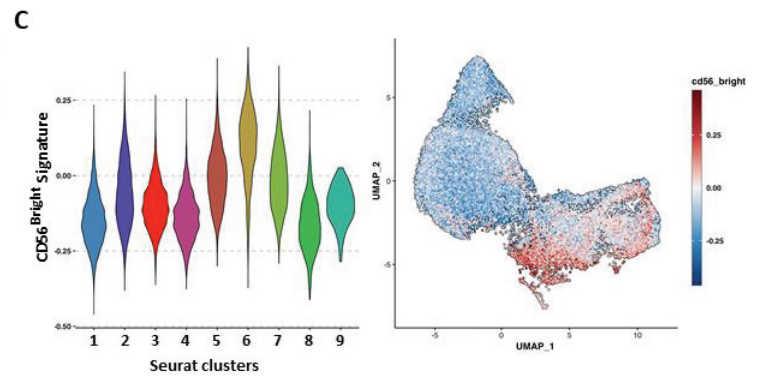
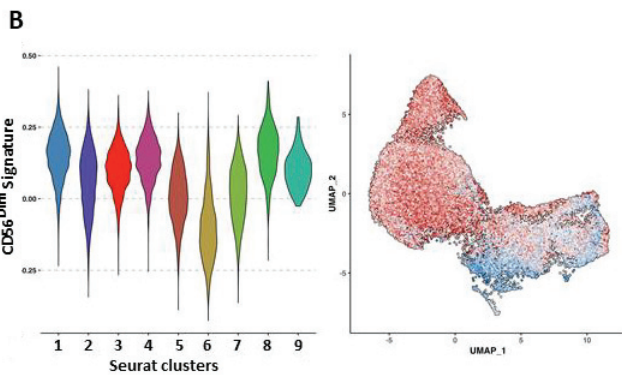
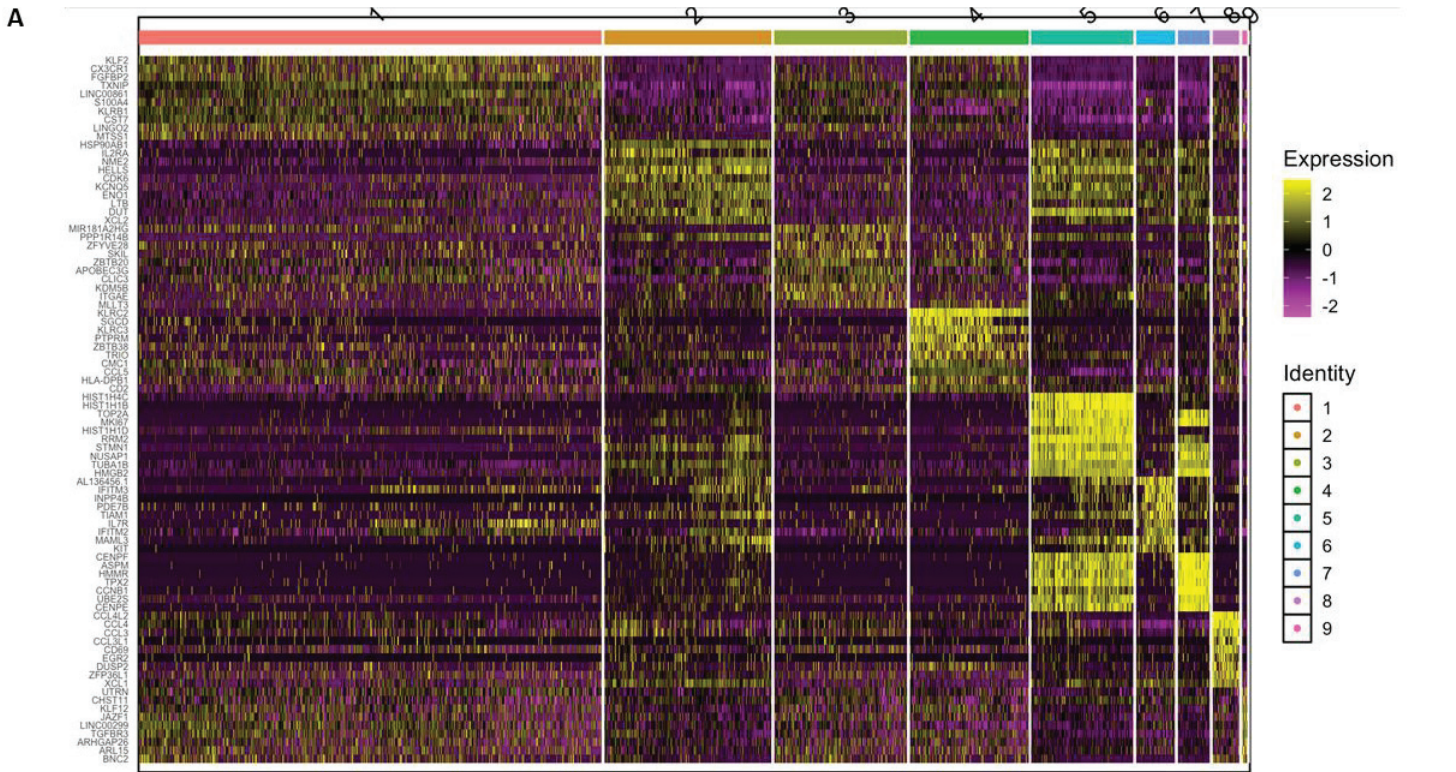
**Fig. S5: IL-35 drives the conversion of human NK cells into an ILC1-like phenotype in a TGF- $\beta$ -dependent manner**

**A)** Representative flow cytometry plots for CD9 and CD103 expression in NK cells after 8 days in culture with IL-2 +/- IL-35.

**B)** Heat mapping of surface marker intensity for CD103, CD9, CD49a expression in NK cells after 24h in culture with medium versus IL-12+IL-18, with or without IL-35.

**C)** Representative flow cytometry plots for CD9 and CD103 expression in NK cells after 8 days in culture with IL-2, TGF- $\beta$  and a TGF- $\beta$  inhibitor.

**D)** Representative flow cytometry plots (left) and quantification (right) of Eomes MFI expression in NK cells after 8 days in culture with or without IL-2 and IL-35. Results are expressed as relative MFI compared to control condition without IL-35. n=4 experiments.



**Fig. S6: Both conventional and adaptive NK cells respond to IL-35 by acquiring an ILC1-like phenotype**

**A)** Heatmap of the genes tested with the Wilcoxon rank sum test separating the healthy human NK cells into subsets. Cells are plotted in columns according to subset source. Genes are shown in rows and ranked by adjusted p values < 0.05. Gene expression is color-coded on a scale based on the z-score distribution, from -2 (purple) to 2 (yellow).

**B-C)** Violin plots and UMAP respectively showing the distribution across Seurat clusters or NK cells of a B) CD56<sup>Dim</sup> signature score or C) CD56<sup>Bright</sup> signature score among NK cells. Signature score is color-coded in the UMAP on a scale based on the z-score distribution, from -0.5 (blue) to +0.5 (red).

**D)** Frequency of IL-2-treated or IL-2+IL-35-treated cells in each Seurat cluster among AdaptNK (left), ConvNK (middle) and ProlifNK (right).

**E)** Violin plots showing the distribution across Seurat clusters of the ILC1-like signature score among AdaptNK (left), ConvNK (middle) and ProlifNK (right).

## References

- Barry, K. C., Hsu, J., Broz, M. L., Cueto, F. J., Binnewies, M., Combes, A. J., Nelson, A. E., Loo, K., Kumar, R., Rosenblum, M. D., Alvarado, M. D., Wolf, D. M., Bogunovic, D., Bhardwaj, N., Daud, A. I., Ha, P. K., Ryan, W. R., Pollack, J. L., Samad, B., ... Krummel, M. F. (2018). A natural killer-dendritic cell axis defines checkpoint therapy-responsive tumor microenvironments. *Nature Medicine*, *24*(8), 1178–1191. <https://doi.org/10.1038/S41591-018-0085-8>
- Berger, G., Knelson, E. H., Jimenez-Macias, J. L., Nowicki, M. O., Han, S., Panagioti, E., Lizotte, P. H., Adu-Berchie, K., Stafford, A., Dimitrakakis, N., Zhou, L., Chiocca, E. A., Mooney, D. J., Barbie, D. A., & Lawler, S. E. (2022). STING activation promotes robust immune response and NK cell-mediated tumor regression in glioblastoma models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *119*(28), e2111003119. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2111003119/SUPPL\\_FILE/PNAS.2111003119.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2111003119/SUPPL_FILE/PNAS.2111003119.SAPP.PDF)
- Bernink, J. H., Peters, C. P., Munneke, M., Te Velde, A. A., Meijer, S. L., Weijer, K., Hreggvidsdottir, H. S., Heinsbroek, S. E., Legrand, N., Buskens, C. J., Bemelman, W. A., Mjösberg, J. M., & Spits, H. (2013). Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nature Immunology*, *14*(3), 221–229. <https://doi.org/10.1038/NI.2534>
- Böttcher, J. P., Bonavita, E., Chakravarty, P., Brees, H., Cabeza-Cabrerizo, M., Sammicheli, S., Rogers, N. C., Sahai, E., Zelenay, S., & Reis e Sousa, C. (2018). NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. *Cell*, *172*(5), 1022–1037.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.01.004>
- Cella, M., & Robinette, M. L. (2021). Intraepithelial ILC1-like cells: Front-line fighters in human head and neck squamous cell carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *118*(33). <https://doi.org/10.1073/PNAS.2110875118>
- Cerdeira, A. S., Rajakumar, A., Royle, C. M., Lo, A., Husain, Z., Thadhani, R. I., Sukhatme, V. P., Karumanchi, S. A., & Kopcow, H. D. (2013). Conversion of peripheral blood NK cells to a decidual NK-like phenotype by a cocktail of defined factors. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *190*(8), 3939–3948. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202582>
- Chakir, H., Lemay, A. M., & Webb, J. R. (2001). Cytokine expression by murine DX5+ cells in response to IL-12, IL-18, or the combination of IL-12 and IL-18. *Cellular Immunology*, *212*(1), 71–81. <https://doi.org/10.1006/CIMM.2001.1844>
- Chatrabnous, N., Ghaderi, A., Ariaifar, A., Razeghinia, M. S., Nemati, M., & Jafarzadeh, A. (2019). Serum concentration of interleukin-35 and its association with tumor stages and FOXP3 gene polymorphism in patients with prostate cancer. *Cytokine*, *113*, 221–227. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2018.07.006>
- Cherrier, D. E., Serafini, N., & Di Santo, J. P. (2018). Innate Lymphoid Cell Development: A T Cell Perspective. *Immunity*, *48*(6), 1091–1103. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2018.05.010>
- Collins, A., Rothman, N., Liu, K., & Reiner, S. L. (2017). Eomesodermin and T-bet mark developmentally distinct human natural killer cells. *JCI Insight*, *2*(5), 90063. <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.90063>
- Collison, L. W., Chaturvedi, V., Henderson, A. L., Giacomini, P. R., Guy, C., Bankoti, J., Finkelstein, D., Forbes, K., Workman, C. J., Brown, S. A., Rehg, J. E., Jones, M. L., Ni, H. T., Artis, D., Turk, M. J., & Vignali, D. A. A. (2010). IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nature Immunology* *2010 11:12*, *11*(12), 1093–1101. <https://doi.org/10.1038/ni.1952>
- Collison, L. W., Delgoffe, G. M., Guy, C. S., Vignali, K. M., Chaturvedi, V., Fairweather, D., Satoskar, A. R., Garcia, K. C., Hunter, C. A., Drake, C. G., Murray, P. J., & Vignali, D. A. A. (2012). The composition and signaling of the IL-35 receptor are unconventional. *Nature Immunology*, *13*(3), 290. <https://doi.org/10.1038/NI.2227>
- Collison, L. W., Workman, C. J., Kuo, T. T., Boyd, K., Wang, Y., Vignali, K. M., Cross, R., Sehy, D., Blumberg, R. S., & Vignali, D. A. A. (2007). The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, *450*(7169), 566–569. <https://doi.org/10.1038/NATURE06306>
- Cooper, M. A., Fehniger, T. A., & Caligiuri, M. A. (2001). The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in Immunology*, *22*(11), 633–640. [https://doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)02060-9](https://doi.org/10.1016/S1471-4906(01)02060-9)
- Cooper, M. A., Fehniger, T. A., Turner, S. C., Chen, K. S., Ghaheri, B. A., Ghayur, T., Carson, W. E., & Caligiuri, M. A. (2001). Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56(bright) subset. *Blood*, *97*(10), 3146–3151. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V97.10.3146>
- Cortez, V. S., Cervantes-Barragan, L., Robinette, M. L., Bando, J. K., Wang, Y., Geiger, T. L., Gilfillan, S., Fuchs, A., Vivier, E., Sun, J. C., Cella, M., & Colonna, M. (2016). Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling Guides the Differentiation of Innate Lymphoid Cells in Salivary Glands. *Immunity*, *44*(5), 1127–1139. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.03.007>
- Cortez, V. S., Ulland, T. K., Cervantes-Barragan, L., Bando, J. K., Robinette, M. L., Wang, Q., White, A. J., Gilfillan, S., Cella, M., & Colonna, M. (2017). SMAD4 impedes the conversion of NK cells into ILC1-like cells by curtailing non-canonical TGF- $\beta$  signaling. *Nature Immunology*, *18*(9), 995–1003. <https://doi.org/10.1038/NI.3809>
- Cuff, A. O., Sillito, F., Dertschnig, S., Hall, A., Luong, T. V., Chakraverty, R., & Male, V. (2019). The Obese Liver Environment Mediates Conversion of NK Cells to a Less Cytotoxic ILC1-Like Phenotype. *Frontiers in Immunology*, *10*, 2180. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02180/BIBTEX>
- Deblaker-Hohe, D. F., Yamauchi, A., Yu, C. R., Horvath-Arcidiacono, J. A., & Bloom, E. T. (1995). IL-12 synergizes with IL-2 to induce lymphokine-activated cytotoxicity and perforin and granzyme gene expression in fresh human NK cells. *Cellular Immunology*, *165*(1), 33–43. <https://doi.org/10.1006/CIMM.1995.1184>
- Denkert, C., von Minckwitz, G., Darb-Esfahani, S., Lederer, B., Heppner, B. I., Weber, K. E., Budczies, J., Huober, J., Klauschen, F., Furlanetto, J., Schmitt, W. D., Blohmer, J. U., Karn, T., Pfizner, B. M., Kümmel, S., Engels, K., Schneeweiss, A., Hartmann, A., Noske, A., ... Loibl, H. (2015). Pembrolizumab versus docetaxel for recurrent metastatic breast cancer (POPO): a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Oncology*, *16*(12), 1223–1233. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00439-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00439-4)

- S. (2018). Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *The Lancet. Oncology*, *19*(1), 40–50. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30904-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30904-X)
- Di Censo, C., Marotel, M., Mattioli, I., Müller, L., Scarno, G., Pietropaolo, G., Peruzzi, G., Laffranchi, M., Mazej, J., Hasim, M. S., Asif, S., Russo, E., Tomaipitca, L., Stabile, H., Lee, S. H., Vian, L., Gadina, M., Gismondi, A., Shih, H. Y., ... Sciumè, G. (2021). Granzyme A and CD160 expression delineates ILC1 with graded functions in the mouse liver. *European Journal of Immunology*, *51*(11), 2568–2575. <https://doi.org/10.1002/EJI.202149209>
- Fehniger, T. A., Shah, M. H., Turner, M. J., VanDeusen, J. B., Whitman, S. P., Cooper, M. A., Suzuki, K., Wechsler, M., Goodsaid, F., & Caligiuri, M. A. (1999). Differential Cytokine and Chemokine Gene Expression by Human NK Cells Following Activation with IL-18 or IL-15 in Combination with IL-12: Implications for the Innate Immune Response. *The Journal of Immunology*, *162*(8), 4511–4520. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.162.8.4511>
- Ferlazzo, G., Pack, M., Thomas, D., Paludan, C., Schmid, D., Strowig, T., Bougras, G., Muller, W. A., Moretta, L., & Münz, C. (2004). Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(47), 16606. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0407522101>
- Filipovic, I., Chiosso, L., Vacca, P., Hamilton, R. S., Ingegnere, T., Doisne, J. M., Hawkes, D. A., Mingari, M. C., Sharkey, A. M., Moretta, L., & Colucci, F. (2018). Molecular definition of group 1 innate lymphoid cells in the mouse uterus. *Nature Communications* *2018* *9*:1, *9*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06918-3>
- Friedrich, C., Taggenbrock, R. L. R. E., Doucet-Ladevèze, R., Golda, G., Moenius, R., Arampatzi, P., Kragten, N. A. M., Kreymborg, K., Gomez de Agüero, M., Kastenmüller, W., Saliba, A. E., Grün, D., van Gisbergen, K. P. J. M., & Gasteiger, G. (2021). Effector differentiation downstream of lineage commitment in ILC1s is driven by Hobit across tissues. *Nature Immunology* *2021* *22*:10, *22*(10), 1256–1267. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01013-0>
- Gallazzi, M., Baci, D., Mortara, L., Bosi, A., Buono, G., Naselli, A., Guarneri, A., Dehò, F., Capogrosso, P., Albin, A., Noonan, D. M., & Bruno, A. (2021). Prostate Cancer Peripheral Blood NK Cells Show Enhanced CD9, CD49a, CXCR4, CXCL8, MMP-9 Production and Secrete Monocyte-Recruiting and Polarizing Factors. *Frontiers in Immunology*, *11*, 586126. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.586126/BIBTEX>
- Gao, Y., Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Bald, T., Ng, S. S., Young, A., Ngiow, S. F., Rautela, J., Straube, J., Waddell, N., Blake, S. J., Yan, J., Bartholin, L., Lee, J. S., Vivier, E., Takeda, K., Messaoudene, M., Zitvogel, L., Teng, M. W. L., Belz, G. T., ... Smyth, M. J. (2017). Tumor immunoevasion by the conversion of effector NK cells into type 1 innate lymphoid cells. *Nature Immunology*, *18*(9), 1004–1015. <https://doi.org/10.1038/NI.3800>
- Gill, S., Vasey, A. E., De Souza, A., Baker, J., Smith, A. T., Kohrt, H. E., Florek, M., Gibbs, K. D., Tate, K., Ritchie, D. S., & Negrin, R. S. (2012). Rapid development of exhaustion and down-regulation of eomesodermin limit the antitumor activity of adoptively transferred murine natural killer cells. *Blood*, *119*(24), 5758. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-03-415364>
- Gonzalez, V. D., Huang, Y. W., Delgado-Gonzalez, A., Chen, S. Y., Donoso, K., Sachs, K., Gentles, A. J., Allard, G. M., Kolahi, K. S., Howitt, B. E., Porpiglia, E., & Fantl, W. J. (2021). High-grade serous ovarian tumor cells modulate NK cell function to create an immune-tolerant microenvironment. *Cell Reports*, *36*(9), 109632. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109632>
- Hanna, J., Goldman-Wohl, D., Hamani, Y., Avraham, I., Greenfield, C., Natanson-Yaron, S., Prus, D., Cohen-Daniel, L., Arnon, T. I., Manaster, I., Gazit, R., Yutkin, V., Benharroch, D., Porgador, A., Keshet, E., Yagel, S., & Mandelboim, O. (2006). Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nature Medicine*, *12*(9), 1065–1074. <https://doi.org/10.1038/NM1452>
- Hao, S., Chen, X., Wang, F., Shao, Q., Liu, J., Zhao, H., Yuan, C., Ren, H., & Mao, H. (2018). Breast cancer cell-derived IL-35 promotes tumor progression via induction of IL-35-producing induced regulatory T cells. *Carcinogenesis*, *39*(12), 1488–1496. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGY136>
- Hawke, L. G., Mitchell, B. Z., & Ormiston, M. L. (2020). TGF- $\beta$  and IL-15 Synergize through MAPK Pathways to Drive the Conversion of Human NK Cells to an Innate Lymphoid Cell 1-like Phenotype. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *204*(12), 3171–3181. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1900866>
- Heim, L., Kachler, K., Siegmund, R., Trufa, D. I., Mittler, S., Geppert, C. I., Friedrich, J., Rieker, R. J., Sirbu, H., & Finotto, S. (2019). Increased expression of the immunosuppressive interleukin-35 in patients with non-small cell lung cancer. *British Journal of Cancer*, *120*(9), 903. <https://doi.org/10.1038/S41416-019-0444-3>
- Horwitz, D. A., Gray, J. D., & Ohtsuka, K. (1999). Role of NK cells and TGF-beta in the regulation of T-cell-dependent antibody production in health and autoimmune disease. *Microbes and Infection*, *1*(15), 1305–1311. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)00253-1](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(99)00253-1)
- Hou, R., Huang, R., Zhou, Y., Lin, D., Xu, J., Yang, L., Wei, X., Xie, Z., & Zhou, Q. (2023). Single-cell profiling of the microenvironment in decidual tissue from women with missed abortions. *Fertility and Sterility*, *119*(3), 492–503. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.12.016>
- Huang, C., Li, N., Li, Z., Chang, A., Chen, Y., Zhao, T., Li, Y., Wang, X., Zhang, W., Wang, Z., Luo, L., Shi, J., Yang, S., Ren, H., & Hao, J. (2017). Tumour-derived Interleukin 35 promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell extravasation and metastasis by inducing ICAM1 expression. *Nature Communications* *2017* *8*:1, *8*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/ncomms14035>
- Huang, C., Li, Z., Li, N., Li, Y., Chang, A., Zhao, T., Wang, X., Wang, H., Gao, S., Yang, S., Hao, J., & Ren, H. (2018). Interleukin 35 Expression Correlates With Microvessel Density in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, Recruits Monocytes, and Promotes Growth and Angiogenesis of Xenograft Tumors in Mice. *Gastroenterology*, *154*(3), 675–688. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2017.09.039>
- Huhn, O., Ivarsson, M. A., Gardner, L., Hollinshead, M., Stinchcombe, J. C., Chen, P., Shreeve, N., Chazara, O., Farrell, L. E., Theorell, J., Ghadially, H., Parham, P., Griffiths, G., Horowitz, A., Moffett, A., Sharkey, A. M., & Colucci, F. (2020). Distinctive phenotypes and



- functions of innate lymphoid cells in human decidua during early pregnancy. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-019-14123-Z>
- Huntington, N. D., Cursons, J., & Rautela, J. (2020). The cancer–natural killer cell immunity cycle. *Nature Reviews Cancer* 20:8, 20(8), 437–454. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0272-z>
- Illman, S. A., Lehti, K., Keski-Oja, J., & Lohi, J. (2006). Epilysin (MMP-28) induces TGF-beta mediated epithelial to mesenchymal transition in lung carcinoma cells. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 18), 3856–3865. <https://doi.org/10.1242/JCS.03157>
- Jiang, Y., Yang, M., Sun, X., Chen, X., Ma, M., Yin, X., Qian, S., Zhang, Z., Fu, Y., Liu, J., Han, X., Xu, J., & Shang, H. (2018). IL-10+ NK and TGF-β+ NK cells play negative regulatory roles in HIV infection. *BMC Infectious Diseases*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12879-018-2991-2>
- Jin, P., Ren, H., Sun, W., Xin, W., Zhang, H., & Hao, J. (2014). Circulating IL-35 in pancreatic ductal adenocarcinoma patients. *Human Immunology*, 75(1), 29–33. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2013.09.018>
- Keskin, D. B., Allan, D. S. J., Rybalov, B., Andzelm, M. M., Stern, J. N. H., Kopcow, H. D., Koopman, L. A., & Strominger, J. L. (2007). TGF promotes conversion of CD16 peripheral blood NK cells into CD16 NK cells with similarities to decidual NK cells. [www.pnas.org/cgi/content/full/](http://www.pnas.org/cgi/content/full/)
- Kessenbrock, K., Plaks, V., & Werb, Z. (2010). Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. *Cell*, 141(1), 52–67. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.03.015>
- Larousse, F., Kebe, D., Huynh, T., Audebourg, A., Tamburini, J., Terris, B., & Devergne, O. (2019). Evidence for IL-35 Expression in Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Impact on the Patient’s Prognosis. *Frontiers in Oncology*, 9(JUN). <https://doi.org/10.3389/FONC.2019.00563>
- Lash, G. E., Schiessl, B., Kirkley, M., Innes, B. A., Cooper, A., Searle, R. F., Robson, S. C., & Bulmer, J. N. (2006). Expression of angiogenic growth factors by uterine natural killer cells during early pregnancy. *Journal of Leukocyte Biology*, 80(3), 572–580. <https://doi.org/10.1189/JLB.0406250>
- Lee, C. C., Lin, J. C., Hwang, W. L., Kuo, Y. J., Chen, H. K., Tai, S. K., Lin, C. C., & Yang, M. H. (2018). Macrophage-secreted interleukin-35 regulates cancer cell plasticity to facilitate metastatic colonization. *Nature Communications* 2018 9:1, 9(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06268-0>
- Leong, J. W., Chase, J. M., Romee, R., Schneider, S. E., Sullivan, R. P., Cooper, M. A., & Fehniger, T. A. (2014). Preactivation with IL-12, IL-15, and IL-18 induces CD25 and a functional high-affinity IL-2 receptor on human cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation : Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 20(4), 463–473. <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2014.01.006>
- Li, S., Mirlekar, B., Johnson, B. M., Brickey, W. J., Wrobel, J. A., Yang, N., Song, D., Entwistle, S., Tan, X., Deng, M., Cui, Y., Li, W., Vincent, B. G., Gale, M., Pylayeva-Gupta, Y., & Ting, J. P. Y. (2022). STING-induced regulatory B cells compromise NK function in cancer immunity. *Nature*, 610(7931), 373–380. <https://doi.org/10.1038/S41586-022-05254-3>
- Liu, J., Chen, X., Hao, S., Zhao, H., Pang, L., Wang, L., Ren, H., Wang, C., & Mao, H. (2019). Human chorionic gonadotropin and IL-35 contribute to the maintenance of peripheral immune tolerance during pregnancy through mediating the generation of IL-10+ or IL-35+ Breg cells. *Experimental Cell Research*, 383(2). <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2019.111513>
- Liu, J., Hao, S., Chen, X., Zhao, H., Du, L., Ren, H., Wang, C., & Mao, H. (2019). Human placental trophoblast cells contribute to maternal–fetal tolerance through expressing IL-35 and mediating iTN35 conversion. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12484-z>
- Liu, S., Yang, L., Jia, S., Zhao, R., & Jin, Z. (2021). Interleukin-35 suppresses the activity of natural killer-like B cells in patients with hepatocellular carcinoma. *International Immunopharmacology*, 100, 108161. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2021.108161>
- Liu, W., Wei, X., Li, L., Wu, X., Yan, J., Yang, H., & Song, F. (2017). CCR4 mediated chemotaxis of regulatory T cells suppress the activation of T cells and NK cells via TGF-β pathway in human non-small cell lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 488(1), 196–203. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2017.05.034>
- Lombardelli, L., Logiodice, F., Kullolli, O., Haller, H., Agostinis, C., Bulla, R., Rukavina, D., & Piccinni, M. P. (2022). At Embryo Implantation Site IL-35 Secreted by Trophoblast, Polarizing T Cells towards IL-35+ IL-10+ IL-4+ Th2-Type Cells, Could Favour Fetal Allograft Tolerance and Pregnancy Success. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9). <https://doi.org/10.3390/IJMS23094926>
- Lopes, N., Vivier, E., & Narni-Mancinelli, E. (2023). Natural killer cells and type 1 innate lymphoid cells in cancer. *Seminars in Immunology*, 66. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2022.101709>
- Mahfooz, N. S., Merling, M. R., Claeys, T. A., Dowling, J. W., Forero, A., & Robinson, R. T. (2023). Human IL-35 Inhibits the Bioactivity of IL-12 and Its Interaction with IL-12Rβ2. *ImmunoHorizons*, 7(6), 431–441. <https://doi.org/10.4049/IMMUNOHORIZONS.2300039>
- Malmberg, K. J., Carlsten, M., Björklund, A., Sohlberg, E., Bryceson, Y. T., & Ljunggren, H. G. (2017). Natural killer cell-mediated immunosurveillance of human cancer. *Seminars in Immunology*, 31, 20–29. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2017.08.002>
- Mao, H., Gao, W., Ma, C., Sun, J., Liu, J., Shao, Q., Song, B., & Qu, X. (2013). Human placental trophoblasts express the immunosuppressive cytokine IL-35. *Human Immunology*, 74(7), 872–877. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2013.04.010>
- Mao, Y., Sarhan, D., Steven, A., Seliger, B., Kiessling, R., & Lundqvist, A. (2014). Inhibition of tumor-derived prostaglandin-e2 blocks the induction of myeloid-derived suppressor cells and recovers natural killer cell activity. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 20(15), 4096–4106. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0635>

- Marçais, A., Cherfils-Vicini, J., Viant, C., Degouve, S., Viel, S., Fenis, A., Rabilloud, J., Mayol, K., Tavares, A., Biennu, J., Gangloff, Y. G., Gilson, E., Vivier, E., & Walzer, T. (2014). The metabolic checkpoint kinase mTOR is essential for IL-15 signaling during the development and activation of NK cells. *Nature Immunology*, *15*(8), 749–757. <https://doi.org/10.1038/NI.2936>
- Ma, Y., Chen, L., Xie, G., Zhou, Y., Yue, C., Yuan, X., Zheng, Y., Wang, W., Deng, L., & Shen, L. (2016). Elevated level of interleukin-35 in colorectal cancer induces conversion of T cells into iT<sub>H</sub>35 by activating STAT1/STAT3. *Oncotarget*, *7*(45), 73003–73015. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.12193>
- Mocikat, R., Braumüller, H., Gumy, A., Egeter, O., Ziegler, H., Reusch, U., Bubeck, A., Louis, J., Mailhammer, R., Riethmüller, G., Koszinowski, U., & Röcken, M. (2003). Natural killer cells activated by MHC class I(low) targets prime dendritic cells to induce protective CD8 T cell responses. *Immunity*, *19*(4), 561–569. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00264-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00264-4)
- Montaldo, E., Vacca, P., Chiossone, L., Croxatto, D., Loiacono, F., Martini, S., Ferrero, S., Walzer, T., Moretta, L., & Mingari, M. C. (2016). Unique Eomes+ NK cell subsets are present in uterus and decidua during early pregnancy. *Frontiers in Immunology*, *6*(JAN), 646. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2015.00646/BIBTEX>
- Moreno-Nieves, U. Y., Tay, J. K., Saumya, S., Horowitz, N. B., Shin, J. H., Mohammad, I. A., Luca, B., Mundy, D. C., Gulati, G. S., Bedi, N., Chang, S., Chen, C., Kaplan, M. J., Rosenthal, E. L., Holsinger, F. C., Divi, V., Baik, F. M., Sirjani, D. B., Gentles, A. J., ... Sunwoo, J. B. (2021). Landscape of innate lymphoid cells in human head and neck cancer reveals divergent NK cell states in the tumor microenvironment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *118*(28), e2101169118. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2101169118/SUPPL\\_FILE/PNAS.2101169118.SD01.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2101169118/SUPPL_FILE/PNAS.2101169118.SD01.PDF)
- Murphy-Ullrich, J. E., & Suto, M. J. (2018). Thrombospondin-1 regulation of latent TGF- $\beta$  activation: a therapeutic target for fibrotic disease. *Matrix Biology : Journal of the International Society for Matrix Biology*, *68–69*, 28. <https://doi.org/10.1016/J.MATBIO.2017.12.009>
- Nagler, A., Lanier, L. L., Cwirla, S., & Phillips, J. H. (1989). Comparative studies of human FcR<sub>III</sub>-positive and negative natural killer cells. *The Journal of Immunology*, *143*(10), 3183–3191. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.143.10.3183>
- Nishino, R., Takano, A., Oshita, H., Ishikawa, N., Akiyama, H., Ito, H., Nakayama, H., Miyagi, Y., Tsuchiya, E., Kohno, N., Nakamura, Y., & Daigo, Y. (2011). Identification of Epstein-Barr virus-induced gene 3 as a novel serum and tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *17*(19), 6272–6286. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0060>
- Nixon, B. G., Chou, C., Krishna, C., Dadi, S., Michel, A. O., Cornish, A. E., Kansler, E. R., Do, M. H., Wang, X., Capistrano, K. J., Rudensky, A. Y., Leslie, C. S., & Li, M. O. (2022). Cytotoxic granzyme C-expressing ILC1s contribute to antitumor immunity and neonatal autoimmunity. *Science Immunology*, *7*(70), 8642. [https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABI8642/SUPPL\\_FILE/SCIIMMUNOL.ABI8642\\_TABLES\\_S1\\_TO\\_S5.ZIP](https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABI8642/SUPPL_FILE/SCIIMMUNOL.ABI8642_TABLES_S1_TO_S5.ZIP)
- Park, E., Patel, S., Wang, Q., Andhey, P., Zaitsev, K., Porter, S., Hershey, M., Bern, M., Plougastel-Douglas, B., Collins, P., Colonna, M., Murphy, K. M., Oltz, E., Artyomov, M., Sibley, L. D., & Yokoyama, W. M. (2019). Toxoplasma gondii infection drives conversion of NK cells into ILC1-like cells. *ELife*, *8*. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.47605>
- Poli, A., Michel, T., Thérésine, M., Andrès, E., Hentges, F., & Zimmer, J. (2009). CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology*, *126*(4), 458. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2567.2008.03027.X>
- Ramírez-Ramírez, D., Padilla-Castañeda, S., Galán-Enríquez, C. S., Vadillo, E., Prieto-Chávez, J. L., Jiménez-Hernández, E., Vilchis-Ordóñez, A., Sandoval, A., Baladrán, J. C., Pérez-Tapia, S. M., Ortiz-Navarrete, V., & Pelayo, R. (2019). CRTAM+ NK cells endowed with suppressor properties arise in leukemic bone marrow. *Journal of Leukocyte Biology*, *105*(5), 999–1013. <https://doi.org/10.1002/JLB.MA0618-231R>
- Rautela, J., Dagley, L. F., De Oliveira, C. C., Schuster, I. S., Hediyyeh-Zadeh, S., Delconte, R. B., Cursons, J., Hennessy, R., Hutchinson, D. S., Harrison, C., Kita, B., Vivier, E., Webb, A. I., Degli-Esposti, M. A., Davis, M. J., Huntington, N. D., & Souza-Fonseca-Guimaraes, F. (2019). Therapeutic blockade of activin-A improves NK cell function and antitumor immunity. *Science Signaling*, *12*(596), 7527. [https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAT7527/SUPPL\\_FILE/AAT7527\\_TABLE\\_S1.XLSX](https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAT7527/SUPPL_FILE/AAT7527_TABLE_S1.XLSX)
- Roth, P., Silgner, M., Goodman, S. L., Hasenbach, K., Thies, S., Maurer, G., Schraml, P., Tabatabai, G., Moch, H., Tritschler, I., & Weller, M. (2013). Integrin control of the transforming growth factor- $\beta$  pathway in glioblastoma. *Brain*, *136*(2), 564–576. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWS351>
- Saito, S., Shiozaki, A., Sasaki, Y., Nakashima, A., Shima, T., & Ito, M. (2007). Regulatory T cells and regulatory natural killer (NK) cells play important roles in fetomaternal tolerance. *Seminars in Immunopathology*, *29*(2), 115–122. <https://doi.org/10.1007/S00281-007-0067-2/FIGURES/4>
- Serti, E., Werner, J. M., Chattergoon, M., Cox, A. L., Lohmann, V., & Rehmann, B. (2014). Monocytes activate natural killer cells via inflammasome-induced interleukin 18 in response to hepatitis C virus replication. *Gastroenterology*, *147*(1). <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2014.03.046>
- Shaim, H., Shanley, M., Basar, R., Daher, M., Gumin, J., Zamler, D. B., Uprety, N., Wang, F., Huang, Y., Gabrusiewicz, K., Miao, Q., Dou, J., Alsuliman, A., Kerbauy, L. N., Acharya, S., Mohanty, V., Mendt, M., Li, S., Lu, J. J., ... Rezvani, K. (2021). Targeting the  $\alpha$ v integrin/TGF- $\beta$  axis improves natural killer cell function against glioblastoma stem cells. *The Journal of Clinical Investigation*, *131*(14). <https://doi.org/10.1172/JCI142116>
- Spits, H., Bernink, J. H., & Lanier, L. (2016). NK cells and type 1 innate lymphoid cells: partners in host defense. *Nature Immunology*, *17*(7), 758–764. <https://doi.org/10.1038/NI.3482>
- Tao, Q., Pan, Y., Wang, Y., Wang, H., Xiong, S., Li, Q., Wang, J., Tao, L., Wang, Z., Wu, F., Zhang, R., & Zhai, Z. (2015). Regulatory T cells-derived IL-35 promotes the growth of adult acute myeloid leukemia blasts. *International Journal of Cancer*, *137*(10), 2384–2393. <https://doi.org/10.1002/IJC.29563>

- Tao, Y., Li, Y., Zhang, D., Xu, L., Chen, J., Sang, Y., Piao, H., Jing, X., Yu, M., Fu, Q., Zhou, S., Li, D., & Du, M. (2021). Decidual CXCR4+ CD56bright NK cells as a novel NK subset in maternal-foetal immune tolerance to alleviate early pregnancy failure. *Clinical and Translational Medicine*, 11(10). <https://doi.org/10.1002/CTM2.540>
- Travis, M. A., & Sheppard, D. (2014). TGF- $\beta$  activation and function in immunity. *Annual Review of Immunology*, 32, 51–82. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-032713-120257>
- Turnis, M. E., Sawant, D. V., Szymczak-Workman, A. L., Andrews, L. P., Delgoffe, G. M., Yano, H., Beres, A. J., Vogel, P., Workman, C. J., & Vignali, D. A. A. (2016). Interleukin-35 limits anti-tumor immunity. *Immunity*, 44(2), 316. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.01.013>
- Vento-Tormo, R., Efremova, M., Botting, R. A., Turco, M. Y., Vento-Tormo, M., Meyer, K. B., Park, J. E., Stephenson, E., Polański, K., Goncalves, A., Gardner, L., Holmqvist, S., Henriksson, J., Zou, A., Sharkey, A. M., Millar, B., Innes, B., Wood, L., Wilbrey-Clark, A., ... Teichmann, S. A. (2018). Single-cell reconstruction of the early maternal–fetal interface in humans. *Nature*, 563(7731), 347. <https://doi.org/10.1038/S41586-018-0698-6>
- Vivier, E., Tomasello, E., Baratin, M., Walzer, T., & Ugolini, S. (2008). Functions of natural killer cells. In *Nature Immunology* (Vol. 9, Issue 5). <https://doi.org/10.1038/ni1582>
- Wagner, J. A., Wong, P., Schappe, T., Berrien-Elliott, M. M., Cubitt, C., Jaeger, N., Lee, M., Keppel, C. R., Marin, N. D., Foltz, J. A., Marsala, L., Neal, C. C., Sullivan, R. P., Schneider, S. E., Keppel, M. P., Saucier, N., Cooper, M. A., & Fehniger, T. A. (2020). Stage-Specific Requirement for Eomes in Mature NK Cell Homeostasis and Cytotoxicity. *Cell Reports*, 31(9). <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.107720>
- Wang, R. X., Yu, C. R., Dambuza, I. M., Mahdi, R. M., Dolinska, M. B., Sergeev, Y. V., Wingfield, P. T., Kim, S. H., & Egwuagu, C. E. (2014). Interleukin-35 Induces Regulatory B Cells that Suppress CNS Autoimmune Disease. *Nature Medicine*, 20(6), 633. <https://doi.org/10.1038/NM.3554>
- Wang, Z., Liu, J.-Q., Liu, Z., Shen, R., Zhang, G., Xu, J., Basu, S., Feng, Y., & Bai, X.-F. (2013). Tumor-derived IL-35 promotes tumor growth by enhancing myeloid cell accumulation and angiogenesis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 190(5), 2415. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202535>
- Wolf, N. K., Kissiov, D. U., & Raulet, D. H. (2022). Roles of natural killer cells in immunity to cancer, and applications to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology* 2022 23:2, 23(2), 90–105. <https://doi.org/10.1038/S41577-022-00732-1>
- Wong, P., Foltz, J. A., Chang, L., Neal, C. C., Yao, T., Cubitt, C. C., Tran, J., Kersting-Schadek, S., Palakurty, S., Jaeger, N., Russler-Germain, D. A., Marin, N. D., Gang, M., Wagner, J. A., Zhou, A. Y., Jacobs, M. T., Foster, M., Schappe, T., Marsala, L., ... Fehniger, T. A. (2023). T-BET and EOMES sustain mature human NK cell identity and antitumor function. *The Journal of Clinical Investigation*, 133(13). <https://doi.org/10.1172/JCI162530>
- Worthington, J. J., Kelly, A., Smedley, C., Bauché, D., Campbell, S., Marie, J. C., & Travis, M. A. (2015). Integrin  $\alpha\beta 8$ -Mediated TGF- $\beta$  Activation by Effector Regulatory T Cells Is Essential for Suppression of T-Cell-Mediated Inflammation. *Immunity*, 42(5), 903–915. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.04.012>
- Yang, Z., Mu, Z., Dabovic, B., Jurukovski, V., Yu, D., Sung, J., Xiong, X., & Munger, J. S. (2007). Absence of integrin-mediated TGF $\beta$ 1 activation in vivo recapitulates the phenotype of TGF $\beta$ 1-null mice. *The Journal of Cell Biology*, 176(6), 787. <https://doi.org/10.1083/JCB.200611044>
- Ye, C., Yano, H., Workman, C. J., & Vignali, D. A. A. (2021). Interleukin-35: Structure, Function and Its Impact on Immune-Related Diseases. *Journal of Interferon & Cytokine Research : The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 41(11), 391–406. <https://doi.org/10.1089/JIR.2021.0147>
- Zhang, J., Lin, Y., Li, C., Zhang, X., Cheng, L., Dai, L., Wang, Y., Wang, F., Shi, G., Li, Y., Yang, Q., Cui, X., Liu, Y., Wang, H., Zhang, S., Yang, Y., Xiang, R., Li, J., Yu, D., ... Deng, H. (2016). IL-35 Decelerates the Inflammatory Process by Regulating Inflammatory Cytokine Secretion and M1/M2 Macrophage Ratio in Psoriasis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 197(6), 2131–2144. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1600446>
- Zhao, Z., Chen, X., Hao, S., Jia, R., Wang, N., Chen, S., Li, M., Wang, C., & Mao, H. (2017). Increased interleukin-35 expression in tumor-infiltrating lymphocytes correlates with poor prognosis in patients with breast cancer. *Cytokine*, 89, 76–81. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2016.09.012>
- Zheng, Y., Chen, Z., Han, Y., Han, L., Zou, X., Zhou, B., Hu, R., Hao, J., Bai, S., Xiao, H., Li, W. V., Bueker, A., Ma, Y., Xie, G., Yang, J., Chen, S., Li, H., Cao, J., & Shen, L. (2020). Immune suppressive landscape in the human esophageal squamous cell carcinoma microenvironment. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-020-20019-0>
- Zhou, C., Zhang, J., Chen, Y., Wang, H., & Hou, J. (2017). Interleukin-35 as a predictor of prostate cancer in patients undergoing initial prostate biopsy. *Oncotargets and Therapy*, 10, 3485–3491. <https://doi.org/10.2147/OTT.S135873>
- Zhu, J., Wang, Y., Li, D., Zhang, H., Guo, Z., & Yang, X. (2020). Interleukin-35 promotes progression of prostate cancer and inhibits anti-tumour immunity. *Cancer Cell International*, 20(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12935-020-01583-3/FIGURES/6>
- Zou, J.-M., Qin, J., Li, Y.-C., Wang, Y., Li, D., Shu, Y., Luo, C., Wang, S.-S., Chi, G., Guo, F., Zhang, G.-M., Feng, Z.-H., Zou, J.-M., Qin, J., Li, Y.-C., Wang, Y., Li, D., Shu, Y., Luo, C., ... Feng, Z.-H. (2017). IL-35 induces N2 phenotype of neutrophils to promote tumor growth. *Oncotarget*, 8(20), 33501–33514. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.16819>

# DISCUSSION et PERSPECTIVES

Dans cette partie, je me concentrerai sur la discussion et la mise en perspective de mes deux projets de thèse, à savoir les articles 2 « [IL-33 activates NK cells in a context- and subset-dependent manner in health and tumors](#) » et 3 « [Interleukin-35 impairs human NK cell effector functions by inducing an ILC1-like conversion](#) » présentés ci-dessus.

Ainsi, les résultats obtenus lors de ma thèse participent à approfondir notre compréhension de la plasticité fonctionnelle des NK induite par des facteurs cytokiniques, aussi bien dans son versant positif que négatif via l'étude des effets médiés par l'IL-33 et l'IL-35, respectivement.

Premièrement, et en complément de rares descriptions de la littérature et de travaux précédents de mon laboratoire (cf Article 1) démontrant le rôle activateur de l'IL-33 sur les NK CD56<sup>Dim</sup> lorsque combinée à l'IL-12, nos résultats permettent d'élargir de façon importante notre compréhension des contextes de réponse des NK à l'IL-33, ainsi que les effets de cette dernière sur la biologie de ces lymphocytes. En effet, ces travaux nous ont permis d'identifier de nombreux acteurs cellulaires (i.e. cDC1, cDC2 activées par des agonistes de TLR3/7/8) et cytokiniques (i.e. IL-12, IL-15, IL-2, IL-21, TNF $\alpha$ , IFN $\alpha/\beta$ , IL-18, IL-33, IL-1 $\alpha/\beta$ , IL-35) régulant l'expression du récepteur ST2 à la surface des NK, et par conséquent leur sensibilité à l'IL-33, avec la mise en évidence de contextes menant à son expression préférentiellement au sein de sous-populations spécifiques (i.e. CD56<sup>Dim</sup>, CD56<sup>Bright</sup>) ou par la majorité des cellules. Ces observations nous ont ainsi permis de démontrer une activation et régulation fonctionnelle des NK par l'IL-33 quantitativement (amplitude de la réponse induite) et qualitativement (type de fonctions induites) différente selon le contexte et la sous-population considérée, avec des effets activateurs maximum en cas de combinaison avec l'IL-12 et l'IL-15. En effet, l'identification de cette condition d'activation optimale pour induire ST2, et activer les NK en présence d'IL-33, nous a ainsi permis de démontrer l'impact positif de l'IL-33 sur la prolifération et les fonctions effectrices des NK, aussi bien en contexte d'activation brève (24h) qu'à long terme. Par ailleurs, dans un modèle de tumeur mammaire chez la souris, nous avons observé que l'administration d'IL-33 seule ou en combinaison avec R848 (agoniste des TLR7/8) diminue la croissance tumorale et augmente la survie, via un mécanisme potentiellement dépendant des NK et tout du moins indépendant de l'immunité adaptative. Dans l'ensemble, ces résultats identifient l'IL-33 comme un activateur puissant des NK, et identifient la population NK ST2+ comme étant à fort potentiel thérapeutique en contexte de cancer.

En parallèle, nos résultats rapportent pour la première fois l'impact de l'IL-35 sur les NK primaires humaines, menant à leur polarisation fonctionnelle et phénotypique. En effet, l'IL-35 ne se limite pas à inhiber la prolifération, la production de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires et les capacités cytotoxiques des NK, mais leur permet également d'acquérir de manière concomitante des propriétés associées à la tolérance immunitaire et au processus d'angiogenèse (i.e. sécrétions de TGF $\beta$ , VEGF-A, CCL5). De façon cohérente, nos études phénotypiques et transcriptomiques réalisées à partir de NK exposées à l'IL-35 sur le long terme nous ont permis de mettre en évidence l'implication du processus de conversion des NK vers un profil ILC1-like, initié par l'IL-35 et médié par le TGF $\beta$  de façon autocrine. Nous avons ainsi pu mettre en évidence pour la première fois que ce processus de conversion survient aussi bien au sein des NK dites conventionnelles qu'adaptatives, avec la genèse, néanmoins, de populations ILC1-like hétérogènes. De ce fait, notre travail permet d'une part l'identification de l'IL-35 comme un nouveau régulateur négatif majeur des fonctions NK qui pourrait être impliqué dans la dysfonction de ces cellules observée lors de maladies inflammatoires chroniques, au sein desquelles la présence d'IL-35 a par ailleurs été démontrée, et d'autre part une meilleure compréhension du processus de conversion NK/ILC1-like.

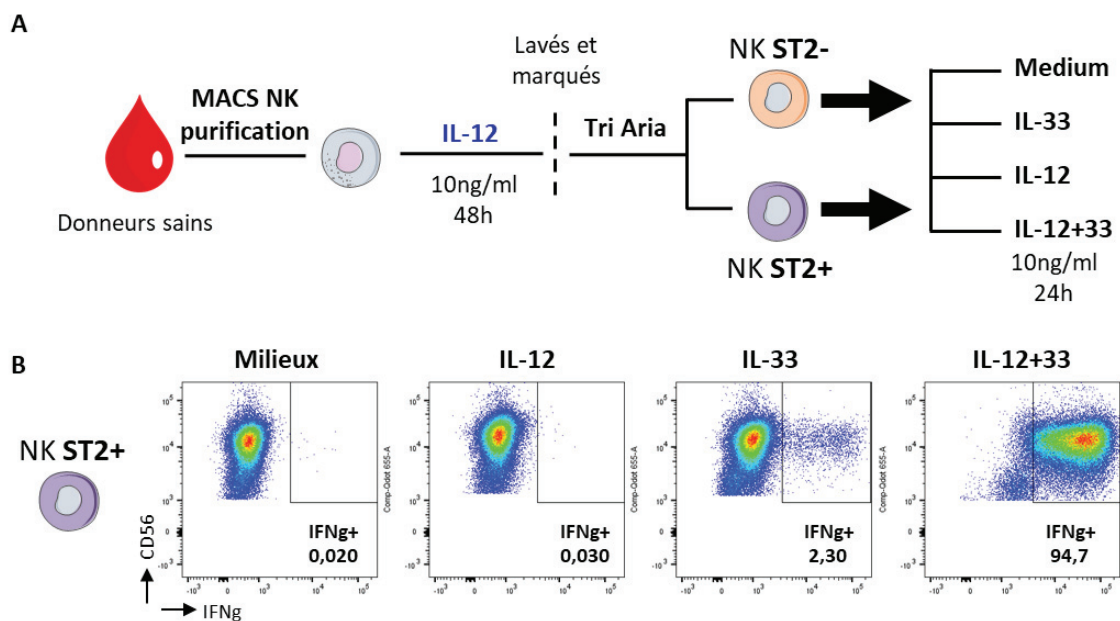
De façon intéressante, nos travaux présentent leurs limites biologiques et techniques et génèrent de nombreuses nouvelles questions. Dans cette partie, nous discuterons ainsi des résultats obtenus, de leurs portées, de la façon dont ils s’ancrent au sein de la littérature globale ou encore des perspectives qu’ils offrent.

# Partie 1 : L'IL-33, puissant activateur des fonctions anti-tumorales des NK

## I. L'expression induite et transitoire du récepteur ST2

Nos travaux, en accord avec la littérature, démontrent que les effets de l'IL-33 sur les NK sont absolument dépendants de ST2. En effet, de nombreuses évidences *in vitro* confirment qu'en l'absence de facteurs permettant l'induction de ST2, l'IL-33 n'a aucun effet sur le phénotype, les fonctions ou encore le profil transcriptionnel des NK humaines (cf Article 1, Article 2, (J. T. Clark et al., 2021; Ochayon et al., 2020)). En complément, le blocage spécifique de ST2 par un anticorps antagoniste se traduit par une perte des effets activateurs médiés par l'IL-33, y compris en présence d'IL-12 (cf Fig1.D Article 1, (Ochayon et al., 2020)).

Parallèlement, des expériences réalisées au début de ma thèse ont permis de montrer que la sensibilité des NK à l'IL-33 est transitoire et hautement dépendante de la présence des signaux induisant l'expression de ST2. En effet, le tri sur la base de l'expression de ST2 de NK préalablement exposées à de l'IL-12 nous a permis de démontrer une perte de réponse à l'IL-33 des NK ST2+, dès 24h après tri en cas d'absence d'IL-12 dans le milieu de culture (**figure complémentaire 1**).



**Figure complémentaire 1 : La sensibilité des NK humaines à l'IL-33 est transitoire et dépend de la présence de cytokines induisant ST2.**

**(A)** Schéma du protocole réalisé. **(B)** Analyse de l'expression d'IFN-g dans les cellules NK triées sur la base de l'expression membranaire de ST2 puis remises en culture en milieu ou en présence d'IL-12 (10ng/mL), d'IL-33 (10ng/mL) ou de leur combinaison. n=3 expériences

Ces résultats démontrent ainsi l'importance de comprendre l'ensemble des subtilités de la régulation de l'expression de ST2 afin de pouvoir étudier les rôles de l'IL-33 dans la biologie des NK.

## 1. Une longue liste de facteurs inducteurs inattendus

A l'initiation de ce projet, seule l'IL-12 avait été identifiée pour induire l'activation des NK en synergie avec l'IL-33 (Article 1, (Bourgeois et al., 2009; Smithgall et al., 2008)). Depuis, cette observation a été confirmée par d'autres groupes (J. T. Clark et al., 2021; Ochayon et al., 2020; Qi et al., 2020)) et complétée par l'identification de la capacité du TNF $\alpha$  à induire l'expression de ST2 dans les NK murines (Qi et al., 2020).

Ainsi, l'une des observations fondatrices ayant permis l'émergence des hypothèses de mes travaux de thèse, et de l'ensemble des expériences qui en découlent, réside dans l'identification de nombreux autres facteurs capables d'induire ST2 à la surface des NK. En effet, nous avons ainsi pu confirmer l'existence d'au moins trois cytokines, que je qualifierai de « leviers », capables d'induire l'expression de ce récepteur par elles-mêmes (i.e. les IL-12, IL-15 et IL-2), mais également d'entrer en synergie (i.e. combinaisons IL-12+IL-2 et IL-12+IL-15). En complément, nous avons également identifié 8 autres facteurs « accessoires », permettant de catalyser l'induction de ST2 médiée par l'IL-12 (i.e. IL-21, TNF $\alpha$ , IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IL-33, IL-18, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ).

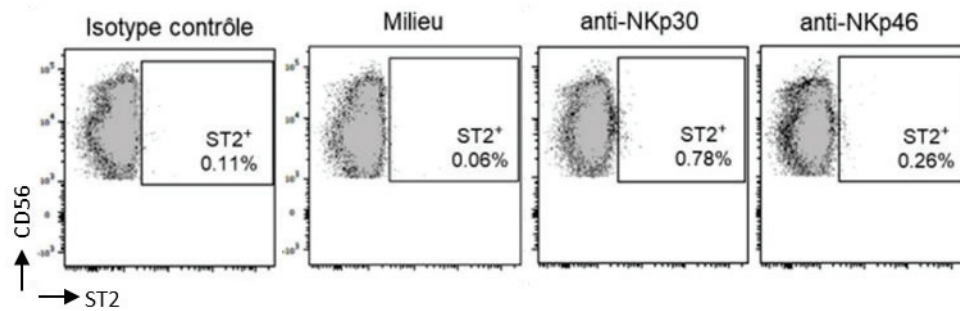
Ces observations, au-delà d'indiquer une divergence avec les observations réalisées dans le cas du TNF $\alpha$  qui semblerait agir en tant que « levier » chez la souris mais en tant que facteur « accessoire » chez l'homme, permettent d'envisager l'émergence (et donc une potentielle implication) des NK ST2+ dans un plus grand nombre de contextes physiopathologiques, y compris en l'absence d'IL-12. Néanmoins, et malgré notre volonté de réaliser une approche exhaustive de l'étude de la régulation de ST2 avec l'étude de 16 facteurs seuls, combinés deux à deux et trois à trois (données non présentées), il existe très probablement d'autres signaux impliqués dans ce processus. En effet et à titre d'exemple, il semble raisonnable d'envisager que l'IL-36 $\gamma$ , décrite pour activer les NK (Wang et al., 2015), puisse rejoindre les autres membres de la famille de l'IL-1 (i.e. IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 et IL-33) dans la catégorie des cytokines « accessoires ». A l'inverse, notre démarche volontairement orientée vers l'identification de facteurs régulant positivement l'expression de ST2 n'a permis d'identifier qu'un seul régulateur négatif de ce processus, l'IL-35. Bien que cette observation soit intéressante en tant que telle dans un contexte où les effets de cette cytokine sur les NK sont inconnus, et qu'elle permettra la genèse de mon deuxième projet de thèse (Article 3), il semble très probable que d'autres cytokines immunosuppressives connues pour inhiber les NK, telles que le TGF $\beta$  (Dutta et al., 2015; Li et al., 2009; Viel et al., 2016) ou l'IL-37 (Bufler et al., 2002; Sarhan et al., 2018), soient également des régulateurs négatifs de l'expression de ST2 dans les NK.

Par ailleurs, notre étude s'est exclusivement concentrée sur l'étude de facteurs cytokiniques, et malgré la mise en évidence d'une perte totale d'expression de ST2 en cas d'utilisation simultanée d'anticorps neutralisant les IL-12, IL-18, TNF $\alpha$  et les IFN-I lors du dialogue NK/DC induit par les agonistes de TLR (TLRago) poly(I:C)+R848, il n'est absolument pas exclu que d'autres signaux et/ou contextes participent à la régulation de ST2. En effet, d'autres signaux solubles (ex : Adénosine), interactions ligands/récepteurs, ou contextes (ex : déprivation de nutriments) pourraient tout aussi bien moduler l'expression de ST2 en tant que régulateurs « leviers », « accessoires » ou inhibiteurs. A titre de résultats préliminaires, nous avons pu observer que l'engagement seul de NKp30 et NKp46 n'a aucun impact sur l'expression de ST2 (**figure complémentaire 2**). Cela dit, nous pourrions poser l'hypothèse que l'engagement de NKG2D, dont les voies de signalisations présentent des liens avec celles induites par l'IL-15 (Horng et al., 2007; Meresse et al., 2004), puisse réguler positivement l'expression de ST2.

Néanmoins, il me semble important de noter que la mise en évidence de l'expression protéique de ST2 à la surface des NK est difficile et présente ses limites. En effet, malgré de nombreux efforts de mon équipe d'accueil dédiés à l'optimisation d'un protocole permettant la première observation de ce



récepteur à la surface des NK humaines au sein de la littérature (Article 1), certains de nos résultats rapportent une fréquence de NK activées (monitorée par la production d'IFN $\gamma$  et/ou l'acquisition de CD25) en réponse à l'IL-33 plus importante que la fréquence de NK ST2+ détectées. Il semblerait ainsi que la détection de cette protéine ne soit pas optimale et que la proportion de NK ST2+ soit très probablement sous-estimée.



**Figure complémentaire 2 : L'expression de ST2 n'est pas induite à la surface des NK lors de l'engagement de NKp30 ou NKp46 pendant 24h.**

Analyse de l'expression de ST2 à la surface des NK humaines activées pendant 24h en présence ou absence d'anticorps contrôle (1 $\mu$ g/mL), anti-NKp30 (1 $\mu$ g/mL) ou anti-NKp46 (1 $\mu$ g/mL).

## 2. Un nouvel aspect du crosstalk NK/cDC

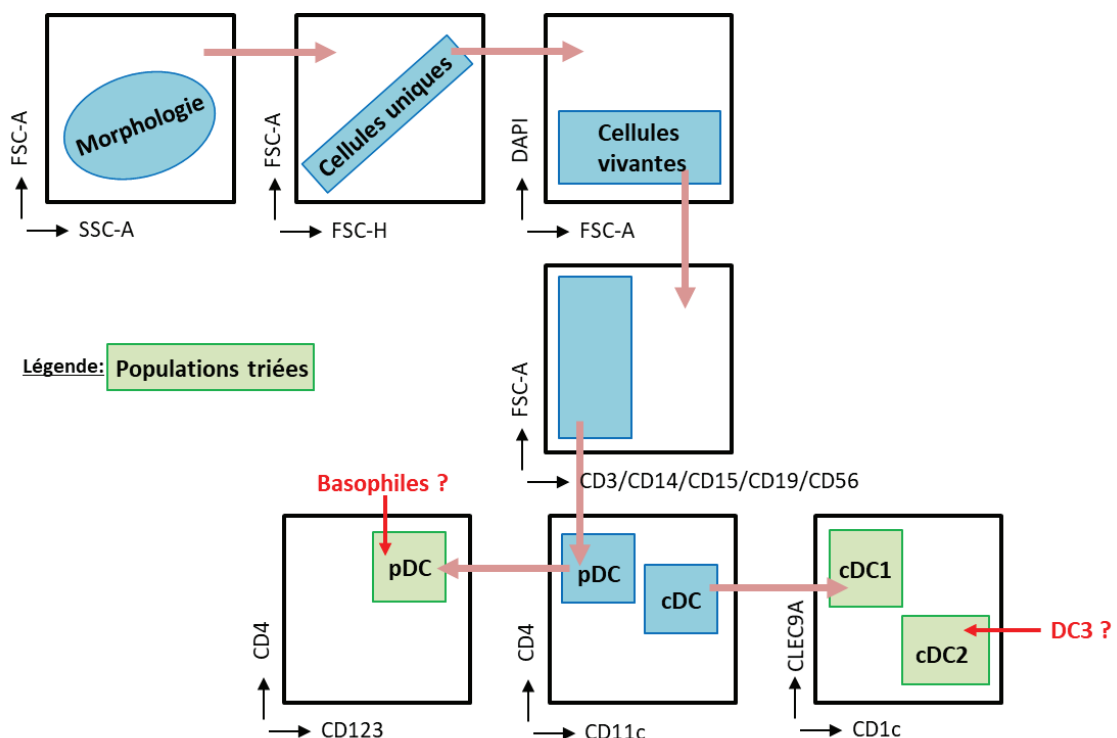
De façon intéressante, les signaux identifiés pour induire l'expression de ST2 (Article 2, Fig1) par les NK convergent vers une même source, à savoir les DC (Alexandre et al., 2016; Bourdely et al., 2020; Ferlazzo et al., 2004; Kvedaraite & Ginhoux, 2022; Lucas et al., 2007). Grâce à cette observation, nous avons ainsi pu mettre en évidence qu'en effet, l'émergence des NK ST2+ correspond à un nouvel aspect du dialogue bilatéral NK/DC déjà décrit à de nombreuses reprises comme étant essentiel aux fonctions d'immunosurveillance assurées par ces populations (Peterson & Barry, 2021; Thomas & Yang, 2016; Walzer et al., 2005). Nos résultats nous permettent ainsi de proposer un modèle selon lequel les NK ST2+ pourraient émerger en contextes physiopathologiques des suites d'interactions avec les cDC1 et cDC2 activées, sous les effets des cytokines IL-12, IL-18, TNF $\alpha$  et des IFN-I. Néanmoins, certaines nuances seront certainement à investiguer dans le futur afin de préciser ce modèle.

### 2.1. Précision des acteurs cellulaires impliqués dans l'émergence des NK ST2+

Bien que nos travaux démontrent l'importance des cDC1 et cDC2 dans l'émergence des NK ST2+, il est possible qu'elles ne soient pas les seuls acteurs impliqués dans ce processus. En effet, lors du design de nos expériences ayant pour objectif d'évaluer l'implication des différentes sous-populations de DC dans l'induction de ST2 à la surface des NK, les cDC1, cDC2 et pDC correspondaient aux trois grandes populations de DC circulantes classiquement étudiées. Depuis, l'identification récente des DC3 comme une quatrième population distincte de DC est intéressante dans le cadre de cette étude. En effet, les DC3 représentent une source d'IL-12, TNF $\alpha$  et IL-1 $\beta$  (Bourdely et al., 2020; Kvedaraite & Ginhoux, 2022), suggérant leur probable capacité à participer à l'induction de ST2 sur les NK. Au vu des marqueurs exprimés par les DC3 et de notre stratégie utilisée pour le tri par cytométrie en flux (Aria) des cDC1, cDC2 et pDC (Article 2 Fig 1.F, **figure complémentaire 3**), il semblerait que les DC3 aient été triées au sein de la population cDC2, avec laquelle elles partagent de nombreuses

similitudes phénotypiques. Néanmoins, si ces cellules s'avéraient être effectivement retrouvées au sein de cette population identifiée comme cDC2 (**figure complémentaire 3**), la proportion représentée par les DC3 ainsi que leur sensibilité aux stimulations par poly(I:C) et R848 sont à ce jour inconnues. Ainsi, il serait intéressant d'évaluer l'implication spécifique des DC3 dans l'induction de ST2 dans les NK. Pour ce faire, l'implémentation du marqueur CD163 pourrait permettre de les distinguer des cDC2 (Bourdely et al., 2020).

Parallèlement, le marqueur HLA-DR est classiquement utilisé pour permettre de distinguer les DC d'autres cellules immunitaires par cytométrie en flux. Néanmoins, des données de mon laboratoire d'accueil ont montré un effet délétère du marquage HLA-DR pour le tri de DC, rendant son utilisation incompatible avec des expériences impliquant la remise en culture des cellules triées. Face à cette contrainte, nous avons décidé de le remplacer par un marquage de la molécule de surface CD4, également exprimé par les DC (**figure complémentaire 3**). Bien que nécessaire, cette approche présente néanmoins l'inconvénient de ne pas exclure les basophiles qui pourraient ainsi, en accord avec leur phénotype, être présents au sein de la population triée identifiée comme pDC. Néanmoins, la rareté de ces cellules au sein des PBMCs 0-2% doublée de l'utilisation d'un kit de pré-enrichissement (EasySep™ Human Pan-DC Pre-Enrichment Kit, Stemcell) avant passage au trieur Aria III rend peu probable cette contamination. Afin de s'assurer de cela, des expériences complémentaires de phénotypage des cellules triées seront réalisées, avec l'utilisation des marqueurs HLA-DR et FcεRI permettant de distinguer les pDC et les basophiles (K. Chen et al., 2009).



**Figure complémentaire 3 : Schéma de la stratégie utilisée pour le tri par cytométrie en flux de sous-populations de DC issues de sang de donneurs sains.**

Après un pré-enrichissement en DC (EasySep™ Human Pan-DC Pre-Enrichment Kit, Stemcell), les différentes sous-populations CD11c-CD4+CD123+ (pDC), CD11c+CD4+CLEC9A+CD1c- (cDC1), CD11c+CD4+CLEC9A-CD1c+ (cDC2) indiquées en vert ont été triées par cytométrie en flux (Aria III) selon la stratégie exposée ci-dessus puis cocultivées avec des NK purifiées (NK Cell Isolation Kit, human, Miltenyi). La présence supposée des DC3 et basophiles est indiquée en rouge.

Par ailleurs, nos démonstrations identifiant les cDC comme étant les seules cellules responsables de l'induction des ST2, notamment via l'observation d'absence totale d'induction de ST2 à la surface des NK au sein de PBMC déplétées en DC, bien qu'étant robustes, peuvent elles aussi être nuancées. En effet, ces expériences sont réalisées en présence de stimuli classiquement utilisés pour activer les DC (i.e. agonistes de TLR3/7/8 et de TLR9 dans certains cas (données non présentées)) (Akazawa et al., 2007; Matsumoto et al., 2015; Mullins et al., 2019; Zemek et al., 2019). Néanmoins, il n'est pas impossible que les LB et/ou monocytes/macrophages, présentant le potentiel de sécréter des cytokines telles que l'IL-12 et l'IL-15 (Neely et al., 2004; Rölle et al., 2014; Sartori et al., 1997; Soudja et al., 2012), puissent être impliqués dans l'induction de ST2 dans les NK en cas de contextes où ces cellules seraient fortement activées. Ainsi, il serait d'intérêt de réaliser des expériences similaires en présence d'activateurs de BCR ou d'agonistes de TLR4 (LPS), par exemple (Förster-Waldl et al., 2005; Swanson et al., 2020).

Enfin, la capacité de sécrétion de l'IL-12 par les pDC représente une différence fonctionnelle majeure entre l'homme et la souris (D. Wu et al., 2016; Zucchini et al., 2008). En effet, contrairement aux pDC humaines, les pDC murines produisent de l'IL-12. Ainsi, l'implication des pDC dans l'induction de ST2 à la surface des NK murines est probable, et toute investigation réalisée chez la souris se devra de prendre en compte cette différence inter-espèce.

## 2.2. Rôle de l'IL-15 dans l'émergence des NK ST2+ *in vivo*

Comme évoqué précédemment, dans notre objectif d'identifier les acteurs impliqués dans l'induction de ST2 à la surface des NK, ce sont les cytokines identifiées, dont l'IL-15, qui nous ont permis d'orienter nos recherches et expériences vers les DC (Ferlazzo et al., 2004; Lucas et al., 2007; Mortier et al., 2008). De ce fait, l'absence d'effet du blocage de l'IL-15 au cours des cultures NK purifiées/DC purifiées sur l'expression de ST2 semble surprenante.

Nous avons évoqué la possibilité que notre protocole de blocage ne soit pas optimal. En effet, nous utilisons un anticorps neutralisant dont nous avons validé l'efficacité face à la forme soluble de l'IL-15 recombinante tandis que cette cytokine présente la particularité d'être trans-présentée (Dubois et al., 2002; Lucas et al., 2007; Mortier et al., 2008; Neely et al., 2004). Afin de répondre à cette contrainte, nous avons ainsi utilisé simultanément des anticorps orientés contre la cytokine, mais également contre l'ensemble des sous-unités du complexe ligand/récepteur (anti-IL-15R $\alpha$ , anti-IL-15R $\beta$ , anti- $\gamma$ ), et avons obtenu les mêmes résultats (données non présentées), suggérant donc que l'IL-15 n'est pas impliquée dans ce contexte.

Néanmoins, nos résultats démontrent largement d'une part que l'IL-15 est capable d'induire ST2 en tant que « levier », et d'autre part que son association avec l'IL-12 représente la condition expérimentale optimale pour induire ST2 dans les NK, et d'autre part à agir en synergie avec l'IL-33 pour activer les fonctions effectrices NK. Il est ainsi tout à fait envisageable que l'IL-15 participe à l'induction de NK ST2+ dans d'autres contextes que nous n'avons pas encore identifiés. En ce sens, il a pu être rapporté que les monocytes/macrophages correspondent à l'une des principales sources d'IL-15/IL-15R $\alpha$  (Dubois et al., 2002; Neely et al., 2004; Soudja et al., 2012), renforçant l'intérêt de réaliser des expériences de cocultures NK/monocytes activés comme exposé au sein du paragraphe précédent. Par ailleurs, d'autres cellules telles que les fibroblastes et kératinocytes sont également des sources potentielles d'IL-15 (X. Chen et al., 2019; R. A. Clark & Kupper, 2007; Miranda-Carús et al., 2004) et pourraient tout autant permettre l'induction de NK ST2+.

### 2.3. La mise en place d'un cercle vertueux ?

Le dialogue entre NK et DC est d'une importance majeure dans différents contextes pour la mise en place de réponses immunitaires efficaces (Peterson & Barry, 2021; Thomas & Yang, 2016; Walzer et al., 2005). Comme présenté dans l'introduction, ce dialogue bilatéral permet la mise en place de boucles de rétrocontrôles positifs mutuels et synergiques. De façon intéressante, nos données suggèrent que l'axe ST2/IL-33 pourrait participer à ce processus. En effet, nous avons démontré l'importance des cDC dans l'induction de ST2 à la surface des NK mais également mis en évidence un rôle de l'IL-33 dans l'induction de fortes sécrétions d'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , GM-CSF, XCL1 et Flt3L par les NK. De façon intéressante, ces facteurs sont décrits pour jouer un rôle important dans l'attraction, la maturation, l'activation, la survie et les fonctions des DC (Barry et al., 2018; Böttcher et al., 2018; Crozat et al., 2010; Goldszmid et al., 2012; Vitale et al., 2005; Walzer et al., 2005a), suggérant la mise en place d'interactions bilatérales. En complément, nous avons réalisé un profilage transcriptomique des différentes sous-populations de NK exposées à l'IL-33, en combinaison avec l'IL-12 ou l'IL-15, qui devrait pouvoir nous permettre de compléter l'étude des molécules connues pour participer au dialogue NK/DC induites par l'IL-33 (i.e. que TNFSF14, CD30, GITR pour ne citer qu'elles (Hanabuchi et al., 2006; Holmes et al., 2014; Simhadri et al., 2012)) (**figure complémentaire 5**). De plus, différentes études suggèrent des effets activateurs directs de l'IL-33 sur les DC, stimulant notamment leurs fonctions de sécrétions (Besnard et al., 2011; Dominguez et al., 2017; Qin et al., 2016; Xu et al., 2020). Lors de nos expériences de cocultures NK/DC, nous nous sommes spécifiquement intéressés à l'étude des NK, l'ensemble de ces résultats suggère ainsi qu'il serait intéressant d'évaluer la survie ainsi que les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des DC lors d'expériences similaires.

Ces données présentent ainsi un intérêt dans le cadre de contextes physiopathologiques tels que le cancer, dont nous discuterons dans un paragraphe dédié.

## II. Les effets positifs de l'IL-33 sont dépendants du contexte d'activation cytokinique et de la sous-population de NK

### 1. L'importance de la synergie IL-15/IL-33

Comme évoqué précédemment, la synergie entre l'IL-12 et l'IL-33, bien que peu décrite, a pu être rapportée par le passé (J. T. Clark et al., 2021; Ochayon et al., 2020; Qi et al., 2020)). Ainsi, l'un des aspects originaux de notre travail réside en l'observation et la description d'une synergie entre l'IL-15 et l'IL-33. Nous avons ainsi pu mettre en évidence le caractère « levier » de l'IL-15 via sa capacité à induire ST2 sur 10-15% des NK circulantes. Néanmoins, l'intérêt de cette synergie, en comparaison avec celle observée avec IL-12+IL-33, trouve tout son intérêt en sa capacité à activer préférentiellement les NK CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>+/-</sup> (identifiées comme Bright et Int au sein de l'article 2, cf Fig3.B, **figure complémentaire 4.B**). En effet, cette singularité (par opposition à l'IL-12) permet non seulement l'engagement d'une autre sous-population de NK pour renforcer certaines fonctions effectrices (ex : sécrétions de CCL3, CCL4, GM-CSF), mais également l'induction d'autres fonctions pour lesquelles les NK CD56<sup>Bright</sup> sont spécialisées (ex : production de XCL1).

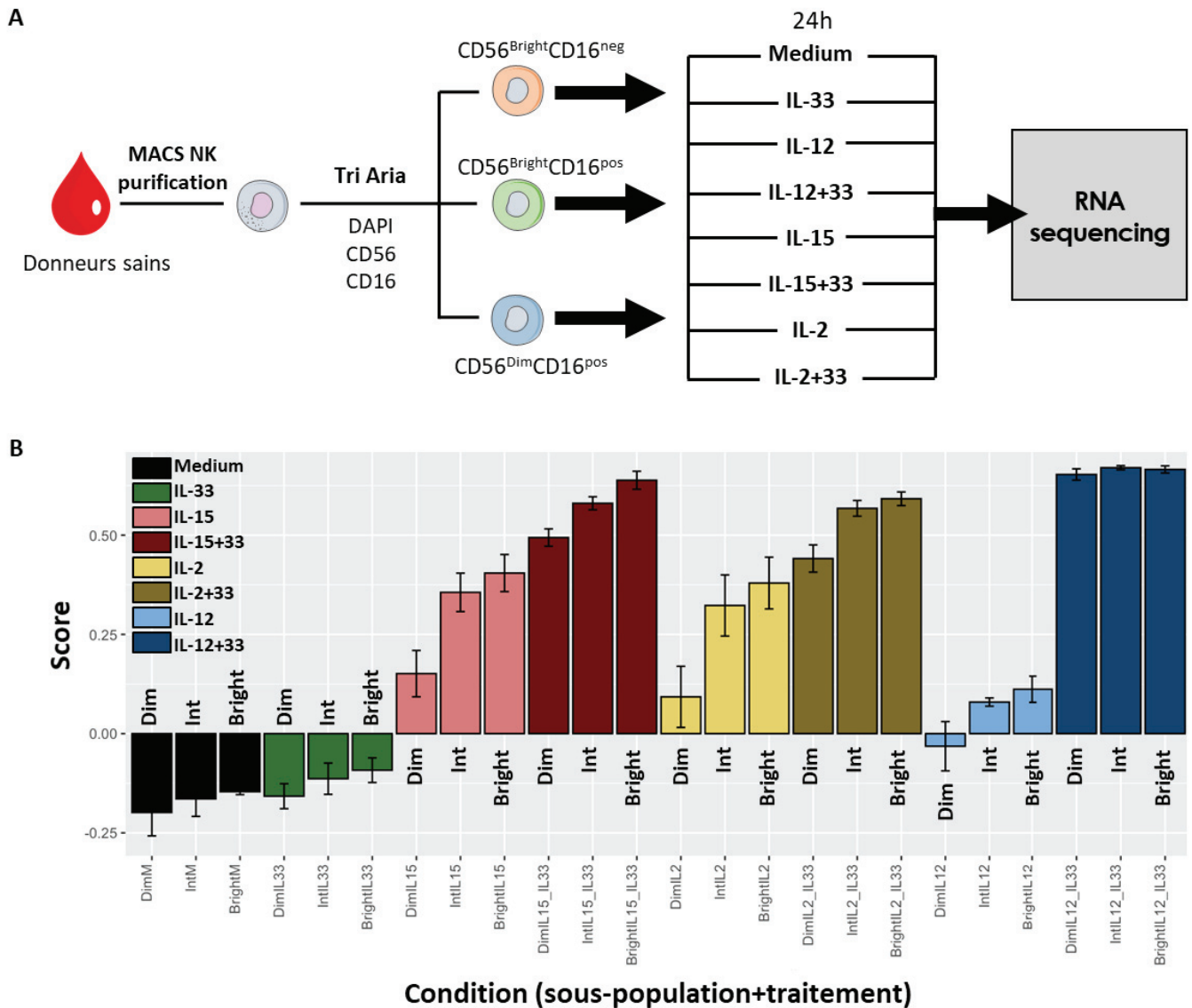
De plus, dans un souci de simplification de la caractérisation des effets de l'IL-33, notre approche s'est essentiellement portée sur l'étude des NK circulantes, composées à ~85-95% de CD56<sup>Dim</sup> et ~5-15% de CD56<sup>Bright</sup>. Néanmoins, il est connu que ces ratios sont hautement dépendants du tissu et du contexte (Dogra et al., 2020; Poli et al., 2009), avec, à titre d'exemple, une fréquence de CD56<sup>Bright</sup> significativement supérieure au sein des OLS, de l'endomètre ou des intestins (Dogra et al., 2020; Gamliel et al., 2018; Guo et al., 2021; Poli et al., 2009) suggérant une potentielle importance de ces signaux dans la surveillance immunitaire médiée par les NK au sein de ces tissus.

Enfin, l'IL-15 présente également l'intérêt majeur d'entrer en synergie avec l'IL-12 pour induire ST2 sur la majorité des NK, CD56<sup>Bright</sup> et CD56<sup>Dim</sup>. Ce cas de figure ainsi que l'intérêt de la combinaison IL-12+IL-15+IL-33 seront discutés dans un paragraphe dédié.

## *2. Caractérisation des spécificités d'action de l'IL-33 sur les populations de NK par approche transcriptomique*

En accord avec les effets décrits dans le précédent paragraphe, nos résultats démontrent des effets de l'IL-33 sur les NK qui semblent dépendants aussi bien de la sous-population considérée, (i.e. CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>neg</sup>, CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>pos</sup>, CD56<sup>Dim</sup>CD16<sup>pos</sup>), que du contexte permettant l'induction de ST2 (i.e. IL-12, IL-15 ou la combinaison des deux cytokines). En effet, nous avons pu décrire la production spécifique de XCL1 et d'IL-8 par les NK CD56<sup>Bright</sup> et de CCL5 par les NK CD56<sup>Dim</sup> en réponse à l'IL-33 indépendamment de la cytokine utilisée en combinaison, ou à l'inverse mettre en évidence des cytokines préférentiellement sécrétées en cas d'exposition à l'IL-12+IL-33 (ex : IFN $\gamma$ ), à l'IL-15+IL-33 (ex : XCL1, Flt3L, CCL4), ou en cas de stimulation maximale par la combinaison IL-12+IL-15+IL-33 (ex : CCL3, IL-8, **figure complémentaire 6**).

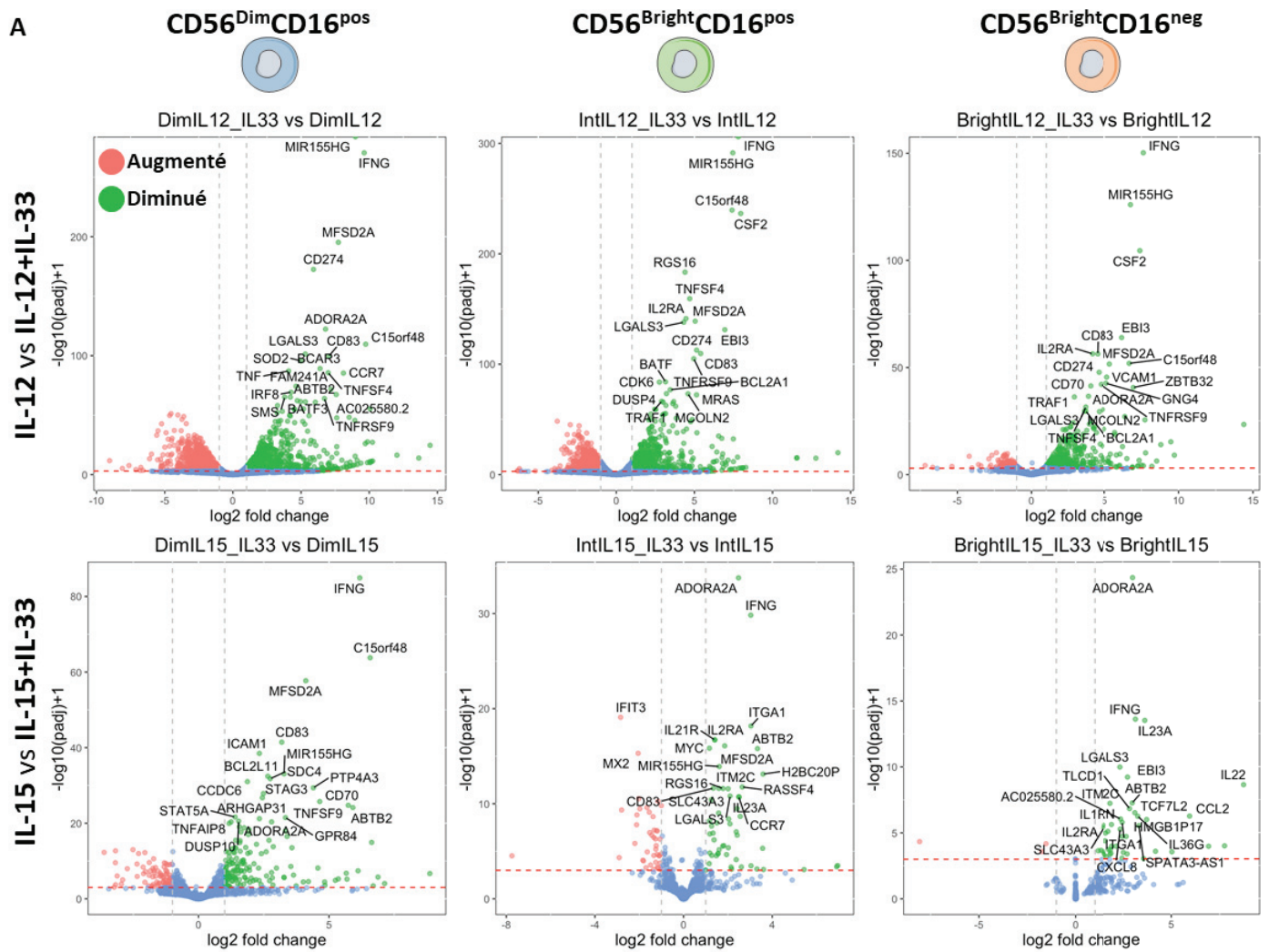
Face à ce constat, nous avons ainsi décidé d'entreprendre une approche de profilage transcriptomique par séquençage ARN (RNAseq) des différentes sous-populations de NK, triées par cytométrie en flux, exposées aux cytokines « leviers » (i.e. IL-12, IL-15, IL-2) seules ou combinées à l'IL-33, afin d'identifier et de caractériser à large échelle les similitudes et les différences induites par l'IL-33 dans ces différents contextes (traitements et populations NK) (**figure complémentaire 4.A**). Au cours de la mise en place de cette approche, nous nous sommes heurtés à différentes contraintes techniques et biologiques, la plus importante étant la mort de la quasi-totalité des NK CD56<sup>Dim</sup> au cours des 24h de culture post-tri. Néanmoins, après de nombreuses optimisations, nous avons réussi à obtenir un protocole efficace permettant d'obtenir des données de qualité qui sont désormais en cours d'analyses bio-informatiques. Bien que l'analyse de ces données nécessite encore du temps et des efforts, il nous est tout de même possible d'en tirer certaines informations préliminaires confortant l'ensemble de nos résultats biologiques. Premièrement, nous avons défini une signature d'activation des NK basée sur l'expression de 26 gènes connus pour être induits dans des NK activées (IFN $\gamma$ , IL2RA, TNF, CCL1, IL23A, IL1A, SLAMF1, CSF1, CSF2, TNFSF10, CXCL8, CD70, TNFRSF9, EBI3, CD83, VEGFA, CD274, TNFRSF8, IL6, IL26, LGALS3, VCAM1, TNFSF4, ZBTB32, MFSD2A, RGS16). L'utilisation de cette signature nous a permis de confirmer l'absence d'effet de l'IL-33 lorsqu'utilisée seule, mais également sa capacité à significativement augmenter l'activation des différentes sous-populations de NK lorsque combinée avec les cytokines « leviers », avec, comme attendu, un score plus important au sein des cellules CD56<sup>Bright</sup> que CD56<sup>Dim</sup> dans le cas de l'IL-15+IL-33 (**figure complémentaire 4.B**). Les premières analyses de ce vaste jeu de données nous ayant permis d'observer une superposition quasi-parfaite des conditions IL-15+IL-33 et IL-2+IL-33 (données non présentées), nous nous concentrerons donc sur la comparaison entre les traitements IL-12+IL-33 et IL-15+IL-33.



**Figure complémentaire 4 : Approche de profilage transcriptomique des différentes sous-populations de NK en réponse à l'IL-33, en présence ou absence de différentes cytokines « leviers ».**

RNAseq réalisé à partir de sous-populations NK ( $CD56^{\text{Bright}}CD16^{\text{neg}}$ ,  $CD56^{\text{Bright}}CD16^{\text{pos}}$ ,  $CD56^{\text{Dim}}CD16^{\text{pos}}$ , respectivement identifiées en tant que Bright, Int et Dim) triées par cytométrie en flux puis cultivées en milieu, ou en présence de l'IL-12, IL-12+IL-33, IL-15, IL-15+IL-33, IL-2, IL-2+IL-33. **(A)** Schéma du protocole expérimental utilisé. **(B)** Utilisation de la signature d'activation de NK à 26 gènes sur l'ensemble des conditions.

Par la suite, l'analyse des gènes différentiellement exprimés au sein de l'ensemble de ces conditions (**figure complémentaire 5.A**) nous permettra de comprendre plus en détail l'ensemble des effets de l'IL-33 dans chaque condition, mais également de créer différentes signatures basées sur des régulations communes de l'expression de gène entre différentes conditions : (i) Une signature constituée des gènes surexprimés par l'IL-33 au sein de l'ensemble des conditions, (ii) une signature de réponse à l'IL-33 spécifique à chaque sous-population NK indépendamment de la cytokine « levier » et, à l'inverse, (iii) une signature de réponse à l'IL-33 spécifique à chaque cytokine « levier », toutes populations NK confondues. En ce sens, et de façon très préliminaire, nous avons commencé à dresser certaines listes de gènes selon certains profils de régulation (**figure complémentaire 5.B**).



**B**

	Gènes induits par IL-33
<b>Spécifiquement</b> au sein des <b>CD56<sup>Dim</sup></b> , Tous traitements confondus	Pas encore identifié
<b>Spécifiquement</b> au sein des <b>CD56<sup>Bright</sup></b> , Tous traitements confondus	IL36G, CCL2, CXCL8, IL10, IL22
<b>Préférentiellement</b> au sein des <b>CD56<sup>Dim</sup></b> , Tous traitements confondus	IL2RA, CD83, TNFRSF9, EBI3, MFSD2A
<b>Préférentiellement</b> au sein des <b>CD56<sup>Bright</sup></b> , Tous traitements confondus	CCL1, CD70, IL23A, CXCL8, VCAM1
<b>Spécifiquement</b> par l' <b>IL-12+IL-33</b> (vs IL-12), Toutes populations confondus	CD30, IL26, IL6, CCR4
<b>Spécifiquement</b> par l' <b>IL-15+IL-33</b> (vs IL-15), Toutes populations confondus	IL36G, CCL2, IL1B, IL22
<b>Préférentiellement</b> par l' <b>IL-12+IL-33</b> (vs IL-12), Toutes populations confondus	IFNG, TNF, CD83, EBI3, CD274, TNFRSF8, IL6, IL26, LGALS3, VCAM1, IL15RA
<b>Préférentiellement</b> par l' <b>IL-15+IL-33</b> (vs IL-15), Toutes populations confondus	IL23A, CSF1, CXCL8, IL22
<b>Préférentiellement</b> au sein des <b>CD56<sup>Dim</sup></b> , Par l' <b>IL-12+IL-33</b> (vs IL-12)	IL1A, IFNG, IL26, SLAMF1, MFSD2A, TNFRSF9, EBI3, CD83, ZBTB32, CD274, LGALS3, TNFRSF8, ADORA2A, IL15RA
<b>Préférentiellement</b> au sein des <b>CD56<sup>Bright</sup></b> , Par l' <b>IL-15+IL-33</b> (vs IL-15)	IL1A, IL1B, IFNG, SLAMF1, ZBTB32, TNFRSF8, IL6, VCAM1, IL22, CCL2, TNFSF9

### Figure complémentaire 5 : Gènes différentiellement exprimés sous l'effet de l'IL-33 dans les différentes sous-populations de NK en présence d'IL-12 ou d'IL-15.

Analyses bioinformatiques des gènes différentiellement exprimés au sein des sous-populations NK triées (CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>neg</sup>, CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>pos</sup>, CD56<sup>Dim</sup>CD16<sup>pos</sup>, respectivement identifiées en tant que Bright, Int et Dim) et cultivées pendant 24h en présence d'IL-12 ou IL-15, avec ou sans IL-33. **(A)** Volcano plot représentant les gènes différentiellement exprimés entre la condition en présence de la cytokine levier (IL-12 ou IL-15 de haut en bas) seule et celle en présence d'IL-33, au sein des sous-population Dim, Int et Bright (de gauche à droite). **(B)** Mise en évidence préliminaire de gènes présentant des profils de régulation d'intérêt, précisés au sein de la première colonne.

Une fois correctement analysées, ces données seront utilisées pour trois objectifs principaux : (i) identifier des gènes d'intérêt, qui pourraient potentiellement permettre la genèse de nouvelles hypothèses et expériences fonctionnelles, (ii) réaliser des analyses d'enrichissement de voies biologiques au sein des différentes conditions (grâce à l'utilisation de la base de données MSigDB) et enfin (iii) tirer parti des différentes signatures évoquées précédemment pour les utiliser au sein de bases de données publiques pour évaluer (iii.a) la potentielle exposition des NK intratumoraux à l'IL-33 et (iii.b) leurs potentielles corrélations avec le pronostic de patients atteints de cancers. Concernant ce point (iii), nous avons cela dit conscience que les signatures générées pourraient en réalité refléter l'activation des NK, sans être absolument spécifiques à une activation par l'IL-33.

Ainsi, cette approche, en complément de nos expériences présentées au sein de l'article 2, devraient nous permettre de décrire pour la première fois en profondeur les effets de l'IL-33 selon le contexte et la sous-population de NK. Cette approche pourrait, dans le futur, être approfondie via l'utilisation de stratégies de tri cellulaire plus fines et subtiles incluant, à titre d'exemple, des marqueurs tels que CD62L, CD94, CD57 et NKG2C (Chan et al., 2007; Collins et al., 2019; Dulphy et al., 2008; Freud et al., 2006, 2016; Grzywacz et al., 2006; Juelke et al., 2010; Lopez-Vergès et al., 2010; Scoville et al., 2017; J. Yu et al., 2010).

Enfin, et bien que n'étant pas en lien direct avec le travail discuté au sein de cette partie, nous envisageons d'utiliser les données obtenues à partir de cette vaste analyse transcriptomique afin d'écrire un article ressource (futur article 4 potentiel en 1<sup>er</sup> auteur). En effet, il n'existe pas, à notre connaissance, d'atlas identifiant les différences transcriptomiques entre sous-populations NK humaines (i.e. Dim, Int, Bright) en réponse aux cytokines IL-12, IL-15, IL-2, IL-18, pourtant classiquement utilisées, ce à quoi notre travail pourrait permettre de remédier.

### 3. IL-12+IL-15+IL-33, une combinaison gagnante ?

De plus, notre travail aura également permis d'identifier que la combinaison IL-12+IL-15 est optimale pour induire ST2 sur la majorité des NK, toutes populations confondues, et par conséquent permettre une activation forte de ces cellules par l'IL-33. Cette découverte nous a permis d'évaluer l'intérêt de ces combinaisons cytokiniques dans trois contextes différents. En effet, nous avons ainsi pu évaluer (i) l'impact immédiat et (ii) à long-terme de cette stimulation sur le phénotype, la prolifération et les fonctions des NK (article 2, Fig.2-4), mais également (iii) mesurer l'impact d'exposition continue à l'IL-33 à la suite d'une pré-activation par IL-12+IL-15. De façon intéressante, nous avons ainsi pu mettre en évidence dans chacun de ces cas une augmentation significative des fonctions effectrices des NK.



### 3.1. Un nouvel inducteur de NK CIML (CIML-33)

Au cours de ces études, nous avons ainsi pu mettre en évidence qu'une stimulation courte (~24h) par IL-12+IL-15+IL-33 permet la différenciation de NK primaires en cellules présentant des caractéristiques adaptatives (NK CIML), à savoir un potentiel prolifératif et des fonctions effectrices augmentés sur le long terme en cas de réactivation (Berrien-Elliott et al., 2015; Tarannum & Romee, 2021; Terrén et al., 2022; Uppendahl et al., 2019). Cette observation entre en cohérence avec une précédente étude rapportant la capacité de l'IL-33 à induire des caractéristiques mémoires au sein d'ILC2 (Martinez-Gonzalez et al., 2016), et s'accompagne de nouvelles questions et opportunités.

Premièrement, les CIML sont classiquement obtenues suite à des stimulations courtes par IL-12+IL-15+IL-18 (CIML-18) (Berrien-Elliott et al., 2015; Tarannum & Romee, 2021; Terrén et al., 2022; Uppendahl et al., 2019). Ainsi, et malgré de nombreuses similitudes dans les signalisations induites par l'IL-18 et l'IL-33, il serait intéressant d'évaluer d'une part les éventuelles différences entre CIML-33 et CIML-18 et d'autre part le potentiel que pourrait représenter la combinaison IL-12+IL-15+IL-18+IL-33 dans une optique d'optimisation du protocole d'induction de CIML utilisé à ce jour. Par ailleurs, les démonstrations de l'émergence de NK CIML *in vivo* restent rares et ces cellules présentent des différences fonctionnelles avec les CIML-18 générées *in vitro* (Nabekura & Lanier, 2016; Rasid et al., 2019; Smith et al., 2020). Ainsi, l'identification de l'IL-33 comme un nouvel inducteur de CIML pourrait permettre d'augmenter le nombre de contextes physiopathologiques au sein desquels les CIML pourraient être recherchées.

Par ailleurs, il semble intéressant de mettre cette observation en parallèle avec la capacité des DC activées par TLRago à permettre à la majorité des NK de répondre de façon aigüe aux stimulations par l'IL-33 (Article 2, Fig2.A), avec des résultats similaires à ceux observés en cas de stimulation par IL-12+IL-15+IL-33. Ainsi, il semble raisonnable d'envisager que les NK issues de cocultures avec les DC, en présence de TLRago et d'IL-33, puissent présenter des caractéristiques CIML et que les DC seraient impliquées dans la génération de CIML en contexte physiopathologique *in vivo*.

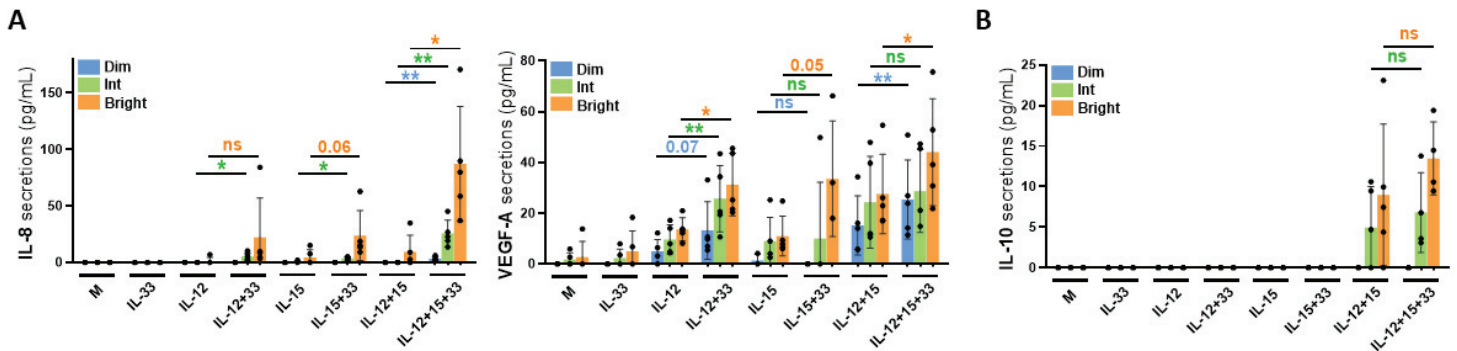
La description des CIML-33 ainsi que les hypothèses qui en découlent sont ainsi d'intérêt d'une part dans le cadre de nos expériences réalisées *in vivo* et d'autre part d'un point de vue thérapeutique plus général, dans la mesure où le transfert adoptif de CIML-18 présente des résultats anti-cancéreux prometteurs (Berrien-Elliott et al., 2020; Boieri et al., 2017; Bonanni et al., 2019; Romee et al., 2016; Shapiro et al., 2022; Uppendahl et al., 2019; Zhuang et al., 2019) ; ces points seront discutés par la suite.

### 3.2. De possibles effets délétères ?

Parallèlement, un nombre grandissant d'évidences soulignent que les activations aigües ou chroniques des lymphocytes peuvent générer des effets opposés à ceux recherchés, à savoir la mort (activation-induced cell death, AICD) (Ross & Caligiuri, 1997) ou l'exhaustion, voire la mort, des cellules concernées ou encore induire la mise en place de freins permettant de limiter les processus inflammatoires (Bou-Tayeh et al., 2021; Elpek et al., 2010; Felices et al., 2018).

De façon intéressante, nos expériences fonctionnelles mettent en évidence que l'utilisation de l'IL-33 dans le cadre d'activation aigüe (IL-12+IL-15+IL-33) ou d'exposition chronique (pré-activation de 24h avec IL-12+IL-15 puis exposition >7jours à l'IL-33) induisent au contraire une augmentation de la prolifération et des fonctions effectrices des NK (Article 2, Fig.4-5). Néanmoins, certains éléments complémentaires sont à prendre en considération. Premièrement, nous avons mis en évidence que l'activation des NK par IL-12+IL-15+IL-33 conduit à la sécrétion d'IL-6 (Article 2, Fig3.D), IL-8 et VEGF-A

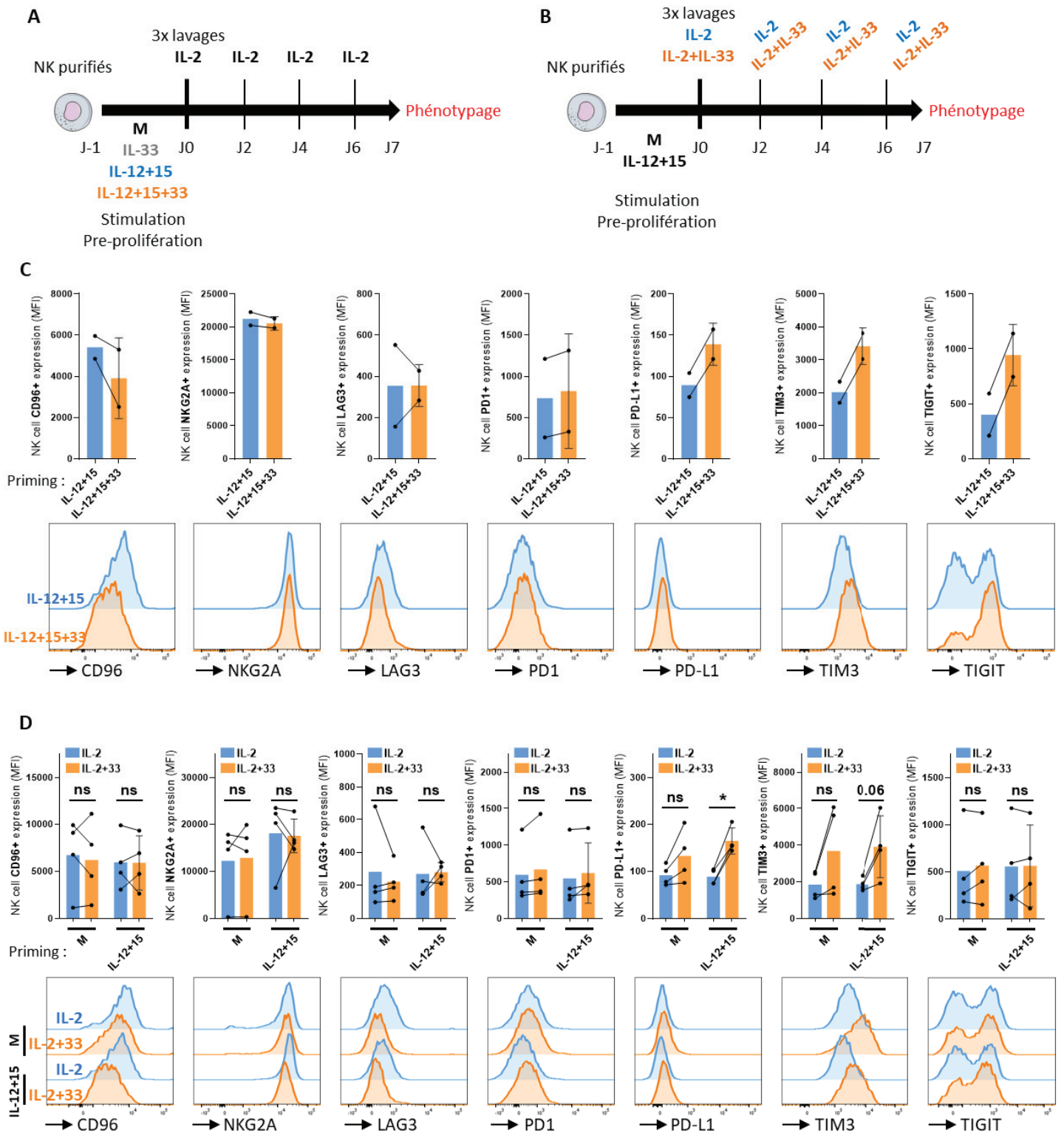
(figure complémentaire 6.A), décrites pour être associées à des fonctions immunosuppressives, pro-angiogéniques et pro-tumorales (Schmitt et al., 2022; J. Wu et al., 2019; Zheng, Li, et al., 2020). En parallèle, nos dosages d'IL-10 révèlent des sécrétions faibles et similaires entre les conditions IL-12+IL-15 et IL-12+IL-15+IL-33 (figure complémentaire 6.B).



**Figure complémentaire 6 : Les NK stimulées par la combinaison IL-12+IL-15+IL-33 sécrètent de l'IL-8, du VEGF-A et de l'IL-10.**

Dosage par immunoassay (Meso Scale Discovery) de (A) l'IL-8, VEGF-A et (B) IL-10 dans des surnageants de sous-populations de NK cultivées en milieu (M), ou en présence d'IL-12, IL-12+IL-33, IL-15, IL-15+IL-33, IL-2, IL-2+IL-33 pendant 24h.

Par ailleurs, bien que le concept d'exhaustion importé de la biologie des LT, reste encore flou et sujet à débat dans le cadre des NK, nous avons souhaité évaluer l'impact de stimulations par l'IL-33 sur l'expression de récepteurs inhibiteurs classiquement associés à cet état (i.e. CD96, NKG2A, LAG3, PD1, PD-L1, TIM3, TIGIT) (Anderson et al., 2016; Sun et al., 2019; Zhang et al., 2018). En effet, bien que nos expériences fonctionnelles démontrent une augmentation de l'ensemble des fonctions effectrices des NK exposées à l'IL-33 dans le cadre d'activations aiguës (CIML-33 Article 2, Fig4) ou chroniques (présence d'IL-33 au sein du milieu de culture pendant 7j, Article 2, Fig5), l'expression de tels récepteurs pourrait être d'intérêt au sein d'environnements où leurs ligands sont exprimés, comme les tumeurs par exemple. Ainsi, nous avons analysé le phénotype des NK à l'issue des 7 jours de prolifération au cours de ces deux types de protocoles (figure complémentaire 7.A-B). Nos résultats préliminaires, qui nécessitent d'être confirmés par des expériences supplémentaires, semblent indiquer une absence d'effets de l'IL-33 dans l'expression de CD96, NKG2A, LAG3, PD-1 (figure complémentaire 7.C-D). A l'inverse, nous observons une tendance vers l'augmentation de l'expression de PD-L1, TIM3 dans ces deux types d'expériences ainsi que de TIGIT au sein des CIML-33. Néanmoins, les observations concernant PD-L1 restent à nuancer dans la mesure où son expression à la surface des NK est quasi-nulle dans ces conditions. Ces résultats préliminaires pris dans leur ensemble ne semblent donc pas indiquer l'induction d'un profil « exhausté » au sein des NK exposées à l'IL-33, aussi bien lors d'activations aiguës que chroniques, mais seront néanmoins à prendre en considération dans le cadre d'expériences *in vivo*, et pourraient notamment servir de rationnel à l'utilisation d'anticorps antagonistes de TIM3 et TIGIT (Da Silva et al., 2014; Xu et al., 2015; Zhang et al., 2018) lors de transferts adoptifs de NK exposées à l'IL-33.



**Figure complémentaire 7 : l'IL-33 ne semble pas induire l'exhaustion des NK.**

Etude par FACS de l'expression des récepteurs inhibiteurs CD96, NKG2A, LAG3, PD1, PD-L1, TIM3 et TIGIT par les NK stimulées de façon aiguë (A, C) ou chronique (B, D) par l'IL-33. (A-B) Schémas des protocoles expérimentaux (C) Résultats FACS obtenus dans le cadre d'activations aiguës. (D) Résultats FACS obtenus dans le cadre d'activations chroniques.

### III. L'IL-33, acteur important de l'immunité anti-tumorale ?

#### 1. Rôles de l'IL-33 exogène *in vivo*

L'ensemble de nos expériences réalisées à partir de cellules humaines nous ont ainsi permis de générer un rationnel fort à l'utilisation de l'IL-33 en tant qu'agent thérapeutique au sein de modèles précliniques de cancer.

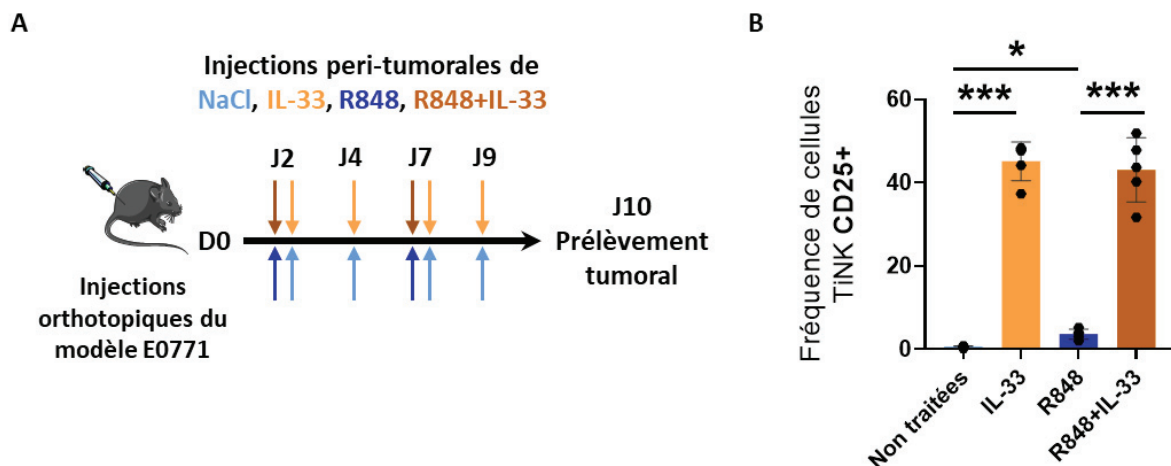
Pour ce faire, nous avons tiré profit du modèle tumoral mammaire E0771 pour lequel nous avons validé le rôle prépondérant des NK dans le contrôle de la croissance tumorale (données non présentées, (Stellas et al., 2023)). Expérimentalement, nous avons implanté les cellules tumorales par voie orthotopique, afin d'obtenir un modèle de tumeur primaire plus proche de la physiopathologie humaine, et avons opté pour une injection peri-tumorale des traitements, afin d'une part d'évaluer l'effet local, dans la tumeur, de l'administration d'IL-33 et d'autre part de s'accorder avec certains protocoles proposés en clinique pour l'injection d'agonistes de TLR (Marabelle et al., 2014). Ainsi, nos approches *in vivo* mettent en évidence un potentiel thérapeutique fort de l'IL-33, seule ou combinée à l'IL-12 (Article 1) ou à R848 (Article 2), et entrent en cohérence avec la démonstration récente d'effets anti-tumoraux de l'axe IL-33/NK au sein du modèle 4T1 (Qi et al., 2020). Il est cela dit important de noter que ces résultats entrent également en contradiction avec d'autres études rapportant un rôle pro-tumoral de l'IL-33. Néanmoins, les nombreuses différences dans le choix du fond génétique de l'hôte, du modèle tumoral utilisé, du mode d'injection des cellules tumorales et de l'IL-33 elle-même (injection systémique ou locale) ou encore du schéma thérapeutique utilisé sont autant de paramètres qui peuvent participer à ces divergences.

Bien que l'utilisation de souris *Rag2*-KO nous ait permis de démontrer que les effets thérapeutiques de l'IL-33 impliquent des mécanismes indépendants des LT et LB, les résultats présentés dans l'article 2 présentent la limite importante de ne pas démontrer formellement l'implication directe des NK dans les réponses anti-tumorales observées *in vivo* (Article 2, Fig6.D-H). Pour combler ce manque, différentes approches seront réalisées à court-terme. Premièrement, nous souhaitons évaluer le potentiel thérapeutique de l'IL-33, seule ou en combinaison avec R848, dans des souris *Rag2*-KO injectées avec des anticorps anti-NK1.1 permettant la déplétion spécifique des cellules NK et ILC1. Si notre hypothèse selon laquelle les effets anti-tumoraux de l'IL-33 sont médiés, au moins en partie, par les NK, nous devrions constater une perte des effets anti-tumoraux de l'IL-33 dans les souris déplétées en NK/ILC1 par rapport aux souris injectées avec un isotype contrôle. Cette approche, bien qu'intéressante et facile à mettre en place, présente néanmoins la limite de ne pas montrer le rôle de l'axe ST2/IL-33 dans les NK spécifiquement. Face à ce constat, nous avons ainsi entrepris de générer des souris *Il1rl1<sup>fl/fl</sup>Ncr1<sup>Cre</sup>* (via le croisement de souris fournies par les laboratoires de Giorgio Trinchieri (NIH, USA) et Eric Vivier (CIML, France)), présentant une déficience d'expression de ST2 sélectivement dans les cellules NK et ILC1, et au sein desquelles nous réaliserons le même type d'expériences. L'utilisation de ce modèle correspond, à notre connaissance, à l'approche la plus robuste et fiable pour démontrer le rôle joué de l'axe NK/ST2/IL-33 dans la mesure où il n'existe pas à l'heure actuelle de modèles permettant la déplétion/modification génétique des NK spécifiquement sans impacter les ILC1.

De plus, il serait particulièrement intéressant de compléter ces expériences par l'étude de l'infiltrat immunitaire des tumeurs traitées ou non par l'IL-33. En ce sens, et de façon préliminaire, nous avons pu observer une augmentation importante de l'expression de CD25 par les NK murines infiltrant les tumeurs traitées par l'IL-33 exogène (**figure complémentaire 8**). Pour aller plus loin dans cette démarche, mon équipe a développé un protocole de marquage de cytométrie spectrale (Aurora)

permettant la caractérisation phénotypique et fonctionnelle des NK (i.e. CD25, CD107a, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) et DC murines (i.e. CD86, PDL1, IL-12, TNF $\alpha$ , IFN-I, IFN-III).

Pour terminer, il serait d'intérêt de reproduire ces différentes expériences au sein d'autres modèles tumoraux (ex : B16, MC38, 4T1) afin de renforcer l'importance de nos observations.



**Figure complémentaire 8 : L'injection d'IL-33 exogène au sein de tumeurs E0771 induit l'expression de CD25 à la surface des NK intratumorales (TiNK).**

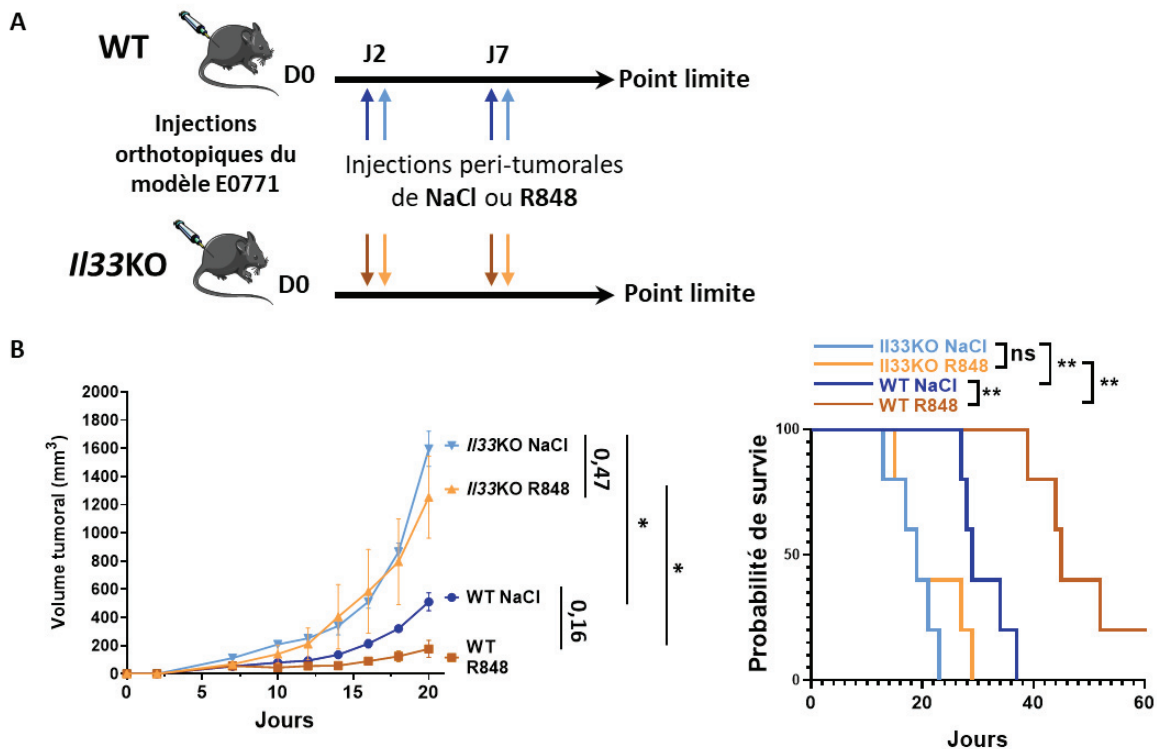
Etude de l'expression de CD25 à la surface de NK intratumorales (TiNK) dans le modèle tumoral mammaire E0771 lors de traitements péri-tumoraux par NaCl, IL-33 seule, R848 seul, IL-33+R848. **(A)** Schéma du protocole expérimental. **(B)** Fréquences de TiNK CD25<sup>+</sup> observées par FACS à J10.

## 2. Importance de l'IL-33 endogène dans l'immunosurveillance médiée par les NK ?

Différentes études rapportent une diminution de l'expression d'IL-33 au cours de la progression tumorale (Article 1 et (Akimoto et al., 2016; Cui et al., 2015; M. S. Kim et al., 2015; Mertz et al., 2015; O'Donnell et al., 2015; Saranchova et al., 2016; L. Wang et al., 2014; Z. Wang et al., 2023; Yang et al., 2016)), ainsi qu'une croissance tumorale plus importante dans des modèles de souris déficientes en IL-33 ou en ST2, suggérant l'importance de l'IL-33 endogène dans l'immunosurveillance naturelle des cancers (Malik et al., 2016; Moral et al., 2020). Ainsi, en accord avec l'ensemble de nos résultats, nous posons l'hypothèse que l'IL-33 endogène pourrait être impliquée dans l'activation et l'immunosurveillance naturelle médiée par les NK en contexte de développement tumoral. Nous avons accumulé à ce jour quelques données préliminaires pour vérifier cette hypothèse.

Tout d'abord, une première expérience utilisant l'implantation orthotopique de cellules tumorales mammaires E0771 dans des souris WT ou déficientes pour le gène IL-33 (*Il33*KO) (obtenues de JP Girard, IPBS Toulouse) a révélé une croissance tumorale et une mortalité accélérées dans les souris *Il33*KO en comparaison aux souris WT, en accord avec les études citées précédemment (**figure complémentaire 9**). De plus et de façon intéressante, nous avons également observé une perte des effets thérapeutiques de R848 au sein des souris *Il33*KO, ce qui n'est pas sans rappeler les observations réalisées lors d'études démontrant une perte d'efficacité d'ICB au sein de souris présentant cette même déficience (Blomberg et al., 2023; L. Chen et al., 2020; H. He et al., 2021; Moral et al., 2020; Qin, Dominguez, Chen, Fan, Long, Zhang, Fang, Zhang, Kuzel, & Zhang, 2016). Bien que cette expérience

n'ait été réalisée qu'une seule fois et mérite donc d'être considérée avec prudence, ces observations, pourraient suggérer un rôle majeur de l'IL-33 dans l'immunosurveillance des tumeurs mammaires. Néanmoins, ces observations se heurtent aux mêmes limites que celles présentées dans le paragraphe précédent, à savoir une absence de démonstration formelle de l'implication de l'axe NK/ST2/IL-33 dans l'effet observé. Ainsi, ici encore le modèle murin *Il1rl1<sup>fl/fl</sup>Ncr1<sup>Cre</sup>* ainsi que le protocole permettant l'étude phénotypique et fonctionnelle des NK/DC infiltrantes par cytométrie en flux spectrale représentent des outils intéressants pour combler ces manques.

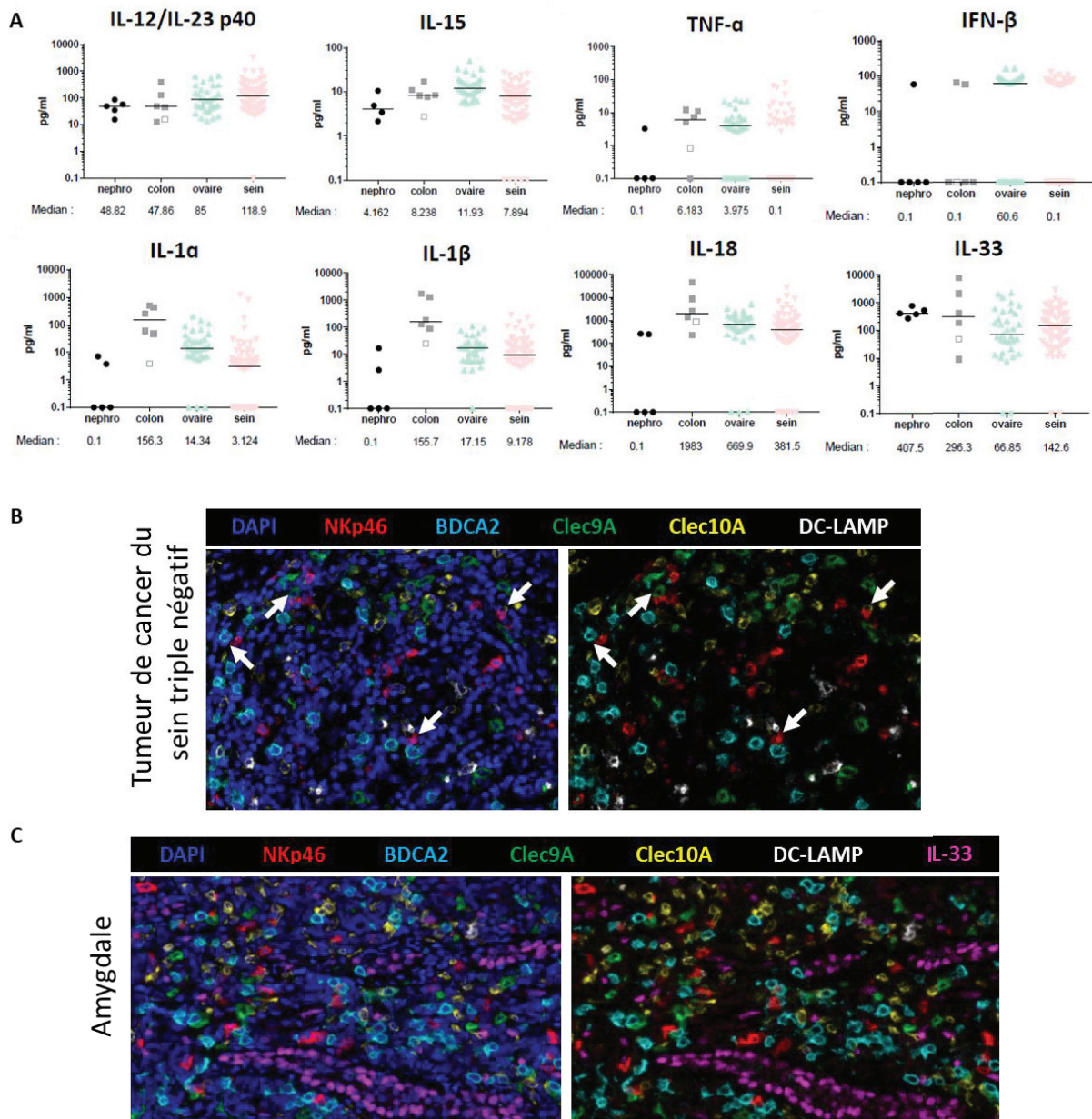


**Figure complémentaire 9 : L'IL-33 endogène semble être impliquée dans l'immunosurveillance tumorale et être nécessaire aux effets thérapeutiques de R848.**

Etude préliminaire du rôle de l'IL-33 endogène dans la croissance tumorale et les effets thérapeutiques de R848 injecté de façon peri-tumorale, au sein du modèle E0771. **(A)** Schéma du protocole expérimental. **(B)** Mesure du volume tumoral et **(C)** suivi de la survie des souris au cours du temps.

Par ailleurs, nous évaluons actuellement la présence des différentes cytokines que nous avons montré capables d'induire ST2 à la surface des NK au sein de tumeurs humaines. Pour cela, nous avons décidé d'utiliser deux approches complémentaires. Premièrement, l'étude de surnageants tumoraux obtenus après dilacération mécanique de tumeurs fraîches du sein, de l'ovaire, du colon et de néphroblastomes nous a permis de démontrer la présence des cytokines IL-12 (p40), IL-15, TNF- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18 et d'IL-33 au sein de ces tumeurs (**figure complémentaire 10.A**). Néanmoins, cette donnée ne donne pas d'information spatiale quant à la localisation de ces différentes cytokines, qui pourraient ne pas être produites dans les mêmes zones ni être en contact avec des NK *in situ*. Ainsi, nous avons initié le développement d'un protocole de marquage d'immunofluorescence multispectrale (7 couleurs) afin d'évaluer les colocalisations entre cDC1 (Clec9A), cDC2 (Clec10A), pDC (BDCA2), DC matures (DC-LAMP) (sources des cytokines inductrices de ST2), NK (NKp46) et IL-33. A ce jour, le protocole est validé pour les DC et les NK mais pas pour l'IL-33. Ainsi, nous avons pu démontrer la colocalisation entre NK et l'ensemble des sous-populations DC à partir de coupes de tumeur de cancer du sein triple négatif

(figure complémentaire 10.B). Le protocole est en cours d'optimisation afin d'y ajouter l'IL-33 et des résultats prometteurs ont été obtenus à partir de coupes d'amygdales (figure complémentaire 10.C). A terme, cet outil pourrait être utilisé pour évaluer les corrélations entre les données cliniques des patients (survie, réponses aux traitements) et la présence/localisation de ces différents marqueurs.



**Figure complémentaire 10 : Les acteurs cellulaires et moléculaires impliqués dans l'axe NK/ST2/IL-33 sont présents au sein de tumeurs humaines.**

Etude de la présence et de la localisation des acteurs cellulaires (cDC1, cDC2, DC matures, pDC, NK) et moléculaires (IL-12, IL-15, TNF $\alpha$ , IFN $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33) au sein de tumeurs humaines. **(A)** Dosage par immunoassay (Meso Scale discovery) de l'IL-12, IL-15, TNF $\alpha$ , IFN $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33 dans des surnageants issus de dilacération mécanique de tumeurs fraîches. **(B)** Panel d'immunofluorescence 6 couleurs permettant d'identifier les noyaux (DAPI), cDC1 (Clec9A), cDC2 (Clec10A), DC matures (DC-LAMP), pDC (BDCA2), NK (NKp46) à partir de coupe FFPE de tumeur de cancer du sein triple négatif. Les colocalisations entre NK et DC sont mises en évidence par des flèches blanches. Gauche : avec DAPI, Droite : sans DAPI. **(C)** Optimisation du protocole de marquage 7-couleurs intégrant l'IL-33 sur coupe FFPE d'amygdale. Gauche : avec DAPI, Droite : sans DAPI.

### 3. NK ST2+ et IL-33, nouvelle approche thérapeutique ?

Bien que représentant une perspective aussi optimiste qu'à très long terme, il me semble intéressant d'évoquer le fait que notre travail participe à la mise en place d'un rationnel pour l'utilisation de l'IL-33 dans différentes stratégies thérapeutiques anti-cancéreuses.

Premièrement, l'utilisation de l'IL-33 en tant que telle ne semble pas envisageable au vu de ses effets pléiotropes et de la compréhension encore limitée des mécanismes permettant d'orienter ses effets vers une réponse plutôt anti- que pro-tumorale. Néanmoins, il semblerait envisageable d'utiliser cette cytokine au sein de protéines fusions (ex : anticorps à spécificités multiples) afin d'assurer son adressage aux cellules d'intérêt, telles que les NK (via des constructions du type NKp46/IL-33 ou encore NKp46/IL-33/Cytokine Levier). Toujours dans une démarche de restreindre l'action de l'IL-33 aux cellules d'intérêt, la description récente de cellules LT/CAR-T modifiées génétiquement pour exprimer le couple de cytokine IL-2/IL-33 et présentant des propriétés anti-tumorales augmentées (Brog et al., 2022), couplée à nos observations, suggère un intérêt pour l'évaluation de CAR-NK avec les mêmes modifications génétiques.

Par ailleurs, la description originale des effets de l'IL-33 lors d'activation aigüe (genèse de CIML-33) ou chronique, ouvrent toutes deux des opportunités dans l'utilisation d'IL-33 lors de protocoles *ex vivo* d'activation et/ou d'expansion cellulaire. En effet, l'impact positif de l'IL-33 sur la prolifération des NK, tout en stimulant leurs fonctions effectrices permet de proposer que ces cellules pourraient assurer des fonctions anti-tumorales efficaces en cas de transferts adoptifs en thérapie cellulaire.

Enfin, de façon cohérente avec l'évolution des stratégies thérapeutiques ces dernières années, il semblerait intéressant d'utiliser les différentes stratégies évoquées ci-dessus en combinaison avec d'autres approches, comme les ICB par exemple (Blomberg et al., 2023; L. Chen et al., 2020; H. He et al., 2021; Moral et al., 2020; Qin, Dominguez, Chen, Fan, Long, Zhang, Fang, Zhang, Kuzel, & Zhang, 2016).



## Partie 2 : Identification de l'IL-35 comme un nouvel inhibiteur des NK humaines

### I. Une première description cohérente avec la littérature

La découverte relativement récente de l'IL-35 s'accompagne d'une compréhension encore partielle de ses effets biologiques, comme l'illustre l'absence de données sur les NK humaines primaires. Ce manque de connaissance nous a grandement motivé à initier le travail présenté dans l'Article 3. L'ensemble des effets que nous décrivons dans cet article, à savoir l'inhibition des NK au niveau de (i) leur production de cytokines pro-inflammatoires, (ii) leurs fonctions cytotoxiques, (iii) leur prolifération et (iv) leur conversion envers un profil tolérogène ont également été observés pour d'autres populations exposées à l'IL-35, telles que les LT, LB, macrophages et DC (Collison et al., 2012; Haller et al., 2017; Hao et al., 2018a; Y. He et al., 2021; J. Liu et al., 2019; X. Liu et al., 2018; Luo et al., 2022; R. X. Wang et al., 2014; Zou et al., 2017).

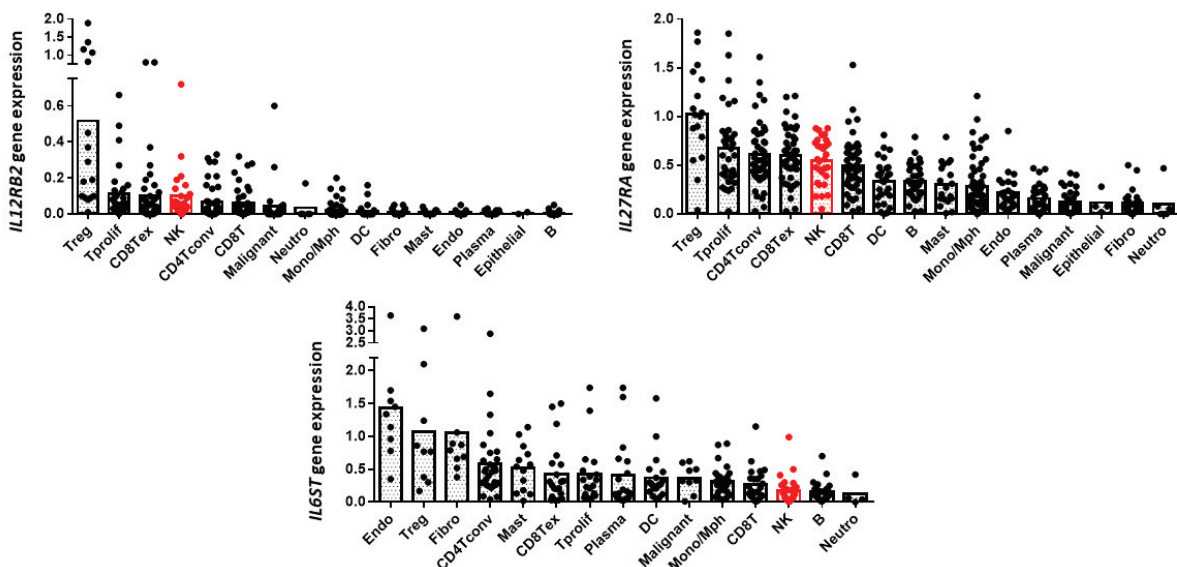
Par ailleurs, une publication d'Octobre 2022 rapporte pour la première fois un lien entre l'IL-35 et la perte de fonctionnalité de NK murines dans un modèle de cancer du pancréas (S. Li et al., 2022). En effet, cette étude démontre une augmentation significative du potentiel prolifératif (au travers d'approches transcriptomiques et d'expression de Ki67 *in situ*) et cytotoxique (via l'expression de Granzyme B) des NK dans des souris traitées par un anticorps neutralisant l'IL-35 ou présentant une déficience du gène *Ebi3* spécifiquement dans les LB, empêchant leur sécrétion d'IL-35. L'ensemble de ces observations est associé à une diminution de la croissance tumorale, qui est dépendante des NK comme démontré via l'utilisation d'anticorps déplétant anti-NK1.1. Ainsi, cette étude conforte nos hypothèses et confirme nos observations, tout en étant complémentaire et non chevauchante à notre approche. En effet, cette étude permet de confirmer la pertinence physiopathologique de l'axe LBreg/IL-35/NK via l'utilisation de diverses approches chez la souris de neutralisation (génétique ou par anticorps neutralisant) de l'IL-35, sans pour autant démontrer de façon formelle un effet direct de l'IL-35 sur les NK et sans s'intéresser aux mécanismes responsables de l'inhibition des fonctions effectrices de ces cellules. A l'inverse, notre étude décrit en détail les effets directs de l'IL-35 recombinante sur les NK humaines et caractérise les mécanismes mis en jeu, indépendamment de tout contexte pathologique.

### II. Une méconnaissance des récepteurs et voies de signalisations impliqués

L'IL-35 présente la particularité de pouvoir se lier à différents récepteurs. En effet, 4 récepteurs murins ont été décrits, avec les dimères IL-12R $\beta$ 2/IL-12R $\beta$ 2, IL-12R $\beta$ 2/gp130 et gp130/gp130 à la surface des LT, et IL-12R $\beta$ 2/IL-27R $\alpha$  à la surface des LB (Collison et al., 2012; R. X. Wang et al., 2014; Ye et al., 2021). De façon intéressante, les sous-unités IL-12R $\beta$ 2, gp130 et IL-27R $\alpha$  sont décrites pour induire respectivement l'activation de pSTAT4, pSTAT1 et pSTAT3, suggérant que la mise en évidence de l'un des deux éléments du couple récepteur/signalisation suffit pour extrapoler la nature du deuxième. Chez l'homme néanmoins, malgré des effets confirmés de l'IL-35, la description de ses récepteurs est quasi nulle, et les rares études s'intéressant aux voies de signalisations induites par l'IL-35 ont rapporté une activation des pSTAT1/pSTAT3 au sein des LT, suggérant des disparités inter-espèce et une potentielle implication du récepteur IL-12R $\beta$ 2/IL-27R $\alpha$  ou d'un récepteur encore inconnu (J. Liu et al., 2019; Ma et al., 2016).

Au cours de ce travail, en utilisant nos données de RNAseq et les données transcriptomiques publiques du consortium ImmGen (Human cell atlas, <http://immunecellatlas.net/>), nous avons observé

l'expression des trois gènes *il12rb2*, *il27ra* et *il6st*, codant respectivement les sous-unités protéiques IL-12Rβ2, IL-27Rα et gp130 au sein des NK circulantes de donneurs sains (Article 3, Fig S3). Les deux jeux de données convergent vers une plus forte expression d'*il12rb2* dans les NK CD56<sup>bright</sup> et d'*il27ra* dans les NK CD56<sup>dim</sup> à l'état basal, alors que *il6st* semble très peu exprimé dans les deux populations de NK. De plus, nos données de RNAseq montrent que l'expression de ces gènes est augmentée après activation des NK dans la majorité des cas. Toutes ces données sont en cours de confirmation au niveau protéique et suggèrent de potentielles disparités d'expression du(des) récepteur(s) à l'IL-35 selon la sous-population NK et le contexte considéré mais oriente également vers une potentielle expression préférentielle des récepteurs IL-12Rβ2/IL-12Rβ2 et IL-12Rβ2/IL-27Rα, ce qui serait en accord avec les observations réalisées pour les LT humains (J. Liu et al., 2019; Ma et al., 2016). L'étude de données publiques obtenues à partir de single-cell RNAseq de NK infiltrant les tumeurs de patients (TISCH, <http://tisch.comp-genomics.org/home/>) confirme ces observations en contexte tumoral, et identifie les NK parmi les cellules immunitaires exprimant le plus fortement les gènes *il12rb2* et *il27ra* (**figure complémentaire 11**).



**Figure complémentaire 11** : Les NK humains représentent l'une des populations exprimant le plus fortement les gènes *il12rb2* et *il27ra*, dans les tumeurs.

Etude de l'expression transcriptomique des gènes *il12rb2*, *il27ra* et *il6st* au sein de NK infiltrant les tumeurs de patients à partir de la base de données TISCH (<http://tisch.comp-genomics.org/home/>).

Néanmoins, l'expression simultanée de ces sous-unités n'implique pas nécessairement leurs interactions afin de former un récepteur fonctionnel à la surface des NK. Ainsi, pour répondre à ces interrogations, nous avons souhaité évaluer la phosphorylation de STAT1/STAT3/STAT4 (par approche FACS) au sein des NK humaines de sang de donneurs sains exposées à l'IL-35. Cette analyse devait nous permettre, grâce aux relations récepteur/signalisation décrites précédemment, d'extrapoler le(s) récepteur(s) engagé(s) en amont par l'IL-35 dans les NK. De façon décevante, les résultats obtenus au cours de ces expériences présentent des variabilités trop importantes, malgré des conditions contrôles robustes, pour nous permettre d'en tirer des conclusions (données non présentées). Les protocoles

pour étudier la phosphorylation de facteurs de transcription par FACS requièrent l'identification de (i) la dose et de la cinétique d'activation optimales pour chaque cytokine et population cellulaire étudiée et (ii) du résidu subissant la phosphorylation dans ce contexte, autant de paramètres qui représentent des points d'optimisation pour le design d'approches expérimentales futures.

Malgré nos résultats négatifs, il semble peu probable que la signalisation d'IL-35 soit indépendante des facteurs de transcription STAT1/3/4 au sein des NK, au vu de ce qui est connu dans la littérature. Néanmoins, il pourrait être pertinent de réaliser des approches pan-signalisations, permettant d'évaluer la phosphorylation de nombreuses molécules intracellulaires simultanément (Proteome Profiler Human Phospho-Kinase Array Kit, #ARY003C, biotechne/R&D systems).

Par ailleurs, différentes approches pourraient également être envisagées pour l'étude de(s) récepteur(s) de l'IL-35 exprimé(s) à la surface des NK, telles que des approches d'immunoprécipitation permettant de mettre en évidence d'éventuelles interactions entre sous-unités ou la genèse de NK modifiées génétiquement pour ne pas exprimer les gènes *il12rb2* ou *il6st* ou *il27ra*, afin d'évaluer une potentielle perte de sensibilité à l'IL-35. Ces expériences, bien que relativement complexes à mettre en place, y compris dans les lignées NK KHYG-1 ou NK92 disponibles au laboratoire, seraient informatives non seulement sur le(s) récepteur(s) engagé(s), mais également sur leur(s) importance(s) respective(s) dans les effets biologiques induits par l'IL-35. En effet, les expériences réalisées à partir de LT murins ont permis de mettre en évidence des effets plus ou moins importants de l'IL-35 selon le récepteur engagé (Collison et al., 2012).

Enfin, il semblerait également pertinent d'évaluer l'affinité de l'IL-35 envers le(s) récepteur(s) exprimé(s) à la surface des NK, en comparaison à ceux exprimés à la surface des LTreg et LBreg, afin d'évaluer la pertinence physiopathologique de cette interaction.

### III. l'IL-35, plus qu'un inhibiteur, un polarisateur des fonctions NK

#### 1. Vers des cellules aux propriétés régulatrices

Notre étude a permis de révéler que l'IL-35 permet l'acquisition d'un profil tolérogène par les NK à deux égards : (i) inhibition de leurs fonctions effectrices (production de cytokines pro-inflammatoires et cytotoxicité) et (ii) induction d'un phénotype ILC1-like accompagné par la production de molécules immunosuppressives et pro-angiogéniques (i.e. TGF $\beta$ , VEGF-A, IL-8, CCL5). Ces observations, confirmées par profilage transcriptomique (scRNAseq), phénotypique et fonctionnel (Article 3, Fig6-7.C), permettent d'une part d'identifier l'IL-35 comme un nouvel acteur du processus de conversion de NK en ILC1-like et d'autre part de renforcer les descriptions récentes identifiant cette transdifférenciation comme l'un des mécanismes sous-jacents aux pertes de fonctions d'immunosurveillance médiées par les NK en contexte pathologique (Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017; Park et al., 2019). Malgré des résultats convergeant vers une diminution du potentiel prolifératif et cytotoxique des ILC1-like dérivées des NK, nos résultats entrent en contradiction avec d'autres études quant aux capacités sécrétoires de ces cellules. En effet, il existe à ce jour des études proposant une diminution de la production d'IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  ou GM-CSF par les cellules ILC1-like (Cortez et al., 2016; Rautela et al., 2019) ou au contraire une augmentation de ces mêmes productions (Gao et al., 2017; Hawke et al., 2020). Différents éléments peuvent expliquer ces divergences, tels que l'hétérogénéité des environnements, les populations NK originelles dont dérivent les ILC1-like ou encore les stimuli utilisés. Dans notre cas, il semble probable que les effets autocrines du TGF $\beta$  participent à l'inhibition de la production des cytokines. De plus, nous avons mis en évidence une diminution significative des taux de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires en présence d'IL-35, mais n'avons pas

spécifiquement évalué les différences de production entre les cellules non converties (CD9<sup>-</sup>CD103<sup>-</sup>CD49<sup>low</sup>) et converties en ILC1-like (CD9<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>CD49<sup>high</sup>). Dans cette même logique, à l'heure actuelle nous n'avons pas d'élément nous permettant de déterminer si le TGFβ et les facteurs pro-angiogéniques détectés en réponse à l'IL-35 sont sécrétés par l'ensemble des NK exposées à l'IL-35 ou spécifiquement par les cellules converties en ILC1-like, bien que nos données de scRNAseq devraient pouvoir répondre à cette question. Pour évaluer cela, il serait particulièrement intéressant de trier les NK exposées à l'IL-35 sur la base des marqueurs CD9, CD103 et CD49, afin de comparer les propriétés fonctionnelles entre cellules NK et ILC1-like. En ce sens, et bien que ne faisant mention ni d'IL-35, ni de TGFβ, ni d'ILC1-like, une étude récente comparant des NK CD9<sup>+</sup> et CD9<sup>-</sup> rapporte un lien entre l'expression de CD9, la diminution de la cytotoxicité et de la production d'IFNγ/TNFα/GM-CSF ainsi que de l'acquisition de l'expression de l'IL-8 (Gonzalez et al., 2021).

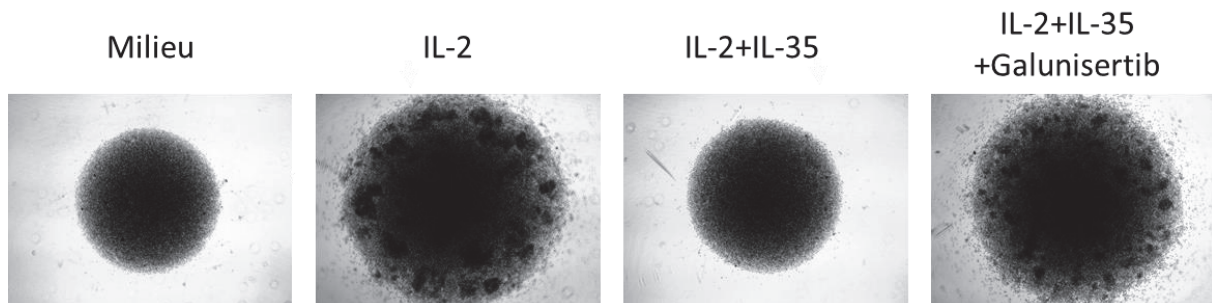
Par ailleurs, nos observations font également écho à la notion de « NKreg » qui a été proposée sur la base de la production de TGFβ, d'IL-10 et/ou de facteurs pro-angiogéniques par les NK (Esplugues et al., 2003; Horwitz et al., 1999; Jiang et al., 2018; Ramírez-Ramírez et al., 2019; Saito et al., 2007), notamment lors de contextes viraux et de cancers, bien que les signaux induisant les NKreg restent encore inconnus. Ainsi, nos travaux, en accord avec la participation de l'IL-35 aux fonctions des LTreg et LBreg (Collison et al., 2007, 2010; Hao et al., 2018; Li et al., 2022; Shen et al., 2014) et à la production de facteurs pro-angiogéniques (Huang et al., 2018; Wang et al., 2013), positionnent l'IL-35 comme un des signaux responsables de l'émergence de « NKreg ». Toutes ces données nous permettent d'émettre deux hypothèses : (i) l'IL-35 polarise les NK en « NKreg » producteurs de TGFβ, induisant à son tour une conversion en ILC1-like ou (ii) les cellules « NKreg » et « ILC1-like » correspondent en réalité à une seule et même population. Afin d'évaluer le potentiel régulateur des ILC1-like induites par l'IL-35, nous envisageons de cocultiver ces cellules avec d'autres populations effectrices (i.e. LT CD4<sup>+</sup>, LT CD8<sup>+</sup>, NK) afin d'évaluer les modifications fonctionnelles de ces dernières.

## 2. Implication du TGFβ dans les effets observés

Comme discuté ci-dessus, notre étude a montré que l'IL-35 est impliquée dans la sécrétion et/ou l'activation du TGF-β par les NK, agissant à son tour sur les NK de façon paracrine. Bien qu'initiée par l'IL-35, la conversion des NK en cellules ILC1-like, est dépendante du TGF-β. Par ailleurs, et bien que ne représentant pas une donnée quantifiable, nous observons visuellement une diminution des effets inhibiteurs de l'IL-35 sur la prolifération des NK en présence d'un inhibiteur du TGF-β, le Galunisertib (**figure complémentaire 12**). Bien qu'attendu, cette observation suggère que le TGF-β est probablement impliqué dans de nombreux résultats décrits au sein de l'article 3, et rendent à ce jour difficile l'identification des effets spécifiquement liés à l'IL-35. Pour répondre à ce point, il serait intéressant, d'un point de vue mécanistique, de réaliser les mêmes expériences que celles présentées dans l'article 3 en présence de Galunisertib afin d'évaluer l'impact spécifique et indépendant de l'IL-35 sur le transcriptome, le phénotype et la fonctionnalité des NK.

Par ailleurs, comme évoqué au cours de l'introduction, le TGF-β initialement produit sous forme latente (complexe SLC composé de la forme mature du TGFβ complexée avec le peptide LAP) nécessite d'être activé par des protéases (i.e. thrombospondine 1, les intégrines αβ1/β3/β5/β6/β8, plasmine, thrombine, transglutaminases, furine, neuropiline-1, les métalloprotéases MMP2/9/14/28 (Illman et al., 2006; Kessenbrock et al., 2010; Mu et al., 2002; Murphy-Ullrich & Suto, 2018; Roth et al., 2013; Shaim et al., 2021a; Travis & Sheppard, 2014; M. Wang et al., 2003; Worthington et al., 2015; Z. Yang et al., 2007; Q. Yu & Stamenkovic, 2000)). De ce fait, la détection de TGF-β actif au sein de surnageants de culture de NK purifiées et exposées à l'IL-35 suggèrent que ces cellules, en plus de sécréter du TGF-

$\beta$ , possèdent également la machinerie nécessaire à son activation. Ainsi, une perspective de recherche serait d'identifier les protéases exprimées par les NK responsables de l'activation du TGF- $\beta$ . A titre purement hypothétique, notre approche scRNAseq a permis de mettre en évidence la surexpression des gènes ITGB1 ( $\alpha\beta$ 1) et ITGA5 ( $\alpha\beta$ 5) par les NK exposées à l'IL-35 (Article 3, Fig6-7.C), et pourraient constituer des premières cibles d'intérêt.



**Figure complémentaire 12 : Le TGF- $\beta$  induit par l'IL-35 participe à l'inhibition de la prolifération des NK humaines de façon paracrine.**

Photographies des puits de cultures de NK humaines primaires après 6 jours de culture en milieu ou en présence d'IL-2, IL-2+IL-35, IL-2+IL-35+Galunisertib (inhibiteur du récepteur du TGF $\beta$ ).

### *3. La conversion NK-ILC1-like, un rôle physiopathologique probablement sous-estimé*

Comme évoqué précédemment, différentes études rapportent un rôle de la conversion de cellules NK en ILC1-like dans l'évolution de certaines pathologies, telles que le cancer ou les infections parasitaires (Gao et al., 2017; Moreno-Nieves et al., 2021; Park et al., 2019). Néanmoins, d'autres travaux ont observé des NK présentant de fortes similitudes phénotypiques et fonctionnelles avec les ILC1-like, sans pour autant les associer à ce concept émergent, suggérant que le rôle endossé par les ILC1-like au cours de processus physiopathologiques est probablement sous-estimé.

De façon particulièrement intéressante, les cellules ILC1-like présentent des similitudes transcriptionnelles, phénotypiques et fonctionnelles troublantes avec les dNK. En effet, ces dernières présentent un phénotype similaire aux cellules que nous décrivons au sein de nos travaux avec de nombreuses études rapportant l'expression des intégrines CD9, CD103 et CD49a à leur surface (Cerdeira et al., 2013; Hou et al., 2023; Huhn et al., 2020; Montaldo et al., 2016; Vento-Tormo et al., 2018). Par ailleurs, et toujours en accord avec nos observations phénotypiques et transcriptionnelles, les comparaisons entre NK circulantes et dNK révèlent que ces dernières expriment moins fortement les marqueurs NKp46, NKp44, NKp30, CX3CR1 tout en surexprimant les molécules CXCR3 et CXCR4 (Cerdeira et al., 2013; Hou et al., 2023; Huhn et al., 2020; Y. Tao et al., 2021; Vento-Tormo et al., 2018). Au-delà du phénotype, les ILC1-like et dNK présentent également des profils fonctionnels similaires. En effet, les dNK sont décrits de longue date pour présenter une cytotoxicité significativement réduite en comparaison aux NK circulantes, notamment via des expressions réduites de granzyme B, perforine et granulysine, ainsi que des capacités de sécrétion d'IFN $\gamma$  et TNF $\alpha$  plus faibles (Filipovic et al., 2018; Huhn et al., 2020; Y. Tao et al., 2021). Parallèlement, les dNK présentent la particularité d'être une source majeure de facteurs pro-angiogéniques (i.e. VEGF, IL-8, CCL5, TGF $\beta$ ) (Cerdeira et al., 2013; Hanna et al., 2006; Hou et al., 2023; Huhn et al., 2020; Lash et al., 2006; Y. Tao et al., 2021; Vento-Tormo et al., 2018). De manière intéressante, les dNK représentent une population hétérogène

composée d'une part importante de cellules provenant de la circulation et infiltrant l'endomètre/la décidua sous l'effet des chimiokines sécrétées par les trophoblastes et cellules stromales déciduales (i.e. CXCL12 -ligand de CXCR4-, CXCL10, CX3CL1 et CCL3) (Carlino et al., 2008; Drake et al., 2001; Hanna et al., 2003; Piao H-L et al., 2015; Y. Tao et al., 2015; X. Wu et al., 2005). Par la suite, l'interaction étroite entre trophoblastes et NK, renforcée par les sécrétions de CCL5 des dNK (Hou et al., 2023; Vento-Tormo et al., 2018), permet l'acquisition de l'ensemble des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles décrites ci-dessus (Keskin et al., 2007; Y. Tao et al., 2021; Vacca et al., 2010). Bien qu'aucun lien n'ait été fait en ce sens, le fait que les trophoblastes aient été décrits comme une source importante d'IL-35 doublé de la présence d'ITr35 déciduales, suggère une potentielle implication de cette cytokine dans la conversion observée (J. Liu et al., 2019; Lombardelli et al., 2022; Mao et al., 2013). L'ensemble de ce processus apparait absolument nécessaire pour assurer la tolérance immunitaire locale, l'induction du processus d'angiogenèse et *in fine* permettre d'éviter toute fausse couche, prééclampsie, placentation adhérente morbide, et autres pathologies liées à la grossesse (Chang et al., 2020; Hanna et al., 2006; Y. Liu et al., 2021; Montaldo et al., 2016; Y. Tao et al., 2021; Vacca et al., 2010).

En outre, les ILC1 de glandes salivaires, possédant les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des ILC1-like, émergent sous influence du TGF $\beta$ , comme le démontre l'utilisation de modèles *Tgrbr2*-KO (Cortez et al., 2016). Ces cellules, associées à des fonctions de régulation, seraient des acteurs responsables du maintien de l'intégrité des glandes salivaires en cas d'infection.

Ainsi, il semble particulièrement tentant de proposer que les dNK et les ILC1 de la glande salivaire représentent en réalité des NK transdifférenciées en ILC1-like. En accord avec cela, deux articles publiés 10 ans et 4 ans avant la première description des cellules ILC1-like font état de similitudes surprenantes entre les NK exposées au TGF $\beta$  et les dNK (Cerdeira et al., 2013; Keskin et al., 2007). Si cette hypothèse s'avérait juste, cela suggérerait d'une part un rôle important du processus de conversion des NK vers ILC1-like dans le maintien de l'homéostasie justifiant l'émergence d'un tel processus au cours de l'évolution, et permettrait, d'autre part, d'apporter un regard nouveau sur le rôle que pourraient jouer de telles cellules au sein du microenvironnement tumoral.

En effet, depuis la première description en 2017 de NK acquérant des propriétés d'ILC1 avec perte de fonctions effectrices dans un modèle murin de mélanome (Gao et al., 2017), des cellules présentant des caractéristiques phénotypiques ou fonctionnelles d'ILC1 au sein de tumeurs s'accumulent, sans pour autant être associées aux ILC1-like ou à l'IL-35. En effet, des NK CD9<sup>+</sup>CD49a<sup>+</sup>CXCR4<sup>+</sup>NKG2D<sup>low</sup>, présentant une faible cytotoxicité en faveur de sécrétion de VEGF, IL-8 et CCL5 ont été observées chez des patients atteints de cancers de la prostate (Gallazzi et al., 2021). De même, une étude par scRNAseq de l'infiltrat immunitaire de tumeurs de l'œsophage révèle la présence d'un cluster de cellules (C2) présentant une forte expression du gène ITGA1 ainsi qu'un Z-score quasi-nul lors de l'utilisation de signatures de cytotoxicité et de prolifération (Zheng et al., 2020). Par ailleurs, l'acquisition des marqueurs CD9 et CD103, concomitante à une diminution des fonctions effectrices, ont été observées à la surface de NK cocultivées avec des cellules tumorales de glioblastome (Shaim et al., 2021) ou du cancer de l'ovaire (Gonzalez et al., 2021). Ainsi, et bien que ne représentant pas une preuve formelle, ces résultats constituent un faisceau d'indices en faveur d'un rôle important du processus de conversion en ILC1-like dans divers cancers, qu'il serait intéressant d'évaluer plus en détail et de mettre en parallèle avec l'IL-35, surexprimée dans de nombreux cancers et corrélée à un mauvais pronostic (Chatrabnous et al., 2019; Hao et al., 2018; Heim et al., 2019; Huang et al., 2017; Lee et al., 2018; Liu et al., 2021; Nishino et al., 2011; Tao et al., 2015; Wang et al., 2013; Zhao et al., 2017; Zhou et al., 2017; Zhu et al., 2020). Ainsi, la démonstration expérimentale des propriétés pro-angiogéniques et pro-tumorales en contexte de cancer des cellules ILC1-like dérivées de NK exposées

à l'IL-35 serait un apport intéressant aux connaissances actuelles. Pour ce faire, des expériences *in vitro* de cocultures entre NK préalablement exposées à l'IL-35 avec des cellules endothéliales, complémentées par des études *in vivo* de caractérisation du rôle de l'IL-35 endogène (par utilisation de modèles murins génétiquement modifiés) et exogène (par injection d'IL-35 recombinante) sur le compartiment immunitaire et endothélial du microenvironnement tumoral sont à envisager.

#### 4. Les ILC1-like, un ensemble de cellules hétérogène ?

Comme évoqué précédemment, les cellules ILC1-like ont été observées (i) dans divers contextes et environnements (cancers, infections parasitaires, stéatose hépatique non alcoolique associée à l'obésité, culture *in vitro*) et (ii) suite à la conversion de populations NK différentes (NK circulantes CD56<sup>Bright</sup> ou CD56<sup>Dim</sup>, NK résidentes du foie) (Cuff et al., 2019; Gao et al., 2017; Hawke et al., 2020; Moreno-Nieves et al., 2021; Park et al., 2019). Bien qu'aucune étude n'ait adressé cette question à ce jour, ces différences pourraient résulter en une hétérogénéité inattendue des cellules ILC1-like. En ce sens, notre approche par scRNAseq nous a permis de démontrer que les ILC1-like dérivées de NK conventionnelles (NKG2C-) présentent une signature transcriptomique différente, bien que partiellement chevauchante, de celle obtenue à partir des ILC1-like converties à partir de NK adaptatives (NKG2C+). Pour compléter ces observations et caractériser l'importance de cette hétérogénéité, il serait intéressant de trier les différentes sous-populations NK (ex : CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>neg</sup>, CD56<sup>Bright</sup>CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>Dim</sup>CD16<sup>+</sup>, NK adaptatives NKG2C+) puis de comparer leurs profils phénotypiques et fonctionnels après conversion en cellules ILC1-like (par exposition prolongée à l'IL-35).

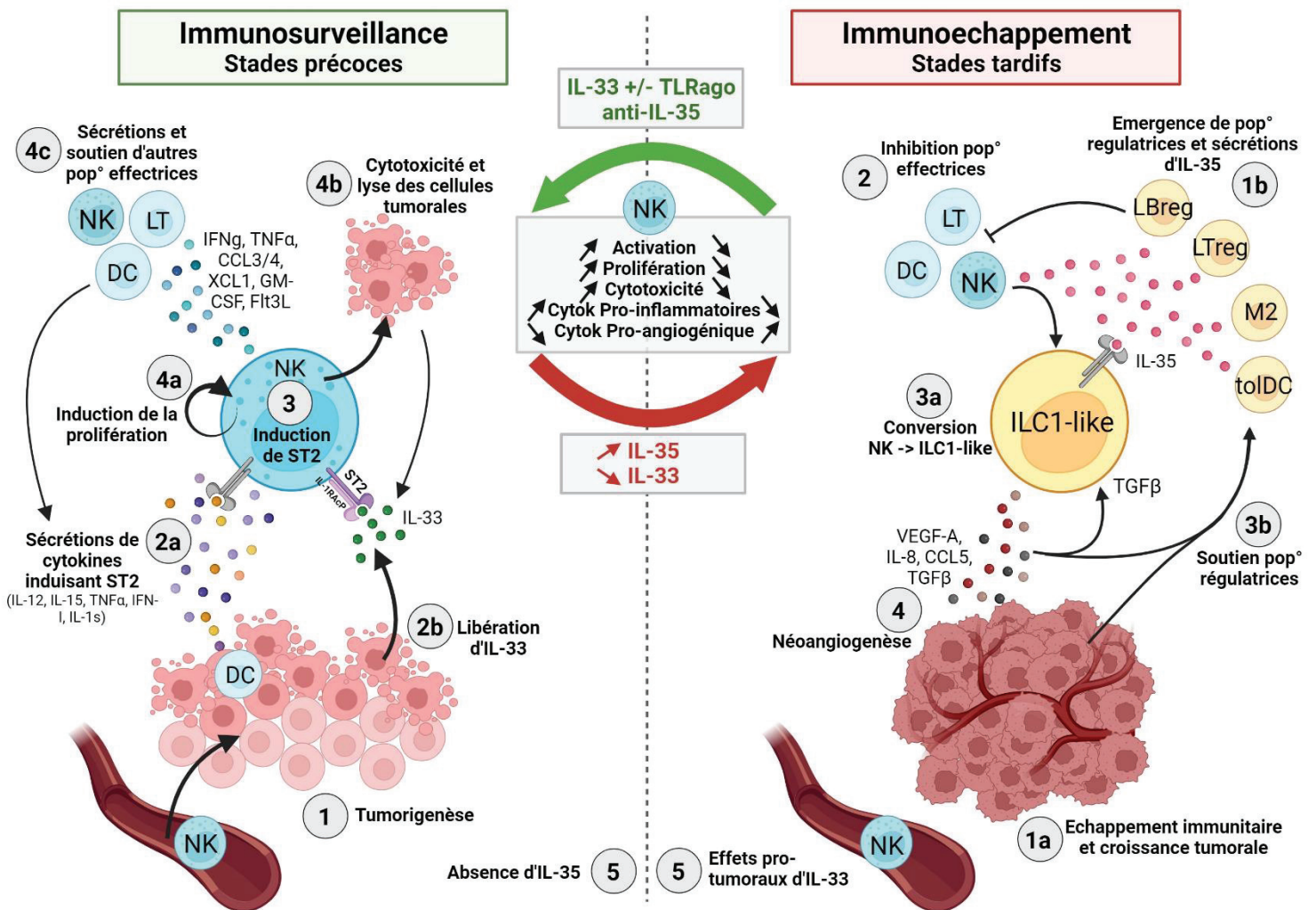
Par ailleurs, nos expériences de conversion *in vitro* démontrent la coexistence de cellules CD9<sup>-</sup>CD103<sup>-</sup>, CD9<sup>+</sup>CD103<sup>-</sup>, CD9<sup>-</sup>CD103<sup>+</sup> et CD9<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup> (malgré une diminution continue de la population double négative en faveur de populations exprimant au moins l'un des marqueurs cités). Cette observation, au-delà de démontrer un continuum entre cellules non converties (population double négative) et cellules finalement converties (population double positive), tend à sous-entendre l'existence de trajectoires alternatives dans l'acquisition du phénotype ILC1-like. Cette hypothèse sera à évaluer au sein de nos données de scRNAseq, que nous avons volontairement générées après 2 jours et 4 jours de culture pour permettre l'analyse d'états cellulaires intermédiaires, au travers d'analyses de trajectoires et de vélocité, bien que ces dernières soient complexifiées par la part importante de cellules en cycle.

#### 5. L'impact à long-terme de la conversion en ILC1-like

A ce jour, plusieurs questions relatives à l'impact à long-terme de la conversion des NK en ILC1-like restent ouvertes. En effet, le caractère définitif ou au contraire réversible de cette conversion n'a encore jamais été directement investigué. Néanmoins, dans le cas d'infection par *Toxoplasma Gondii*, les cellules ILC1-like sont toujours détectées post-infection (en l'absence du parasite) suggérant une persistance y compris après guérison (Park et al., 2019). Cette même étude a démontré des changements épigénétiques (ATAC-seq) des cellules ILC1-like, pouvant suggérer un impact profond et durable. Par ailleurs, il a été démontré que les dNK présentent également des modifications épigénétiques menant à l'acquisition de caractéristiques adaptatives en contexte de grossesses, leur permettant d'assurer des fonctions tolérogènes et pro-angiogéniques accrues lors d'activations ultérieures (Gamliel et al., 2018). De façon intéressante, ces fonctions augmentées ont été associées à une meilleure placentation, mais sont également capables de favoriser la croissance tumorale. Ainsi, une meilleure caractérisation de l'impact à long-terme de la conversion en cellules ILC1-like semble d'intérêt.

# Conclusions

En conclusion, les résultats obtenus lors de ma thèse participent à approfondir notre compréhension de la biologie et de la plasticité fonctionnelle des NK en réponse à des facteurs cytokiniques, aussi bien dans son versant positif que négatif via l'étude de l'IL-33 et l'IL-35, respectivement. Replacés en contexte tumoral, ces résultats sont en faveur d'un rôle régulateur important de l'IL-33 et l'IL-35 dans l'immunosurveillance médiée par les NK. Nous proposons un modèle, illustré en **figure 16**, selon lequel l'IL-33 libérée dans le microenvironnement tumoral dès les stades précoces joue un rôle dans l'activation des fonctions effectrices des NK, en coopérant avec les cytokines sécrétées par les DC (i.e. IL-12, IL-15, TNF $\alpha$ , IFN-I, IL-1s). L'IL-35, quant à elle participe à l'induction d'un environnement immunosuppresseur limitant les réponses immunitaires antitumorales et participant directement à l'inhibition fonctionnelle des NK via leur conversion en cellules ILC1-like à des stades plus tardifs de la pathologie. Ainsi, nos travaux apportent un rationnel fort pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant les axes IL-33/NK/ST2 et IL-35/NK/ILC1-like dans le contexte de cancer en clinique.





**Figure 16 : Modèle du rôle des IL-33 et IL-35 dans la régulation de la réponse immunitaire en contexte de tumoral.**

D'après nos résultats ainsi que les données de la littérature, l'IL-33 semble jouer un rôle double sur la régulation de la réponse immunitaire en contexte tumoral, tandis que l'IL-35 présente des effets invariablement immunosuppresseurs. Nous proposons que dans les phases précoces de la tumorigénèse, l'IL-33 peut être libérée par les cellules qui l'expriment (cellules endothéliales, épithéliales, stromales) et agir comme un signal de danger pour activer les cellules immunitaires. En présence d'IL-12/IL-15/IL-18/TNF $\alpha$ /IFN- $\gamma$ , libérée par les cellules dendritiques (DC) activées, les NK CD56Dim et CD56Bright peuvent acquérir l'expression de ST2 et devenir sensibles à l'IL-33 libérée dans le microenvironnement. L'activation de la voie IL-33/ST2 dans les NK permettrait leur prolifération tout en stimulant leurs fonctions cytotoxiques envers les cellules tumorales et sécrétrices, permettant le recrutement et l'activation de cellules immunitaires impliquées dans la réponse anti-tumorale (LT CD8+, cellules NK, LTh1, DCs). A ce stade, l'IL-33 jouerait un rôle anti-tumoral et serait associée à un bon pronostic tandis que l'IL-35 serait absente. Toutefois, l'interaction entre la tumeur et son microenvironnement favorise la mise en place de mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire, tels que la production d'IL-35. En effet, celle-ci permettrait d'inhiber les populations effectrices, inhibant les NK directement mais également indirectement via l'altération fonctionnelles des DCs et donc la diminution de la production de cytokines induisant ST2 et *in fine* une perte de sensibilité des NK à l'IL-33. Par ailleurs, l'IL-35 induirait la conversion de populations effectrices vers un profil tolérogène, avec la conversion des NK en ILC1-like peu cytotoxiques et aux propriétés pro-angiogéniques et pro-tumorales. A ce stade, la libération d'IL-33 agirait préférentiellement sur les cellules qui expriment ST2 de manière constitutive, à savoir des populations immunosuppresseurs (Tregs, mastocytes, LTh2, basophiles). Dans ce contexte, l'IL-33 et l'IL-35 participeraient au support des populations régulatrices et seraient associées à un mauvais pronostic. Pop° : populations.

# Bibliographie

- Abiko, K., Matsumura, N., Hamanishi, J., Horikawa, N., Murakami, R., Yamaguchi, K., Yoshioka, Y., Baba, T., Konishi, I., & Mandai, M. (2015). IFN- $\gamma$  from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer. *British Journal of Cancer*, 112(9), 1501–1509. <https://doi.org/10.1038/BJC.2015.101>
- Abt, M. C., Lewis, B. B., Caballero, S., Xiong, H., Carter, R. A., Susac, B., Ling, L., Leiner, I., & Pamer, E. G. (2015). Innate Immune Defenses Mediated by Two ILC Subsets are Critical for Protection Against Acute *Clostridium difficile* Infection. *Cell Host & Microbe*, 18(1), 27. <https://doi.org/10.1016/j.CHOM.2015.06.011>
- Acebes-Huerta, A., Lorenzo-Herrero, S., Folgueras, A. R., Huergo-Zapico, L., Lopez-Larrea, C., López-Soto, A., & Gonzalez, S. (2016). Drug-induced hyperploidy stimulates an antitumor NK cell response mediated by NKG2D and DNAM-1 receptors. *Oncoimmunology*, 5(2). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1074378>
- Adams, N. M., Geary, C. D., Santosa, E. K., Lumaquin, D., Le Ludec, J. B., Sottile, R., van der Ploeg, K., Hsu, J., Whitlock, B. M., Jackson, B. T., Weizman, O. El, Huse, M., Hsu, K. C., & Sun, J. C. (2019). Cytomegalovirus Infection Drives Avidity Selection of Natural Killer Cells. *Immunity*, 50(6), 1381–1390.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.04.009>
- Adams, N. M., Lau, C. M., Fan, X., Rapp, M., Geary, C. D., Weizman, O. El, Diaz-Salazar, C., & Sun, J. C. (2018). Transcription Factor IRF8 Orchestrates the Adaptive Natural Killer Cell Response. *Immunity*, 48(6), 1172–1182.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.04.018>
- Afonina, I. S., Müller, C., Martin, S. J., & Beyaert, R. (2015). Proteolytic Processing of Interleukin-1 Family Cytokines: Variations on a Common Theme. *Immunity*, 42(6), 991–1004. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2015.06.003>
- Ahlenstiel, G., Titerence, R. H., Koh, C., Edlich, B., Feld, J. J., Rotman, Y., Ghany, M. G., Hoofnagle, J. H., Liang, T. J., Heller, T., & Rehermann, B. (2010). Natural Killer Cells Are Polarized Toward Cytotoxicity in Chronic Hepatitis C in an Interferon- $\alpha$ -Dependent Manner. *Gastroenterology*, 138(1), 325–335.e2. <https://doi.org/10.1053/j.GASTRO.2009.08.066>
- Akazawa, T., Ebihara, T., Okuno, M., Okuda, Y., Shingai, M., Tsujimura, K., Takahashi, T., Ikawa, M., Okabe, M., Inoue, N., Okamoto-Tanaka, M., Ishizaki, H., Miyoshi, J., Matsumoto, M., & Seya, T. (2007). Antitumor NK activation induced by the Toll-like receptor 3-TICAM-1 (TRIF) pathway in myeloid dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(1), 252. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0605978104>
- Akbari, O., DeKruyff, R. H., & Umetsu, D. T. (2001). Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen. *Nature Immunology* 2:8, 2(8), 725–731. <https://doi.org/10.1038/90667>
- Akimoto, M., Hayashi, J. I., Nakae, S., Saito, H., & Takenaga, K. (2016). Interleukin-33 enhances programmed oncosis of ST2L-positive low-metastatic cells in the tumour microenvironment of lung cancer. *Cell Death & Disease*, 7(1), e2057. <https://doi.org/10.1038/CDDIS.2015.418>
- Akimoto, M., Susa, T., Okudaira, N., Koshikawa, N., Hisaki, H., Iizuka, M., Okinaga, H., Takenaga, K., Okazaki, T., & Tamamori-Adachi, M. (2023). Hypoxia induces downregulation of the tumor-suppressive sST2 in colorectal cancer cells via the HIF–nuclear IL-33–GATA3 pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(118), e2218033120. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2218033120/SUPPL\\_FILE/PNAS.2218033120.SD02.XLSX](https://doi.org/10.1073/PNAS.2218033120/SUPPL_FILE/PNAS.2218033120.SD02.XLSX)
- Albinger, N., Pfeifer, R., Nitsche, M., Mertlitz, S., Campe, J., Stein, K., Kreyenberg, H., Schubert, R., Quadflieg, M., Schneider, D., Kühn, M. W. M., Penack, O., Zhang, C., Möker, N., & Ullrich, E. (2022). Primary CD33-targeting CAR-NK cells for the treatment of acute myeloid leukemia. *Blood Cancer Journal* 2022 12:4, 12(4), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00660-2>
- Aldinucci, D., Borghese, C., & Casagrande, N. (2020). The CCL5/CCR5 Axis in Cancer Progression. *Cancers*, 12(7), 1–30. <https://doi.org/10.3390/CANCERS12071765>
- Alexandre, Y. O., Ghilas, S., Sanchez, C., Le Bon, A., Crozat, K., & Dalod, M. (2016). XCR1+ dendritic cells promote memory CD8+ T cell recall upon secondary infections with *Listeria monocytogenes* or certain viruses. *The Journal of Experimental Medicine*, 213(1), 75–92. <https://doi.org/10.1084/JEM.20142350>
- Ali, S., Mohs, A., Thomas, M., Klare, J., Ross, R., Schmitz, M. L., & Martin, M. U. (2011). The Dual Function Cytokine IL-33 Interacts with the Transcription Factor NF- $\kappa$ B To Dampen NF- $\kappa$ B-Stimulated Gene Transcription. *The Journal of Immunology*, 187(4), 1609–1616. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1003080>
- Alizadeh, D., Zhang, L., Brown, C. E., Farrukh, O., Jensen, M. C., & Badie, B. (2010). Induction of anti-glioma natural killer cell response following multiple low-dose intracerebral CpG therapy. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 16(13), 3399–3408. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-3087>
- Allan, D. S. J., Rybalov, B., Awong, G., Zúñiga-Pflücker, J. C., Kopcow, H. D., Carlyle, J. R., & Strominger, J. L. (2010). TGF- $\beta$  affects development and differentiation of human natural killer cell subsets. *European Journal of Immunology*, 40(8), 2289. <https://doi.org/10.1002/EJL.200939910>
- Allen, F., Bobanga, I. D., Rauhe, P., Barkauskas, D., Teich, N., Tong, C., Myers, J., & Huang, A. Y. (2018). CCL3 augments tumor rejection and enhances CD8+ T cell infiltration through NK and CD103+ dendritic cell recruitment via IFN $\gamma$ . *Oncoimmunology*, 7(3). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1393598>
- Almishri, W., Santodomingo-Garzon, T., Le, T., Stack, D., Mody, C. H., & Swain, M. G. (2016). TNF $\alpha$  Augments Cytokine-Induced NK Cell IFN $\gamma$  Production through TNFR2. *Journal of Innate Immunity*, 8(6), 617–629. <https://doi.org/10.1159/000448077>
- Alonso-Curbelo, D., Ho, Y. J., Burdziak, C., Maag, J. L. V., Morris, J. P., Chandwani, R., Chen, H. A., Tsanov, K. M., Barriga, F. M., Luan, W., Tasdemir, N., Livshits, G., Azizi, E., Chun, J., Wilkinson, J. E., Mazutis, L., Leach, S. D., Koche, R., Pe'er, D., & Lowe, S. W. (2021). A gene–environment-induced epigenetic program initiates tumorigenesis. *Nature* 2021 590:7847, 590(7847), 642–648. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03147-x>
- Alvarez, M., Simonetta, F., Baker, J., Pierini, A., Wenokur, A. S., Morrison, A. R., Murphy, W. J., & Negrin, R. S. (2019). Regulation of murine NK cell exhaustion through the activation of the DNA damage repair pathway. *JCI Insight*, 5(14). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.127729>

- Alves-Filho, J. C., Snego, F., Souto, F. O., Freitas, A., Verri, W. A., Auxiliadora-Martins, M., Basile-Filho, A., McKenzie, A. N., Xu, D., Cunha, F. Q., & Liew, F. Y. (2010). Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. *Nature Medicine* 2010 16:6, 16(6), 708–712. <https://doi.org/10.1038/nm.2156>
- Anderson, A. C., Joller, N., & Kuchroo, V. K. (2016). Lag-3, Tim-3, and TIGIT co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity*, 44(5), 989. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.001>
- Anderson, P., Aptsiauri, N., Ruiz-Cabello, F., & Garrido, F. (2021). HLA class I loss in colorectal cancer: implications for immune escape and immunotherapy. *Cellular & Molecular Immunology* 2021 18:3, 18(3), 556–565. <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00634-7>
- Andersson, P., Yang, Y., Hosaka, K., Zhang, Y., Fischer, C., Braun, H., Liu, S., Yu, G., Liu, S., Beyaert, R., Chang, M., Li, Q., & Cao, Y. (2018). Molecular mechanisms of IL-33–mediated stromal interactions in cancer metastasis. *JCI Insight*, 3(20). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.122375>
- André, P., Denis, C., Soulas, C., Bourbon-Caillet, C., Lopez, J., Arnoux, T., Bléry, M., Bonnafous, C., Gauthier, L., Morel, A., Rossi, B., Remark, R., Bresó, V., Bonnet, E., Habif, G., Guia, S., Lalanne, A. I., Hoffmann, C., Lantz, O., ... Vivier, E. (2018). Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells. *Cell*, 175(7). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.014>
- Andreone, S., Spadaro, F., Buccione, C., Mancini, J., Tinari, A., Sestili, P., Gambardella, A. R., Lucarini, V., Ziccheddu, G., Parolini, I., Zanetti, C., D'urso, M. T., De Ninno, A., Businaro, L., Afferni, C., Mattei, F., & Schiavoni, G. (2019). IL-33 Promotes CD11b/CD18-Mediated Adhesion of Eosinophils to Cancer Cells and Synapse-Polarized Degranulation Leading to Tumor Cell Killing. *Cancers* 2019, Vol. 11, Page 1664, 11(11), 1664. <https://doi.org/10.3390/CANCERS11111664>
- Anfossi, N., André, P., Guia, S., Falk, C. S., Roetyncck, S., Stewart, C. A., Bresó, V., Frassati, C., Reviron, D., Middleton, D., Romagné, F., Ugolini, S., & Vivier, E. (2006). Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class I. *Immunity*, 25(2), 331–342. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.06.013>
- Anft, M., Netter, P., Urlaub, D., Prager, I., Schaffner, S., & Watzl, C. (2020). NK cell detachment from target cells is regulated by successful cytotoxicity and influences cytokine production. *Cellular & Molecular Immunology*, 17(4), 347–355. <https://doi.org/10.1038/S41423-019-0277-2>
- Annes, J. P., Munger, J. S., & Rifkin, D. B. (2003). Making sense of latent TGFbeta activation. *Journal of Cell Science*, 116(Pt 2), 217–224. <https://doi.org/10.1242/JCS.00229>
- Anthony, D. A., Andrews, D. M., Chow, M., Watt, S. V., House, C., Akira, S., Bird, P. I., Trapani, J. A., & Smyth, M. J. (2010). A role for granzyme M in TLR4-driven inflammation and endotoxemia. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 185(3), 1794–1803. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1000430>
- Ao, X., Gan, Q., Huang, X., Bao, D., Wu, X., Lin, Q., Lin, A., Ding, Y., Wang, L., Chen, Y., & Huang, Z. (2023). TLR8 agonist partially improves IFN-γ deficiency of NK cells in chronic hepatitis B through the synergy of monocytes. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 57(4), 387–398. <https://doi.org/10.1111/APT.17382>
- Aoki, S., Hayakawa, M., Ozaki, H., Takezako, N., Obata, H., Ibaraki, N., Tsuru, T., Tominaga, S. I., & Yanagisawa, K. (2010). ST2 gene expression is proliferation-dependent and its ligand, IL-33, induces inflammatory reaction in endothelial cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 335(1–2), 75–81. <https://doi.org/10.1007/S11010-009-0244-9>
- Aparicio-Domingo, P., Cannelle, H., Buechler, M. B., Nguyen, S., Kallert, S. M., Favre, S., Alouche, N., Papazian, N., Ludewig, B., Cupedo, T., Pinschewer, D. D., Turley, S. J., & Luther, S. A. (2021). Fibroblast-derived IL-33 is dispensable for lymph node homeostasis but critical for CD8 T-cell responses to acute and chronic viral infection. *European Journal of Immunology*, 51(1), 76–90. <https://doi.org/10.1002/EJI.201948413>
- Ardolino, M., Azimi, C. S., Iannello, A., Trevino, T. N., Horan, L., Zhang, L., Deng, W., Ring, A. M., Fischer, S., Garcia, K. C., & Raulet, D. H. (2014). Cytokine therapy reverses NK cell anergy in MHC-deficient tumors. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(11), 4781–4794. <https://doi.org/10.1172/JCI74337>
- Ariyoshi, W., Okinaga, T., Chaweewannakorn, W., Akifusa, S., & Nishihara, T. (2017). Mechanisms involved in enhancement of matrix metalloproteinase-9 expression in macrophages by interleukin-33. *Journal of Cellular Physiology*, 232(12), 3481–3495. <https://doi.org/10.1002/JCP.25809>
- Arnon, T. I., Achdout, H., Levi, O., Markel, G., Saleh, N., Katz, G., Gazit, R., Gonen-Gross, T., Hanna, J., Nahari, E., Porgador, A., Honigman, A., Plachter, B., Mevorach, D., Wolf, D. G., & Mandelboim, O. (2005). Inhibition of the NKp30 activating receptor by pp65 of human cytomegalovirus. *Nature Immunology*, 6(5), 515–523. <https://doi.org/10.1038/NI1190>
- Arpaia, N., Green, J. A., Moltedo, B., Arvey, A., Hemmers, S., Yuan, S., Treuting, P. M., & Rudensky, A. Y. (2015). A Distinct Function of Regulatory T Cells in Tissue Protection. *Cell*, 162(5), 1078–1089. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.021>
- Askoura, M., Abbas, H. A., Alsadoun, H., Abdulaal, W. H., Abu Lila, A. S., Almansour, K., Alshammari, F., Khafagy, E. S., Ibrahim, T. S., & Hegazy, W. A. H. (2022). Elevated Levels of IL-33, IL-17 and IL-25 Indicate the Progression from Chronicity to Hepatocellular Carcinoma in Hepatitis C Virus Patients. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11010057>
- Awasthi, A., Carrier, Y., Peron, J. P. S., Bettelli, E., Kamanaka, M., Flavell, R. A., Kuchroo, V. K., Oukka, M., & Weiner, H. L. (2007). A dominant function for interleukin 27 in generating interleukin 10–producing anti-inflammatory T cells. *Nature Immunology* 2007 8:12, 8(12), 1380–1389. <https://doi.org/10.1038/ni1541>
- Azuma, M., Cayabyab, M., Buck, D., Phillips, J. H., & Lanier, L. L. (1992). Involvement of CD28 in MHC-unrestricted cytotoxicity mediated by a human natural killer leukemia cell line. *The Journal of Immunology*, 149(4), 1115–1123. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.149.4.1115>
- Bade, B., Boettcher, H. E., Lohrmann, J., Hink-Schauer, C., Bratke, K., Jenne, D. E., Virchow, J. C., & Luttmann, W. (2005). Differential expression of the granzymes A, K and M and perforin in human peripheral blood lymphocytes. *International Immunology*, 17(11), 1419–1428. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXH320>

- Baessler, T., Charton, J. E., Schmiedel, B. J., Grünebach, F., Krusch, M., Wacker, A., Rammensee, H. G., & Salih, H. R. (2010). CD137 ligand mediates opposite effects in human and mouse NK cells and impairs NK-cell reactivity against human acute myeloid leukemia cells. *Blood*, 115(15), 3058–3069. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-06-227934>
- Baghban, E., Noorolyai, S., Shانهbandi, D., Mokhtarzadeh, A., Aghebati-Maleki, L., Shahgoli, V. K., Brunetti, O., Rahmani, S., Shadbad, M. A., Baghbanzadeh, A., Silvestri, N., & Baradaran, B. (2021). Regulation of immune responses through CD39 and CD73 in cancer: Novel checkpoints. *Life Sciences*, 282, 119826. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119826>
- Bagot, M., Porcu, P., Marie-Cardine, A., Battistella, M., William, B. M., Vermeer, M., Whittaker, S., Rotolo, F., Ram-Wolf, C., Khodadoust, M. S., Bensussan, A., Paturel, C., Bonnafous, C., Sicard, H., Azim, H. A., & Kim, Y. H. (2019). IPH4102, a first-in-class anti-KIR3DL2 monoclonal antibody, in patients with relapsed or refractory cutaneous T-cell lymphoma: an international, first-in-human, open-label, phase 1 trial. *The Lancet Oncology*, 20(8), 1160–1170. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30320-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30320-1)
- Bai, L., Vienne, M., Tang, L., Kerdiles, Y., Etienne, M., Escalière, B., Galluso, J., Wei, H., Sun, R., Vivier, E., Peng, H., & Tian, Z. (2021). Liver type 1 innate lymphoid cells develop locally via an interferon- $\gamma$ -dependent loop. *Science (New York, N.Y.)*, 371(6536). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABA4177>
- Bajénoff, M., Breart, B., Huang, A. Y. C., Qi, H., Cazareth, J., Braud, V. M., Germain, R. N., & Glaichenhaus, N. (2006). Natural killer cell behavior in lymph nodes revealed by static and real-time imaging. *Journal of Experimental Medicine*, 203(3), 619–631. <https://doi.org/10.1084/JEM.20051474/VIDEO-7>
- Bal, S. M., Bernink, J. H., Nagasawa, M., Groot, J., Shikhagaie, M. M., Golebski, K., Van Drunen, C. M., Lutter, R., Jonkers, R. E., Hombrink, P., Bruchard, M., Villaudy, J., Munneke, J. M., Fokkens, W., Erjefelt, J. S., Spits, H., & Ros, X. R. (2016). IL-1 $\beta$ , IL-4 and IL-12 control the fate of group 2 innate lymphoid cells in human airway inflammation in the lungs. *Nature Immunology*, 17(6), 636–645. <https://doi.org/10.1038/NI.3444>
- Balaji, G. R., Aguilar, O. A., Tanaka, M., Shingu-Vazquez, M. A., Fu, Z., Gully, B. S., Lanier, L. L., Carlyle, J. R., Rossjohn, J., & Berry, R. (2018). Recognition of host Clr-b by the inhibitory NKR-P1B receptor provides a basis for missing-self recognition. *Nature Communications* 2018 9:1, 9(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/S41467-018-06989-2>
- Bald, T., Krummel, M. F., Smyth, M. J., & Barry, K. C. (2020). The NK cell-cancer cycle - advances and new challenges in NK cell-based immunotherapies. *Nature Immunology*, 21(8), 835. <https://doi.org/10.1038/S41590-020-0728-Z>
- Balzasch, B. M., & Cerwenka, A. (2023). Microenvironmental signals shaping NK cell reactivity in cancer. *European Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.1002/EJI.202250103>
- Banerjee, S., & Bond, J. S. (2008). Prointerleukin-18 Is Activated by Mepripin  $\beta$  In Vitro and In Vivo in Intestinal Inflammation. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(46), 31371. <https://doi.org/10.1074/JBC.M802814200>
- Barber, D. F., & Long, E. O. (2003). Coexpression of CD58 or CD48 with intercellular adhesion molecule 1 on target cells enhances adhesion of resting NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 170(1), 294–299. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.170.1.294>
- Barber, D. F., Faure, M., & Long, E. O. (2004). LFA-1 contributes an early signal for NK cell cytotoxicity. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 173(6), 3653–3659. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.173.6.3653>
- Bardel, E., Larousserie, F., Charlot-Rabiega, P., Coulomb-L'Herminé, A., & Devergne, O. (2008). Human CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells do not constitutively express IL-35. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 181(10), 6898–6905. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.10.6898>
- Barrow, A. D., Edeling, M. A., Trifonov, V., Luo, J., Goyal, P., Bohl, B., Bando, J. K., Kim, A. H., Walker, J., Andahazy, M., Bugatti, M., Melocchi, L., Vermi, W., Fremont, D. H., Cox, S., Cella, M., Schmedt, C., & Colonna, M. (2018). Natural Killer Cells Control Tumor Growth by Sensing a Growth Factor. *Cell*, 172(3), 534–548.e19. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.037>
- Barry, K. C., Hsu, J., Broz, M. L., Cueto, F. J., Binnewies, M., Combes, A. J., Nelson, A. E., Loo, K., Kumar, R., Rosenblum, M. D., Alvarado, M. D., Wolf, D. M., Bogunovic, D., Bhardwaj, N., Daud, A. I., Ha, P. K., Ryan, W. R., Pollack, J. L., Samad, B., ... Krummel, M. F. (2018). A natural killer-dendritic cell axis defines checkpoint therapy-responsive tumor microenvironments. *Nature Medicine*, 24(8), 1178–1191. <https://doi.org/10.1038/S41591-018-0085-8>
- Batten, M., Li, J., Yi, S., Kljavin, N. M., Danilenko, D. M., Lucas, S., Lee, J., de Sauvage, F. J., & Ghilardi, N. (2006). Interleukin 27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T cells. *Nature Immunology* 2006 7:9, 7(9), 929–936. <https://doi.org/10.1038/ni1375>
- Baumann, C., Bonilla, W. V., Fröhlich, A., Helmstetter, C., Peine, M., Hegazy, A. N., Pinschewer, D. D., & Löhning, M. (2015). T-bet- And STAT4-dependent IL-33 receptor expression directly promotes antiviral Th1 cell responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(13), 4056–4061. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1418549112/SUPPL\\_FILE/PNAS.201418549SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1418549112/SUPPL_FILE/PNAS.201418549SI.PDF)
- Baumann, C., Fröhlich, A., Brunner, T. M., Holeccka, V., Pinschewer, D. D., & Löhning, M. (2019). Memory CD8+ T cell protection from viral reinfection depends on interleukin-33 alarmin signals. *Frontiers in Immunology*, 10(AUG), 466511. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01833/BIBTEX>
- Baume, D. M., Robertson, M. J., Levine, H., Manley, T. J., Schow, P. W., & Ritz, J. (1992). Differential responses to interleukin 2 define functionally distinct subsets of human natural killer cells. *European Journal of Immunology*, 22(1), 1–6. <https://doi.org/10.1002/EJI.1830220102>
- Bayerl, F., Meiser, P., Donakonda, S., Hirschberger, A., Lacher, S. B., Pedde, A.-M., Hermann, C. D., Elewaut, A., Knolle, M., Ramsauer, L., Rudolph, T. J., Grassmann, S., Öllinger, R., Kirchhammer, N., Trefny, M., Anton, M., Wohlleber, D., Höchst, B., Zaremba, A., ... Böttcher, J. P. (2023). Tumor-derived prostaglandin E2 programs cDC1 dysfunction to impair intratumoral orchestration of anti-cancer T cell responses. *Immunity*, 56(6), 1341–1358.e11. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.05.011>
- Beano, A., Signorino, E., Evangelista, A., Brusa, D., Mistrangelo, M., Polimeni, M. A., Spadi, R., Donadio, M., Ciuffreda, L., & Matera, L. (2008). Correlation between NK function and response to trastuzumab in metastatic breast cancer patients. *Journal of Translational Medicine*, 6, 25. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-6-25>

- Beatty, G. L., & Paterson, Y. (2000). IFN-gamma can promote tumor evasion of the immune system in vivo by down-regulating cellular levels of an endogenous tumor antigen. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 165(10), 5502–5508. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.165.10.5502>
- Beaulieu, A. M., Zawislak, C. L., Nakayama, T., & Sun, J. C. (2014). The transcription factor Zbtb32 controls the proliferative burst of virus-specific natural killer cells responding to infection. *Nature Immunology*, 15(6), 546–553. <https://doi.org/10.1038/NI.2876>
- Becher, B., Durell, B. G., & Noelle, R. J. (2002). Experimental autoimmune encephalitis and inflammation in the absence of interleukin-12. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(4), 493–497. <https://doi.org/10.1172/JCI15751>
- Beck, S., & Barrell, B. G. (1988). Human cytomegalovirus encodes a glycoprotein homologous to MHC class-I antigens. *Nature* 1988 331:6153, 331(6153), 269–272. <https://doi.org/10.1038/331269a0>
- Becker-Hapak, M. K., Shrestha, N., McClain, E., Dee, M. J., Chaturvedi, P., Leclerc, G. M., Marsala, L. I., Foster, M., Schappe, T., Tran, J., Desai, S., Neal, C. C., Pence, P., Wong, P., Wagner, J. A., Russler-Germain, D. A., Zhu, X., Spanoudis, C. M., Gallo, V. L., ... Fehniger, T. A. (2021). A fusion protein complex that combines IL12, IL15, and IL18 signaling to induce memory-like NK cells for cancer immunotherapy. *Cancer Immunology Research*, 9(9), 1071. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-20-1002>
- Belisle, J. A., Horibata, S., Jennifer, G. A. A., Petrie, S., Kapur, A., André, S., Gabius, H. J., Rancourt, C., Connor, J., Paulson, J. C., & Patankar, M. S. (2010). Identification of Siglec-9 as the receptor for MUC16 on human NK cells, B cells, and monocytes. *Molecular Cancer*, 9. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-118>
- Bénac, O., Gaudin, M., Out-Hammou, W., Rispaud Blanc, H., Ors, M., Bonnet, E., Maguer, A., Letay-Drouet, R., Soulas, C., Chanteux, S., Remark, R., Habif, G., Phelipot, M., Blanchin, S., Romagné, F., Leroy, A., Bléry, M., Bonnafous, C., Morel, A., ... Kd, A. (2018). Innate Pharma Preclinical development of first-in-class antibodies targeting Siglec-9 immune checkpoint for cancer immunotherapy. A B C Healthy donor Cancer patient. AACR.
- Bennett, I. M., Zatzepina, O., Zamai, L., Azzoni, L., Mikheeva, T., & Perussia, B. (1996). Definition of a natural killer NKR-P1A+/CD56-/CD16- functionally immature human NK cell subset that differentiates in vitro in the presence of interleukin 12. *The Journal of Experimental Medicine*, 184(5), 1845–1856. <https://doi.org/10.1084/JEM.184.5.1845>
- Benson, D. M., Bakan, C. E., Zhang, S., Collins, S. M., Liang, J., Srivastava, S., Hofmeister, C. C., Efebera, Y., Andre, P., Romagne, F., Bléry, M., Bonnafous, C., Zhang, J., Clever, D., Caligiuri, M. A., & Farag, S. S. (2011). IPH2101, a novel anti-inhibitory KIR antibody, and lenalidomide combine to enhance the natural killer cell versus multiple myeloma effect. *Blood*, 118(24), 6387. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-06-360255>
- Bentebibel, S. E., Hurwitz, M. E., Bernatchez, C., Haymaker, C., Hudgens, C. W., Kluger, H. M., Tetzlaff, M. T., Tagliaferri, M. A., Zalevsky, J., Hoch, U., Fanton, C., Aung, S., Hwu, P., Curti, B. D., Tannir, N. M., Sznol, M., & Diab, A. (2019). A First-in-Human Study and Biomarker Analysis of NKTR-214, a Novel IL2R $\beta$ -Biased Cytokine, in Patients with Advanced or Metastatic Solid Tumors. *Cancer Discovery*, 9(6), 711–721. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1495>
- Berger, G., Knelson, E. H., Jimenez-Macias, J. L., Nowicki, M. O., Han, S., Panagiotti, E., Lizotte, P. H., Adu-Berchie, K., Stafford, A., Dimitrakakis, N., Zhou, L., Chiocca, E. A., Mooney, D. J., Barbie, D. A., & Lawler, S. E. (2022). STING activation promotes robust immune response and NK cell-mediated tumor regression in glioblastoma models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(28), e2111003119. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2111003119/SUPPL\\_FILE/PNAS.2111003119.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2111003119/SUPPL_FILE/PNAS.2111003119.SAPP.PDF)
- Bernard, P. L., Delconte, R., Pastor, S., Laletin, V., Costa Da Silva, C., Goubard, A., Josselin, E., Castellano, R., Krug, A., Vernerey, J., Devillier, R., Olive, D., Verhoeyen, E., Vivier, E., Huntington, N. D., Nunes, J., & Guittard, G. (2022). Targeting CISH enhances natural cytotoxicity receptor signaling and reduces NK cell exhaustion to improve solid tumor immunity. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 10(5), e004244. <https://doi.org/10.1136/JITC-2021-004244>
- Bernardini, G., Gismondi, A., & Santoni, A. (2012). Chemokines and NK cells: Regulators of development, trafficking and functions. *Immunology Letters*, 145(1–2), 39–46. <https://doi.org/10.1016/J.IMLET.2012.04.014>
- Bernink, J. H., Krabbendam, L., Germar, K., de Jong, E., Gronke, K., Kofoed-Nielsen, M., Munneke, J. M., Hazenberg, M. D., Villaudy, J., Buskens, C. J., Bemelman, W. A., Diefenbach, A., Blom, B., & Spits, H. (2015). Interleukin-12 and -23 Control Plasticity of CD127(+) Group 1 and Group 3 Innate Lymphoid Cells in the Intestinal Lamina Propria. *Immunity*, 43(1), 146–160. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.06.019>
- Bernink, J. H., Peters, C. P., Munneke, M., Te Velde, A. A., Meijer, S. L., Weijer, K., Hreggvidsdottir, H. S., Heinsbroek, S. E., Legrand, N., Buskens, C. J., Bemelman, W. A., Mjösberg, J. M., & Spits, H. (2013). Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nature Immunology*, 14(3), 221–229. <https://doi.org/10.1038/NI.2534>
- Berrien-Elliott, M. M., Cashen, A. F., Cubitt, C. C., Neal, C. C., Wong, P., Wagner, J. A., Foster, M., Schappe, T., Desai, S., McClain, E., Becker-Hapak, M., Foltz, J. A., Cooper, M. L., Jaeger, N., Srivatsan, S. N., Gao, F., Romee, R., Abboud, C. N., Uy, G. L., ... Fehniger, T. A. (2020). Multidimensional analyses of donor memory-like NK cells reveal new associations with response after adoptive immunotherapy for leukemia. *Cancer Discovery*, 10(12), 1854–1872. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0312/333516/AM/MULTIDIMENSIONAL-ANALYSES-OF-DONOR-MEMORY-LIKE-NK>
- Berrien-Elliott, M. M., Foltz, J. A., Russler-Germain, D. A., Neal, C. C., Tran, J., Gang, M., Wong, P., Fisk, B., Cubitt, C. C., Marin, N. D., Zhou, A. Y., Jacobs, M. T., Foster, M., Schappe, T., McClain, E., Kersting-Schadek, S., Desai, S., Pence, P., Becker-Hapak, M., ... Fehniger, T. A. (2022). Hematopoietic cell transplantation donor-derived memory-like NK cells functionally persist after transfer into patients with leukemia. *Science Translational Medicine*, 14(633), eabm1375. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.ABM1375>
- Berrien-Elliott, M. M., Jacobs, M. T., & Fehniger, T. A. (2023). Allogeneic natural killer cell therapy. *Blood*, 141(8), 856. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2022016200>
- Berrien-Elliott, M. M., Wagner, J. A., & Fehniger, T. A. (2015). Human Cytokine-Induced Memory-Like Natural Killer Cells. *Journal of Innate Immunity*, 7(6), 563–571. <https://doi.org/10.1159/000382019>
- Besnard, A. G., Togbe, D., Guillou, N., Erard, F., Quesniaux, V., & Ryffel, B. (2011). IL-33-activated dendritic cells are critical for allergic airway inflammation. *European Journal of Immunology*, 41(6), 1675–1686. <https://doi.org/10.1002/EJI.201041033>

- Bessa, J., Meyer, C. A., de Vera Mudry, M. C., Schlicht, S., Smith, S. H., Iglesias, A., & Cote-Sierra, J. (2014). Altered subcellular localization of IL-33 leads to non-resolving lethal inflammation. *Journal of Autoimmunity*, 55(1), 33–41. <https://doi.org/10.1016/J.JAUT.2014.02.012>
- Bettigole, S. E., & Glimcher, L. H. (2015). Endoplasmic reticulum stress in immunity. *Annual Review of Immunology*, 33, 107–138. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-032414-112116>
- Bettini, M., Castellaw, A. H., Lennon, G. P., Burton, A. R., & Vignali, D. A. A. (2012). Prevention of autoimmune diabetes by ectopic pancreatic  $\beta$ -cell expression of interleukin-35. *Diabetes*, 61(6), 1519–1526. <https://doi.org/10.2337/DB11-0784/-/DC1>
- Beuneu, H., Deguine, J., Bouvier, I., Di Santo, J. P., Albert, M. L., & Bousso, P. (2011). Cutting Edge: A dual role for type I IFNs during polyinosinic-polycytidylic acid-induced NK cell activation. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 187(5), 2084–2088. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1004210>
- Bexte, T., Alzubi, J., Reindl, L. M., Wendel, P., Schubert, R., Salzmann-Manrique, E., von Metzler, I., Cathomen, T., & Ullrich, E. (2022). CRISPR-Cas9 based gene editing of the immune checkpoint NKG2A enhances NK cell mediated cytotoxicity against multiple myeloma. *Oncolimmunology*, 11(1). [https://doi.org/10.1080/2162402X.2022.2081415/SUPPL\\_FILE/KONI\\_A\\_2081415\\_SM9614.ZIP](https://doi.org/10.1080/2162402X.2022.2081415/SUPPL_FILE/KONI_A_2081415_SM9614.ZIP)
- Béziat, V., Dalgard, O., Asselah, T., Halfon, P., Bedossa, P., Boudifa, A., Hervier, B., Theodorou, I., Martinot, M., Debré, P., Björkström, N. K., Malmberg, K. J., Marcellin, P., & Vieillard, V. (2012). CMV drives clonal expansion of NKG2C+ NK cells expressing self-specific KIRs in chronic hepatitis patients. *European Journal of Immunology*, 42(2), 447–457. <https://doi.org/10.1002/EJI.201141826>
- Béziat, V., Liu, L. L., Malmberg, J. A., Ivarsson, M. A., Sohlberg, E., Björklund, A. T., Retière, C., Sverremark-Ekström, E., Traherne, J., Ljungman, P., Schaffer, M., Price, D. A., Trowsdale, J., Michaëlsson, J., Ljunggren, H. G., & Malmberg, K. J. (2013). NK cell responses to cytomegalovirus infection lead to stable imprints in the human KIR repertoire and involve activating KIRs. *Blood*, 121(14), 2678–2688. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-10-459545>
- Beziaud, L., Young, C. M., Alonso, A. M., Norkin, M., Minafra, A. R., & Huelsken, J. (2023). IFN $\gamma$ -induced stem-like state of cancer cells as a driver of metastatic progression following immunotherapy. *Cell Stem Cell*, 30(6), 818–831.e6. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2023.05.007>
- Bezman, N. A., Kim, C. C., Sun, J. C., Min-Oo, G., Hendricks, D. W., Kamimura, Y., Best, J. A., Goldrath, A. W., Lanier, L. L., Gautier, E. L., Jakubzick, C., Randolph, G. J., Best, A. J., Knell, J., Miller, J., Brown, B., Merad, M., Jojic, V., Koller, D., ... Benoist, C. (2012). Molecular definition of the identity and activation of natural killer cells. *Nature Immunology*, 13(10), 1000–1008. <https://doi.org/10.1038/NI.2395>
- Bhatt, R. S., Berjis, A., Konge, J. C., Mahoney, K. M., Klee, A. N., Freeman, S. S., Chen, C. H., Jegede, O. A., Catalano, P. J., Pignon, J. C., Sticco-Ivins, M., Zhu, B., Hua, P., Soden, J., Zhu, J., McDermott, D. F., Arulanandam, A. R., Signoretti, S., & Freeman, G. J. (2021). KIR3DL3 Is an Inhibitory Receptor for HHLA2 that Mediates an Alternative Immunoinhibitory Pathway to PD1. *Cancer Immunology Research*, 9(2), 156–169. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-20-0315>
- Bielekova, B., Catalfamo, M., Reichert-Scriver, S., Packer, A., Cerna, M., Waldmann, T. A., McFarland, H., Henkart, P. A., & Martin, R. (2006). Regulatory CD56(bright) natural killer cells mediate immunomodulatory effects of IL-2/alpha-targeted therapy (daclizumab) in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(15), 5941–5946. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0601335103>
- Billadeau, D. D., Upshaw, J. L., Schoon, R. A., Dick, C. J., & Leibson, P. J. (2003). NKG2D-DAP10 triggers human NK cell-mediated killing via a Syk-independent regulatory pathway. *Nature Immunology* 2003 4:6, 4(6), 557–564. <https://doi.org/10.1038/ni929>
- Billiar, I. M., Guardado, J., Abdul-Malak, O., Vodovotz, Y., Billiar, T. R., & Namas, R. A. (2019). Elevations in Circulating sST2 Levels Are Associated With In-Hospital Mortality and Adverse Clinical Outcomes After Blunt Trauma. *Journal of Surgical Research*, 244, 23–33. <https://doi.org/10.1016/J.JSS.2019.05.057>
- Björkström, N. K., Svensson, A., Malmberg, K. J., Eriksson, K., & Ljunggren, H. G. (2011). Characterization of Natural Killer Cell Phenotype and Function during Recurrent Human HSV-2 Infection. *PLOS ONE*, 6(11), e27664. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0027664>
- Bláha, J., Skálová, T., Kalousková, B., Skořepa, O., Cmunt, D., Grobárová, V., Pazický, S., Poláčková, E., Abreu, C., Stránský, J., Koval, T., Dušková, J., Zhao, Y., Harlos, K., Hašek, J., Dohnálek, J., & Vaněk, O. (2022). Structure of the human NK cell NKR-P1:LLT1 receptor:ligand complex reveals clustering in the immune synapse. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32577-6>
- Blank, C. U., Haining, W. N., Held, W., Hogan, P. G., Kallies, A., Lugli, E., Lynn, R. C., Philip, M., Rao, A., Restifo, N. P., Schietinger, A., Schumacher, T. N., Schwartzberg, P. L., Sharpe, A. H., Speiser, D. E., Wherry, E. J., Youngblood, B. A., & Zehn, D. (2019). Defining “T cell exhaustion.” *Nature Reviews. Immunology*, 19(11), 665–674. <https://doi.org/10.1038/S41577-019-0221-9>
- Blom, B., & Spits, H. (2006). DEVELOPMENT OF HUMAN LYMPHOID CELLS. <https://Doi-Org.Proxy.Insermbiblio.Inist.Fr/10.1146/Annurev.Immunol.24.021605.090612>, 24, 287–320. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL.24.021605.090612>
- Blom, L., & Poulsen, L. K. (2012). IL-1 Family Members IL-18 and IL-33 Upregulate the Inflammatory Potential of Differentiated Human Th1 and Th2 Cultures. *The Journal of Immunology*, 189(9), 4331–4337. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1103685>
- Blomberg, O. S., Spagnuolo, L., Garner, H., Voorwerk, L., Isaeva, O. I., van Dyk, E., Bakker, N., Chalabi, M., Klaver, C., Duijst, M., Kersten, K., Brüggemann, M., Pastoors, D., Hau, C. S., Vrijland, K., Raeven, E. A. M., Kaldenbach, D., Kos, K., Afonina, I. S., ... Kok, M. (2023). IL-5-producing CD4+ T cells and eosinophils cooperate to enhance response to immune checkpoint blockade in breast cancer. *Cancer Cell*, 41(1), 106–123.e10. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2022.11.014>
- Bluman, E. M., Bartynski, K. J., Avalos, B. R., & Caligiuri, M. A. (1996). Human natural killer cells produce abundant macrophage inflammatory protein-1 alpha in response to monocyte-derived cytokines. *Journal of Clinical Investigation*, 97(12), 2722. <https://doi.org/10.1172/JCI118726>
- Bodmer, J. L., Schneider, P., & Tschopp, J. (2002). The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(1), 19–26. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(01\)01995-8](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(01)01995-8)

- Boieri, M., Ulvmoen, A., Sudworth, A., Lendrem, C., Collin, M., Dickinson, A. M., Kveberg, L., & Inngjerdigen, M. (2017). IL-12, IL-15, and IL-18 pre-activated NK cells target resistant T cell acute lymphoblastic leukemia and delay leukemia development in vivo. *Oncology*, 6(3). [https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1274478/SUPPL\\_FILE/KONI\\_A\\_1274478\\_SM0324.DOCX](https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1274478/SUPPL_FILE/KONI_A_1274478_SM0324.DOCX)
- Boldison, J., Da Rosa, L. C., Davies, J., Wen, L., & Wong, F. S. (2019). Dendritic cells license regulatory B cells to produce IL-10 and mediate suppression of antigen-specific CD8 T cells. *Cellular & Molecular Immunology* 2019 17:8, 17(8), 843–855. <https://doi.org/10.1038/s41423-019-0324-z>
- Bommarito, D., Martin, A., Forcade, E., Nastke, M. D., Ritz, J., & Bellucci, R. (2016). Enhancement of tumor cell susceptibility to natural killer cell activity through inhibition of the PI3K signaling pathway. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 65(3), 355–366. <https://doi.org/10.1007/S00262-016-1804-Y>
- Bonanni, V., Antonangeli, F., Santoni, A., & Bernardini, G. (2019). Targeting of CXCR3 improves anti-myeloma efficacy of adoptively transferred activated natural killer cells. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1), 290. <https://doi.org/10.1186/S40425-019-0751-5>
- Bonavita, E., Bromley, C. P., Jonsson, G., Pelly, V. S., Sahoo, S., Walwyn-Brown, K., Mensurado, S., Moeini, A., Flanagan, E., Bell, C. R., Chiang, S. C., Chikkanna-Gowda, C. P., Rogers, N., Silva-Santos, B., Jaillon, S., Mantovani, A., Reis e Sousa, C., Guerra, N., Davis, D. M., & Zelenay, S. (2020). Antagonistic Inflammatory Phenotypes Dictate Tumor Fate and Response to Immune Checkpoint Blockade. *Immunity*, 53(6), 1215-1229.e8. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2020.10.020>
- Bonavita, E., Bromley, C. P., Jonsson, G., Pelly, V. S., Sahoo, S., Walwyn-Brown, K., Mensurado, S., Moeini, A., Flanagan, E., Bell, C. R., Chiang, S. C., Chikkanna-Gowda, C. P., Rogers, N., Silva-Santos, B., Jaillon, S., Mantovani, A., Reis e Sousa, C., Guerra, N., Davis, D. M., & Zelenay, S. (2020). Antagonistic Inflammatory Phenotypes Dictate Tumor Fate and Response to Immune Checkpoint Blockade. *Immunity*, 53(6), 1215-1229.e8. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2020.10.020>
- Bonilla, W. V., Fröhlich, A., Senn, K., Kallert, S., Fernandez, M., Johnson, S., Kreutzfeldt, M., Hegazy, A. N., Schrick, C., Fallon, P. G., Klemenz, R., Nakae, S., Adler, H., Merkler, D., Löhning, M., & Pinschewer, D. D. (2012). The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8+ T cell responses. *Science (New York, N.Y.)*, 335(6071), 984–989. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1215418>
- Boraschi, D., & Tagliabue, A. (2013). The interleukin-1 receptor family. *Seminars in Immunology*, 25(6), 394–407. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2013.10.023>
- Borrego, F., Ulbrecht, M., Weiss, E. H., Coligan, J. E., & Brooks, A. G. (1998). 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. *The Journal of Experimental Medicine*, 187(5), 813–818. <https://doi.org/10.1084/JEM.187.5.813>
- Böttcher, J. P., Bonavita, E., Chakravarty, P., Bles, H., Cabeza-Cabrerizo, M., Sammiceli, S., Rogers, N. C., Sahai, E., Zelenay, S., & Reis e Sousa, C. (2018). NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. *Cell*, 172(5), 1022-1037.e14. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.01.004>
- Bottino, C., Castriconi, R., Pende, D., Rivera, P., Nanni, M., Carnemolla, B., Cantoni, C., Grassi, J., Marcenaro, S., Reymond, N., Vitale, M., Moretta, L., Lopez, M., & Moretta, A. (2003). Identification of PVR (CD155) and Nectin-2 (CD112) as cell surface ligands for the human DNAM-1 (CD226) activating molecule. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(4), 557–567. <https://doi.org/10.1084/JEM.20030788>
- Boudreau, J. E., & Hsu, K. C. (2018). Natural killer cell education and the response to infection and cancer therapy: stay tuned. *Trends in Immunology*, 39(3), 222. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2017.12.001>
- Bouker, K. B., Skaar, T. C., Riggins, R. B., Harburger, D. S., Fernandez, D. R., Zwart, A., Wang, A., & Clarke, R. (2005). Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) exhibits tumor suppressor activities in breast cancer associated with caspase activation and induction of apoptosis. *Carcinogenesis*, 26(9), 1527–1535. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGI113>
- Bourdely, P., Anselmi, G., Vaivode, K., Ramos, R. N., Missolo-Koussou, Y., Hidalgo, S., Tosselo, J., Nuñez, N., Richer, W., Vincent-Salomon, A., Saxena, A., Wood, K., Lladser, A., Piaggio, E., Helft, J., & Guernonprez, P. (2020). Transcriptional and Functional Analysis of CD1c+ Human Dendritic Cells Identifies a CD163+ Subset Priming CD8+CD103+ T Cells. *Immunity*, 53(2), 335-352.e8. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2020.06.002>
- Bourgeois, E., van, L. P., Samson, M., Diem, S., Barra, A., Roga, S., Gombert, J. M., Schneider, E., Dy, M., Gourdy, P., Girard, J. P., & Herbelin, A. (2009). The pro-Th2 cytokine IL-33 directly interacts with invariant NKT and NK cells to induce IFN- $\gamma$  production. *European Journal of Immunology*, 39(4), 1046–1055. <https://doi.org/10.1002/EJL.200838575>
- Bou-Tayeh, B., Laletin, V., Salem, N., Just-Landi, S., Fares, J., Leblanc, R., Balzano, M., Kerdiles, Y. M., Bidaut, G., Héroult, O., Olive, D., Aurrand-Lions, M., Walzer, T., Nunès, J. A., & Fauriat, C. (2021). Chronic IL-15 Stimulation and Impaired mTOR Signaling and Metabolism in Natural Killer Cells During Acute Myeloid Leukemia. *Frontiers in Immunology*, 12, 5330. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.730970/BIBTEX>
- Boutet, M., Gauthier, L., Leclerc, M., Gros, G., De Montpreville, V., Theret, N., Donnadiou, E., & Mami-Chouaib, F. (2016). TGF $\beta$  signaling intersects with CD103 integrin signaling to promote T-Lymphocyte accumulation and antitumor activity in the lung tumor microenvironment. *Cancer Research*, 76(7), 1757–1769. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1545/651927/AM/TGF-SIGNALING-INTERSECTS-WITH-CD103-INTEGRIN>
- Bouwman, A. C., van Daalen, K. R., Crnko, S., ten Broeke, T., & Bovenschen, N. (2021). Intracellular and Extracellular Roles of Granzyme K. *Frontiers in Immunology*, 12, 1630. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.677707/BIBTEX>
- Brady, J., Carotta, S., Thong, R. P. L., Chan, C. J., Hayakawa, Y., Smyth, M. J., & Nutt, S. L. (2010). The Interactions of Multiple Cytokines Control NK Cell Maturation. *The Journal of Immunology*, 185(11), 6679–6688. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0903354>
- Brady, J., Hayakawa, Y., Smyth, M. J., & Nutt, S. L. (2004). IL-21 Induces the Functional Maturation of Murine NK Cells. *The Journal of Immunology*, 172(4), 2048–2058. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.172.4.2048>
- Brandt, C. S., Baratin, M., Yi, E. C., Kennedy, J., Gao, Z., Fox, B., Haldeman, B., Ostrander, C. D., Kaifu, T., Chabannon, C., Moretta, A., West, R., Xu, W. F., Vivier, E., & Levin, S. D. (2009). The B7 family member B7-H6 is a tumor cell ligand for the activating natural killer cell receptor NKp30 in humans. *The Journal of Experimental Medicine*, 206(7), 1495–1503. <https://doi.org/10.1084/JEM.20090681>

- Bratke, K., Kuepper, M., Bade, B., Virchow, J. C., & Luttmann, W. (2005). Differential expression of human granzymes A, B, and K in natural killer cells and during CD8+ T cell differentiation in peripheral blood. *European Journal of Immunology*, 35(9), 2608–2616. <https://doi.org/10.1002/EJL.200526122>
- Braud, V. M., Allan, D. S. J., O'Callaghan, C. A., Soderstrom, K., D'Andrea, A., Ogg, G. S., Lazetic, S., Young, N. T., Bell, J. I., Phillips, J. H., Lanier, L. L., & McMichael, A. J. (1998). HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature*, 391(6669), 795–799. <https://doi.org/10.1038/35869>
- Brauner, H., Elemans, M., Lemos, S., Broberger, C., Holmberg, D., Flodström-Tullberg, M., Kärre, K., & Höglund, P. (2010). Distinct phenotype and function of NK cells in the pancreas of nonobese diabetic mice. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 184(5), 2272–2280. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0804358>
- Brodin, P., Kärre, K., & Höglund, P. (2009). NK cell education: not an on-off switch but a tunable rheostat. *Trends in Immunology*, 30(4), 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.IT.2009.01.006>
- Brog, R. A., Ferry, S. L., Schiebout, C. T., Messier, C. M., Cook, W. J., Abdullah, L., Zou, J., Kumar, P., Sentman, C. L., Frost, H. R., & Huang, Y. H. (2022). Superkine IL2 and IL33 armored CAR T cells reshape the tumor microenvironment and reduce growth of multiple solid tumors. *Cancer Immunology Research*, 10(8), 962. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-21-0536>
- Brooks, A. G., Posch, P. E., Scorzelli, C. J., Borrego, F., & Coligan, J. E. (1997). NKG2A complexed with CD94 defines a novel inhibitory natural killer cell receptor. *The Journal of Experimental Medicine*, 185(4), 795–800. <https://doi.org/10.1084/JEM.185.4.795>
- Brownlie, D., Scharenberg, M., Mold, J. E., Hard, J., Kekalainen, E., Buggert, M., Nguyen, S., Wilson, J. N., Al-Ameri, M., Ljunggren, H. G., Marquardt, N., & Michaelsson, J. (2021). Expansions of adaptive-like NK cells with a tissue-resident phenotype in human lung and blood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(11), e2016580118. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2016580118/SUPPL\\_FILE/PNAS.2016580118.SD01.XLSX](https://doi.org/10.1073/PNAS.2016580118/SUPPL_FILE/PNAS.2016580118.SD01.XLSX)
- Bruno, A., Focaccetti, C., Pagani, A., Imperatori, A. S., Spagnoletti, M., Rotolo, N., Cantelmo, A. R., Franzi, F., Capella, C., Ferlazzo, G., Mortara, L., Albini, A., & Noonan, D. M. (2013). The Proangiogenic Phenotype of Natural Killer Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Neoplasia* (New York, N.Y.), 15(2), 133. <https://doi.org/10.1593/NEO.121758>
- Bryceson, Y. T., Ljunggren, H. G., & Long, E. O. (2009). Minimal requirement for induction of natural cytotoxicity and intersection of activation signals by inhibitory receptors. *Blood*, 114(13), 2657–2666. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-01-201632>
- Bryceson, Y. T., March, M. E., Barber, D. F., Ljunggren, H. G., & Long, E. O. (2005). Cytolytic granule polarization and degranulation controlled by different receptors in resting NK cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 202(7), 1001. <https://doi.org/10.1084/JEM.20051143>
- Bryceson, Y. T., March, M. E., Ljunggren, H. G., & Long, E. O. (2006). Synergy among receptors on resting NK cells for the activation of natural cytotoxicity and cytokine secretion. *Blood*, 107(1), 159–166. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-04-1351>
- Budagian, V., Bulanova, E., Paus, R., & Bulfone-Paus, S. (2006). IL-15/IL-15 receptor biology: A guided tour through an expanding universe. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 17(4), 259–280. <https://doi.org/10.1016/j.CYTOGFR.2006.05.001>
- Bufler, P., Azam, T., Gamboni-Robertson, F., Reznikov, L. L., Kumar, S., Dinarello, C. A., & Kim, S. H. (2002). A complex of the IL-1 homologue IL-1F7b and IL-18-binding protein reduces IL-18 activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21), 13723. <https://doi.org/10.1073/PNAS.212519099>
- Burzynski, L. C., Humphry, M., Pyrillou, K., Wiggins, K. A., Chan, J. N. E., Figg, N., Kitt, L. L., Summers, C., Tatham, K. C., Martin, P. B., Bennett, M. R., & Clarke, M. C. H. (2019). The Coagulation and Immune Systems Are Directly Linked through the Activation of Interleukin-1 $\alpha$  by Thrombin. *Immunity*, 50(4), 1033–1042.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.003>
- Cabo, M., Santana-Hernández, S., Costa-García, M., Rea, A., Lozano-Rodríguez, R., Ataya, M., Balaguer, F., Juan, M., Ochoa, M. C., Menéndez, S., Comerma, L., Rovira, A., Berraondo, P., Albanell, J., Melero, I., López-Botet, M., & Muntasell, A. (2021). CD137 Costimulation Counteracts TGF $\beta$  Inhibition of NK-cell Antitumor Function. *Cancer Immunology Research*, 9(12), 1476–1490. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-21-0030/665781/AM/CD137-COSTIMULATION-COUNTERACTS-TGF-INHIBITION-OF>
- Caligiuri, G., & Tuveson, D. A. (2023). Activated fibroblasts in cancer: Perspectives and challenges. *Cancer Cell*, 41(3), 434–449. <https://doi.org/10.1016/j.CCELL.2023.02.015>
- Caligiuri, M. A. (2008). Human natural killer cells. *Blood*, 112(3), 461–469. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-09-077438>
- Campbell, K. S., & Purdy, A. K. (2011). Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations. *Immunology*, 132(3), 315–325. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2567.2010.03398.X>
- Campbell, K. S., Cohen, A. D., & Pazina, T. (2018). Mechanisms of NK Cell Activation and Clinical Activity of the Therapeutic SLAMF7 Antibody, Elotuzumab in Multiple Myeloma. *Frontiers in Immunology*, 9(NOV). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02551>
- Cantoni, C., Bottino, C., Vitale, M., Pessino, A., Augugliaro, R., Malaspina, A., Parolini, S., Moretta, L., Moretta, A., & Biassoni, R. (1999). NKp44, A Triggering Receptor Involved in Tumor Cell Lysis by Activated Human Natural Killer Cells, Is a Novel Member of the Immunoglobulin Superfamily. *The Journal of Experimental Medicine*, 189(5), 787. <https://doi.org/10.1084/JEM.189.5.787>
- Cao, B., Liu, M., Huang, J., Zhou, J., Li, J., Lian, H., Huang, W., Guo, Y., Yang, S., Lin, L., Cai, M., Zhi, C., Wu, J., Liang, L., Hu, Y., Hu, H., He, J., Liang, B., Zhao, Q., & Zhu, K. (2021). Development of mesothelin-specific CAR NK-92 cells for the treatment of gastric cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 17(14), 3850. <https://doi.org/10.7150/IJBS.64630>
- Cao, E., Zang, X., Ramagopal, U. A., Mukhopadhyaya, A., Fedorov, A., Fedorov, E., Zencheck, W. D., Lary, J. W., Cole, J. L., Deng, H., Xiao, H., DiLorenzo, T. P., Allison, J. P., Nathenson, S. G., & Almo, S. C. (2007). T cell immunoglobulin mucin-3 crystal structure reveals a galectin-9-independent ligand-binding surface. *Immunity*, 26(3), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2007.01.016>
- Cao, J., Xu, F., Lin, S., Tao, X., Xiang, Y., Lai, X., & Zhang, L. (2015). IL-35 is elevated in clinical and experimental sepsis and mediates inflammation. *Clinical Immunology* (Orlando, Fla.), 161(2), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.CLIM.2015.08.016>



- Cao, K., Liao, X., Lu, J., Yao, S., Wu, F., Zhu, X., Shi, D., Wen, S., Liu, L., & Zhou, H. (2018). IL-33/ST2 plays a critical role in endothelial cell activation and microglia-mediated neuroinflammation modulation. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/S12974-018-1169-6>
- Cao, Q., Wang, Y., Zheng, D., Sun, Y., Wang, Y., Lee, V. W. S., Zheng, G., Tan, T. K., Ince, J., Alexander, S. I., & Harris, D. C. H. (2010). IL-10/TGF- $\beta$ -Modified Macrophages Induce Regulatory T Cells and Protect against Adriamycin Nephrosis. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 21(6), 933. <https://doi.org/10.1681/ASN.2009060592>
- Cao, X., Leonard, K., Collins, L. L., Cai, S. F., Mayer, J. C., Payton, J. E., Walter, M. J., Piwnicka-Worms, D., Schreiber, R. D., & Ley, T. J. (2009). Interleukin 12 stimulates IFN- $\gamma$ -mediated inhibition of tumor-induced regulatory T-cell proliferation and enhances tumor clearance. *Cancer Research*, 69(22), 8700–8709. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1145/655408/P/INTERLEUKIN-12-STIMULATES-IFN-MEDIATED-INHIBITION>
- Carayannopoulos, L. N., Naidenko, O. V., Fremont, D. H., & Yokoyama, W. M. (2002). Cutting edge: murine UL16-binding protein-like transcript 1: a newly described transcript encoding a high-affinity ligand for murine NKG2D. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 169(8), 4079–4083. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.169.8.4079>
- Carbone, E., Ruggiero, G., Terrazzano, G., Palomba, C., Manzo, C., Fontana, S., Spits, H., Kärret, K., & Zappacosta, S. (1997). A new mechanism of NK cell cytotoxicity activation: the CD40-CD40 ligand interaction. *The Journal of Experimental Medicine*, 185(12), 2053–2060. <https://doi.org/10.1084/JEM.185.12.2053>
- Carlino, C., Stabile, H., Morrone, S., Bulla, R., Soriani, A., Agostinis, C., Bossi, F., Mocci, C., Sarazani, F., Tedesco, F., Santoni, A., & Gismondi, A. (2008). Recruitment of circulating NK cells through decidual tissues: a possible mechanism controlling NK cell accumulation in the uterus during early pregnancy. *Blood*, 111(6), 3108–3115. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-08-105965>
- Carlsten, M., Norell, H., Bryceson, Y. T., Poschke, I., Schedvins, K., Ljunggren, H.-G., Kiessling, R., & Malmberg, K.-J. (2009). Primary human tumor cells expressing CD155 impair tumor targeting by down-regulating DNAM-1 on NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 183(8), 4921–4930. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0901226>
- Carrega, P., Morandi, B., Costa, R., Frumento, G., Forte, G., Altavilla, G., Ratto, G. B., Mingari, M. C., Moretta, L., & Ferlazzo, G. (2008). Natural killer cells infiltrating human nonsmall-cell lung cancer are enriched in CD56 bright CD16(-) cells and display an impaired capability to kill tumor cells. *Cancer*, 112(4), 863–875. <https://doi.org/10.1002/CNCR.23239>
- Carriere, V., Roussel, L., Ortega, N., Lacorre, D. A., Americh, L., Aguilar, L., Bouche, G., & Girard, J. P. (2007). IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(1), 282–287. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0606854104>
- Carson, W. E., Giri, J. G., Lindemann, M. J., Linett, M. L., Ahdieh, M., Paxton, R., Anderson, D., Eisenmann, J., Grabstein, K., & Caligiuri, M. A. (1994). Interleukin (IL) 15 is a novel cytokine that activates human natural killer cells via components of the IL-2 receptor. *The Journal of Experimental Medicine*, 180(4), 1395–1403. <https://doi.org/10.1084/JEM.180.4.1395>
- Carson, W. E., Lindemann, M. J., Baiocchi, R., Linett, M., Tan, J. C., Chou, C. C., Narula, S., & Caligiuri, M. A. (1995). The Functional Characterization of Interleukin-10 Receptor Expression on Human Natural Killer Cells. *Blood*, 85(12), 3577–3585. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V85.12.3577.BLOODJOURNAL85123577>
- Castriconi, R., Dondero, A., Bellora, F., Moretta, L., Castellano, A., Locatelli, F., Corrias, M. V., Moretta, A., & Bottino, C. (2013). Neuroblastoma-derived TGF- $\beta$ 1 modulates the chemokine receptor repertoire of human resting NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 190(10), 5321–5328. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202693>
- Cayrol, C., & Girard, J. P. (2009). The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(22), 9021–9026. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0812690106>
- Cayrol, C., & Girard, J. P. (2018). Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunological Reviews*, 281(1), 154–168. <https://doi.org/10.1111/IMR.12619>
- Cayrol, C., & Girard, J. P. (2022). Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine*, 156, 155891. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2022.155891>
- Cazzetta, V., Franzese, S., Carezza, C., Della Bella, S., Mikulak, J., & Mavilio, D. (2021). Natural Killer–Dendritic Cell Interactions in Liver Cancer: Implications for Immunotherapy. *Cancers*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13092184>
- Cella, M., Gamini, R., Sécca, C., Collins, P. L., Zhao, S., Peng, V., Robinette, M. L., Schettini, J., Zaitsev, K., Gordon, W., Bando, J. K., Yomogida, K., Cortez, V., Fronick, C., Fulton, R., Lin, L. L., Gilfillan, S., Flavell, R. A., Shan, L., ... Colonna, M. (2019). Subsets of ILC3-ILC1-like cells generate a diversity spectrum of innate lymphoid cells in human mucosal tissues. *Nature Immunology*, 20(8), 980–991. <https://doi.org/10.1038/S41590-019-0425-Y>
- Cella, M., Otero, K., & Colonna, M. (2010). Expansion of human NK-22 cells with IL-7, IL-2, and IL-1 $\beta$  reveals intrinsic functional plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(24), 10961–10966. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1005641107/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Cerboni, C., Fionda, C., Soriani, A., Zingoni, A., Doria, M., Cippitelli, M., & Santoni, A. (2013). The DNA Damage Response: A Common Pathway in the Regulation of NKG2D and DNAM-1 Ligand Expression in Normal, Infected, and Cancer Cells. *Frontiers in Immunology*, 4(JAN). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2013.00508>
- Cerdeira, A. S., Rajakumar, A., Royle, C. M., Lo, A., Husain, Z., Thadhani, R. I., Sukhatme, V. P., Karumanchi, S. A., & Kopcow, H. D. (2013). Conversion of peripheral blood NK cells to a decidual NK-like phenotype by a cocktail of defined factors. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 190(8), 3939–3948. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202582>
- Chace, J. H., Hooker, N. A., Mildenstein, K. L., Krieg, A. M., & Cowdery, J. S. (1997). Bacterial DNA-induced NK cell IFN- $\gamma$  production is dependent on macrophage secretion of IL-12. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 84(2), 185–193. <https://doi.org/10.1006/clin.1997.4380>

- Chaix, J., Tessmer, M. S., Hoebe, K., Fuséri, N., Ryffel, B., Dalod, M., Alexopoulou, L., Beutler, B., Brossay, L., Vivier, E., & Walzer, T. (2008). Cutting edge: Priming of NK cells by IL-18. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 181(3), 1627–1631. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.3.1627>
- Chalifour, A., Jeannin, P., Gauchat, J. F., Blaecke, A., Malissard, M., N'Guyen, T., Thieblemont, N., & Delneste, Y. (2004). Direct bacterial protein PAMP recognition by human NK cells involves TLRs and triggers alpha-defensin production. *Blood*, 104(6), 1778–1783. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2003-08-2820>
- Chambers, A. M., Lupo, K. B., Wang, J., Cao, J., Utturkar, S., Lanman, N. A., Bernal-Crespo, V., Jalal, S., Pine, S. R., Toregrosa-Allen, S., Elzey, B. D., & Matosevic, S. (2022). Engineered natural killer cells impede the immunometabolic CD73-adenosine axis in solid tumors. *ELife*, 11, 73699. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.73699>
- Chambers, A. M., Wang, J., Dao, T. N., Lupo, K. B., Veenhuis, P., Ayers, M. G., Slivova, V., Cohen-Gadol, A. A., & Matosevic, S. (2022). Functional expression of CD73 on human natural killer cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 71(12), 3043–3056. <https://doi.org/10.1007/S00262-022-03219-Z/FIGURES/7>
- Chambers, A. M., Wang, J., Lupo, K. B., Yu, H., Atallah Lanman, N. M., & Matosevic, S. (2018). Adenosinergic Signaling Alters Natural Killer Cell Functional Responses. *Frontiers in Immunology*, 9, 2533. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02533/BIBTEX>
- Chan, A., Hong, D.-L., Atzberger, A., Kollnberger, S., Filer, A. D., Buckley, C. D., McMichael, A., Enver, T., & Bowness, P. (2007). CD56bright Human NK Cells Differentiate into CD56dim Cells: Role of Contact with Peripheral Fibroblasts. *The Journal of Immunology*, 179(1), 89–94. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.179.1.89>
- Chan, C. J., Smyth, M. J., & Martinet, L. (2014). Molecular mechanisms of natural killer cell activation in response to cellular stress. *Cell Death and Differentiation*, 21(1), 5. <https://doi.org/10.1038/CDD.2013.26>
- Chang, C. P., Hu, M. H., Hsiao, Y. P., & Wang, Y. C. (2020). ST2 Signaling in the Tumor Microenvironment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1240, 83–93. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-38315-2\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38315-2_7)
- Chang, J., Xia, Y., Wasserloos, K., Deng, M., Blöse, K. J., Vorp, D. A., Turnquist, H. R., Billiar, T. R., Pitt, B. A., Zhang, M. Z., & Zhang, L. M. (2017). Cyclic stretch induced IL-33 production through HMGB1/TLR-4 signaling pathway in murine respiratory epithelial cells. *PLOS ONE*, 12(9), e0184770. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0184770>
- Chang, R. Q., Zhou, W. J., Li, D. J., & Li, M. Q. (2020). Innate Lymphoid Cells at the Maternal-Fetal Interface in Human Pregnancy. *International Journal of Biological Sciences*, 16(6), 957. <https://doi.org/10.7150/IJBS.38264>
- Chapman, T. L., Heikema, A. P., & Bjorkman, P. J. (1999). The inhibitory receptor LIR-1 uses a common binding interaction to recognize class I MHC molecules and the viral homolog UL18. *Immunity*, 11(5), 603–613. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80135-1](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80135-1)
- Chatrabnous, N., Ghaderi, A., Ariafar, A., Razeghinia, M. S., Nemati, M., & Jafarzadeh, A. (2019). Serum concentration of interleukin-35 and its association with tumor stages and FOXP3 gene polymorphism in patients with prostate cancer. *Cytokine*, 113, 221–227. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2018.07.006>
- Chea, S., Schmutz, S., Berthault, C., Perchet, T., Petit, M., Burlen-Defranoux, O., Goldrath, A. W., Rodewald, H. R., Cumano, A., & Golub, R. (2016). Single-Cell Gene Expression Analyses Reveal Heterogeneous Responsiveness of Fetal Innate Lymphoid Progenitors to Notch Signaling. *Cell Reports*, 14(6), 1500–1516. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2016.01.015>
- Chen, K., Xu, W., Wilson, M., He, B., Miller, N. W., Bengtén, E., Edholm, E. S., Santini, P. A., Rath, P., Chiu, A., Cattalini, M., Litzman, J., Bussel, J. B., Huang, B., Meini, A., Riesbeck, K., Cunningham-Rundles, C., Plebani, A., & Cerutti, A. (2009). Immunoglobulin D enhances immune surveillance by activating antimicrobial, proinflammatory and B cell-stimulating programs in basophils. *Nature Immunology* 2009 10:8, 10(8), 889–898. <https://doi.org/10.1038/ni.1748>
- Chen, L., Huang, H., Zheng, X., Li, Y., Chen, J., Tan, B., Liu, Y., Sun, R., Xu, B., Yang, M., Li, B., Wu, C., Lu, B., & Jiang, J. (2022). IL1R2 increases regulatory T cell population in the tumor microenvironment by enhancing MHC-II expression on cancer-associated fibroblasts. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 10(9), e004585. <https://doi.org/10.1136/JITC-2022-004585>
- Chen, L., Sun, R., Xu, J., Zhai, W., Zhang, D., Yang, M., Yue, C., Chen, Y., Li, S., Turnquist, H., Jiang, J., & Lu, B. (2020). Tumor-derived interleukin-33 promotes tissue-resident CD8+ T cells and is required for checkpoint blockade tumor immunotherapy. *Cancer Immunology Research*, 8(11), 1381. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-19-1024>
- Chen, L., Youssef, Y., Robinson, C., Ernst, G. F., Carson, M. Y., Young, K. A., Scoville, S. D., Zhang, X., Harris, R., Sekhri, P., Mansour, A. G., Chan, W. K., Nalin, A. P., Mao, H. C., Hughes, T., Mace, E. M., Pan, Y., Rustagi, N., Chatterjee, S. S., ... Freud, A. G. (2018). CD56 expression marks human group 2 innate lymphoid cell divergence from a shared NK cell and group 3 innate lymphoid cell developmental pathway. *Immunity*, 49(3), 464. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2018.08.010>
- Chen, S. F., Nieh, S., Jao, S. W., Wu, M. Z., Liu, C. L., Chang, Y. C., & Lin, Y. S. (2013). The paracrine effect of cancer-associated fibroblast-induced interleukin-33 regulates the invasiveness of head and neck squamous cell carcinoma. *The Journal of Pathology*, 231(2), 180–189. <https://doi.org/10.1002/PATH.4226>
- Chen, W., Chen, S., Yan, C., Zhang, Y., Zhang, R., Chen, M., Zhong, S., Fan, W., Zhu, S., Zhang, D., Lu, X., Zhang, J., Huang, Y., Zhu, L., Li, X., Lv, D., Fu, Y., Iv, H., Ling, Z., ... Sun, B. (2022). Allergen protease-activated stress granule assembly and gasdermin D fragmentation control interleukin-33 secretion. *Nature Immunology* 2022 23:7, 23(7), 1021–1030. <https://doi.org/10.1038/S41590-022-01255-6>
- Chen, X., Guo, W., Chang, Y., Chen, J., Kang, P., Yi, X., Cui, T., Guo, S., Xiao, Q., Jian, Z., Li, K., Gao, T., Li, S., Liu, L., & Li, C. (2019). Oxidative stress-induced IL-15 trans-presentation in keratinocytes contributes to CD8+ T cells activation via JAK-STAT pathway in vitiligo. *Free Radical Biology and Medicine*, 139, 80–91. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2019.05.011>
- Cheng, L. sheng, Cheng, Y. feng, Liu, W. ting, Shen, A., Zhang, D., Xu, T., Yin, W., Cheng, M., Ma, X., Wang, F., Zhao, Q., Zeng, X., Zhang, Y., & Shen, G. (2022). A humanized 4-1BB-targeting agonistic antibody exerts potent antitumor activity in colorectal cancer without systemic toxicity. *Journal of Translational Medicine*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12967-022-03619-W>

- Chertova, E., Bergamaschi, C., Chertov, O., Sowder, R., Bear, J., Roser, J. D., Beach, R. K., Lifson, J. D., Felber, B. K., & Pavlakakis, G. N. (2013). Characterization and Favorable in Vivo Properties of Heterodimeric Soluble IL-15-IL-15R $\alpha$  Cytokine Compared to IL-15 Monomer. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(25), 18093. <https://doi.org/10.1074/JBC.M113.461756>
- Chew, V., Chen, J., Lee, D., Loh, E., Lee, J., Lim, K. H., Weber, A., Slankamenac, K., Poon, R. T. P., Yang, H., Ooi, L. L. P. J., Toh, H. C., Heikenwalder, M., Ng, I. O. L., Nardin, A., & Abastado, J. P. (2012). Original article: Chemokine-driven lymphocyte infiltration: an early intratumoural event determining long-term survival in resectable hepatocellular carcinoma. *Gut*, 61(3), 427. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2011-300509>
- Chewning, J. H., Gudme, C. N., Hsu, K. C., Selvakumar, A., & Dupont, B. (2007). KIR2DS1-positive NK cells mediate alloresponse against the C2 HLA-KIR ligand group in vitro. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 179(2), 854–868. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.179.2.854>
- Chiang, E. Y., & Mellman, I. (2022). TIGIT-CD226-PVR axis: advancing immune checkpoint blockade for cancer immunotherapy. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 10(4), e004711. <https://doi.org/10.1136/JITC-2022-004711>
- Chiba, S., Baghdadi, M., Akiba, H., Yoshiyama, H., Kinoshita, I., Dosaka-Akita, H., Fujioka, Y., Ohba, Y., Gorman, J. V., Colgan, J. D., Hirashima, M., Uede, T., Takaoka, A., Yagita, H., & Jinushi, M. (2012). Tumor-infiltrating DCs suppress nucleic acid-mediated innate immune responses through interactions between the receptor TIM-3 and the alarmin HMGB1. *Nature Immunology*, 13(9), 832–842. <https://doi.org/10.1038/NI.2376>
- Chiossone, L., Chaix, J., Fuseri, N., Roth, C., Vivier, E., & Walzer, T. (2009). Maturation of mouse NK cells is a 4-stage developmental program. *Blood*, 113(22), 5488–5496. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-10-187179>
- Cho, M. M., Song, L., Quamine, A. E., Szewc, F., Shi, L., Erbe, A. K., Ebben, J. D., Turicek, D. P., Kline, J. M., Lafeber, E. O., Phillips, M. F., Ceas, A. S., Sondel, P. M., & Capitini, C. M. (2023). CD155 blockade enhances allogeneic natural killer cell-mediated antitumor response against osteosarcoma. *BioRxiv: The Preprint Server for Biology*. <https://doi.org/10.1101/2023.06.07.544144>
- Chocarro, L., Blanco, E., Arasanz, H., Fernández-Rubio, L., Bocanegra, A., Echaide, M., Garnica, M., Ramos, P., Fernández-Hinojal, G., Vera, R., Kochan, G., & Escors, D. (2022). Clinical landscape of LAG-3-targeted therapy. *Immuno-Oncology Technology*, 14, 100079. <https://doi.org/10.1016/J.IOTECH.2022.100079>
- Chockley, P. J., Chen, J., Chen, G., Beer, D. G., Standiford, T. J., & Keshamouni, V. G. (2018). Epithelial-mesenchymal transition leads to NK cell-mediated metastasis-specific immunosurveillance in lung cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(4), 1384–1396. <https://doi.org/10.1172/JCI97611>
- Chockley, P. J., Ibanez-Vega, J., Krenciute, G., Talbot, L. J., & Gottschalk, S. (2023). Synapse-tuned CARs enhance immune cell anti-tumor activity. *Nature Biotechnology* 2023, 1–12. <https://doi.org/10.1038/S41587-022-01650-2>
- Choi, J. K., Dambuza, I. M., He, C., Yu, C. R., Uche, A. N., Mattapallil, M. J., Caspi, R. R., & Egwuagu, C. E. (2017). IL-12p35 Inhibits Neuroinflammation and Ameliorates Autoimmune Encephalomyelitis. *Frontiers in Immunology*, 8(OCT), 5. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.01258/FULL>
- Choi, Y. H., Lim, E. J., Kim, S. W., Moon, Y. W., Park, K. S., & An, H. J. (2019). IL-27 enhances IL-15/IL-18-mediated activation of human natural killer cells. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1), 168. <https://doi.org/10.1186/S40425-019-0652-7>
- Choi, Y. S., Choi, H. J., Min, J. K., Pyun, B. J., Maeng, Y. S., Park, H., Kim, J., Kim, Y. M., & Kwon, Y. G. (2009). Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *Blood*, 114(14), 3117–3126. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-02-203372>
- Chua, H. L., Serov, Y., & Brahmi, Z. (2004). Regulation of FasL expression in natural killer cells. *Human Immunology*, 65(4), 317–327. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2004.01.004>
- Cichocki, F., Wu, C. Y., Zhang, B., Felices, M., Tesi, B., Tuininga, K., Dougherty, P., Taras, E., Hinderlie, P., Blazar, B. R., Bryceson, Y. T., & Miller, J. S. (2018). ARID5B regulates metabolic programming in human adaptive NK cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 215(9), 2379–2395. <https://doi.org/10.1084/JEM.20172168>
- Clark, J. T., Christian, D. A., Gullicksrud, J. A., Perry, J. A., Park, J., Jacquet, M., Tarrant, J. C., Radaelli, E., Silver, J., & Hunter, C. A. (2021). IL-33 promotes innate lymphoid cell-dependent IFN- $\gamma$  production required for innate immunity to *Toxoplasma gondii*. *ELife*, 10. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.65614>
- Clark, J. T., Weizman, O.-E., Aldridge, D. L., Zhou, T., Ring, A. M., Hunter, C. A., Shallberg, L. A., Eberhard, J., Lanzar, Z., Wasche, D., & Huck, J. D. (2023). In brief IL-18BP mediates the balance between protective and pathological immune responses to *Toxoplasma gondii*. *CellReports*, 42, 112147. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112147>
- Clark, R. A., & Kupper, T. S. (2007). IL-15 and dermal fibroblasts induce proliferation of natural regulatory T cells isolated from human skin. *Blood*, 109(1), 194–202. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-02-002873>
- Clavijo-Salomon, M. A., Salcedo, R., Roy, S., Das Neves, R. X., Dzutsev, A., Sales-Campos, H., Borbely, K. S. C., Silla, L., Orange, J. S., Mace, E. M., Barbuto, J. A. M., & Trinchieri, G. (2020). Human NK cells prime inflammatory DC precursors to induce Tc17 differentiation. *Blood Advances*, 4(16), 3990–4006. <https://doi.org/10.1182/BLOODADVANCES.2020002084>
- Cluff, E., Magdaleno, C. C., Fernandez, E., House, T., Swaminathan, S., Varadaraj, A., & Rajasekaran, N. (2022). Hypoxia-inducible factor-1 alpha expression is induced by IL-2 via the PI3K/mTOR pathway in hypoxic NK cells and supports effector functions in NK cells and ex vivo expanded NK cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 71(8), 1989–2005. <https://doi.org/10.1007/S00262-021-03126-9>
- Cohen, E. S., Scott, I. C., Majithiya, J. B., Rapley, L., Kemp, B. P., England, E., Rees, D. G., Overed-Sayer, C. L., Woods, J., Bond, N. J., Veyssier, C. S., Embrey, K. J., Sims, D. A., Snaith, M. R., Vousden, K. A., Strain, M. D., Chan, D. T. Y., Carmen, S., Huntington, C. E., ... Mustelin, T. (2015). Oxidation of the alarmin IL-33 regulates ST2-dependent inflammation. *Nature Communications*, 6. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS9327>
- Cohen, I., Rider, P., Carmi, Y., Braiman, A., Dotan, S., White, M. R., Voronov, E., Martin, M. U., Dinarello, C. A., & Apte, R. N. (2010). Differential release of chromatin-bound IL-1 $\alpha$  discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability to induce sterile inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(6), 2574. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0915018107>

- Colantuoni, M., Hernandez, R. J., Pettinato, E., Basso-Ricci, L., Magnani, L., Andolfi, G., Rigamonti, C., Finardi, A., Romeo, V., Soldi, M., Sergi, L. S., Rocchi, M., Scala, S., Hoffman, H. M., Gregori, S., Kajaste-Rudnitski, A., Sanvito, F., Muzio, L., Naldini, L., ... Mortellaro, A. (2023). Constitutive IL-1RA production by modified immune cells protects against IL-1-mediated inflammatory disorders. *Science Translational Medicine*, 15(698). <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.ADE3856>
- Coles, S. J., Wang, E. C. Y., Man, S., Hills, R. K., Burnett, A. K., Tonks, A., & Darley, R. L. (2011). CD200 expression suppresses natural killer cell function and directly inhibits patient anti-tumor response in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 25(5), 792–799. <https://doi.org/10.1038/LEU.2011.1>
- Collins, P. L., Cella, M., Porter, S. I., Li, S., Gurewitz, G. L., Hong, H. S., Johnson, R. P., Oltz, E. M., & Colonna, M. (2019). Gene Regulatory Programs Conferring Phenotypic Identities to Human NK Cells. *Cell*, 176(1–2), 348–360.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.11.045>
- Collins, S. M., Bakan, C. E., Swartzel, G. D., Hofmeister, C. C., Efebera, Y. A., Kwon, H., Starling, G. C., Ciarlariello, D., Bhaskar, S., Briercheck, E. L., Hughes, T., Yu, J., Rice, A., & Benson, D. M. (2013). Elotuzumab directly enhances NK cell cytotoxicity against myeloma via CS1 ligation: evidence for augmented NK cell function complementing ADCC. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 62(12), 1841–1849. <https://doi.org/10.1007/S00262-013-1493-8>
- Collison, L. W., Chaturvedi, V., Henderson, A. L., Giacomin, P. R., Guy, C., Bankoti, J., Finkelstein, D., Forbes, K., Workman, C. J., Brown, S. A., Rehg, J. E., Jones, M. L., Ni, H. T., Artis, D., Turk, M. J., & Vignali, D. A. A. (2010). IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nature Immunology* 2010 11:12, 11(12), 1093–1101. <https://doi.org/10.1038/ni.1952>
- Collison, L. W., Delgoffe, G. M., Guy, C. S., Vignali, K. M., Chaturvedi, V., Fairweather, D., Satoskar, A. R., Garcia, K. C., Hunter, C. A., Drake, C. G., Murray, P. J., & Vignali, D. A. A. (2012). The composition and signaling of the IL-35 receptor are unconventional. *Nature Immunology*, 13(3), 290. <https://doi.org/10.1038/NI.2227>
- Collison, L. W., Pillai, M. R., Chaturvedi, V., & Vignali, D. A. A. (2009). Regulatory T cell suppression is potentiated by target T cells in a cell contact, IL-35- and IL-10-dependent manner. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 182(10), 6121–6128. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0803646>
- Collison, L. W., Workman, C. J., Kuo, T. T., Boyd, K., Wang, Y., Vignali, K. M., Cross, R., Sehy, D., Blumberg, R. S., & Vignali, D. A. A. (2007). The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, 450(7169), 566–569. <https://doi.org/10.1038/NATURE06306>
- Coll-Miró, M., Francos-Quijorna, I., Santos-Nogueira, E., Torres-Espin, A., Bufler, P., Dinarello, C. A., & López-Vales, R. (2016). Beneficial effects of IL-37 after spinal cord injury in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(5), 1411–1416. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1523212113/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Colomar-Carando, N., Gauthier, L., Merli, P., Loiacono, F., Canevali, P., Falco, M., Galaverna, F., Rossi, B., Bosco, F., Caratini, M., Mingari, M. C., Locatelli, F., Vivier, E., Meazza, R., & Pende, D. (2022). Exploiting Natural Killer Cell Engagers to Control Pediatric B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Immunology Research*, 10(3), 291–302. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-21-0843/675655/AM/EXPLOITING-NATURAL-KILLER-CELL-ENGAGERS-TO-CONTROL>
- Colonna, M. (2018). Innate Lymphoid Cells: Diversity, Plasticity and Unique Functions in Immunity. *Immunity*, 48(6), 1104. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.05.013>
- Colotta, F., Re, F., Muzio, M., Bertini, R., Polentarutti, N., Sironi, M., Giri, J. G., Dower, S. K., Sims, J. E., & Mantovani, A. (1993). Interleukin-1 type II receptor: a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science (New York, N.Y.)*, 261(5120), 472–475. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8332913>
- Comi, M., Avancini, D., Santoni de Sio, F., Villa, M., Uyeda, M. J., Floris, M., Tomasoni, D., Bulfone, A., Roncarolo, M. G., & Gregori, S. (2019). Coexpression of CD163 and CD141 identifies human circulating IL-10-producing dendritic cells (DC-10). *Cellular & Molecular Immunology* 2019 17:1, 17(1), 95–107. <https://doi.org/10.1038/s41423-019-0218-0>
- Cong, J., Wang, X., Zheng, X., Wang, D., Fu, B., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2018). Dysfunction of Natural Killer Cells by FBP1-Induced Inhibition of Glycolysis during Lung Cancer Progression. *Cell Metabolism*, 28(2), 243–255.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.06.021>
- Constantinides, M. G., Gudjonson, H., McDonald, B. D., Ishizuka, I. E., Verhoef, P. A., Dinner, A. R., & Bendelac, A. (2015). PLZF expression maps the early stages of ILC1 lineage development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(16), 5123–5128. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1423244112/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Constantinides, M. G., McDonald, B. D., Verhoef, P. A., & Bendelac, A. (2014). A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature* 2014 508:7496, 508(7496), 397–401. <https://doi.org/10.1038/nature13047>
- Cooper, A. M., Kipnis, A., Turner, J., Magram, J., Ferrante, J., & Orme, I. M. (2002). Mice Lacking Bioactive IL-12 Can Generate Protective, Antigen-Specific Cellular Responses to Mycobacterial Infection Only if the IL-12 p40 Subunit Is Present. *The Journal of Immunology*, 168(3), 1322–1327. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.168.3.1322>
- Cooper, M. A., Elliott, J. M., Keyel, P. A., Yang, L., Carrero, J. A., & Yokoyama, W. M. (2009). Cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(6), 1915. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0813192106>
- Cooper, M. A., Fehniger, T. A., Turner, S. C., Chen, K. S., Ghaehri, B. A., Ghayur, T., Carson, W. E., & Caligiuri, M. A. (2001). Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56bright subset. *Blood*, 97(10), 3146–3151. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V97.10.3146>
- Coquet, J. M., Kyparissoudis, K., Pellicci, D. G., Besra, G., Berzins, S. P., Smyth, M. J., & Godfrey, D. I. (2007). IL-21 is produced by NKT cells and modulates NKT cell activation and cytokine production. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 178(5), 2827–2834. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.178.5.2827>
- Corria-Osorio, J., Carmona, S. J., Stefanidis, E., Andreatta, M., Ortiz-Miranda, Y., Muller, T., Rota, I. A., Crespo, I., Seijo, B., Castro, W., Jimenez-Luna, C., Scarpellino, L., Ronet, C., Spill, A., Lanitis, E., Romero, P., Luther, S. A., Irving, M., & Coukos, G. (2023). Orthogonal cytokine engineering enables novel synthetic effector states escaping canonical exhaustion in tumor-rejecting CD8+ T cells. *Nature Immunology* 2023 24:5, 24(5), 869–883. <https://doi.org/10.1038/s41590-023-01477-2>

- Cortez, V. S., Cervantes-Barragan, L., Robinette, M. L., Bando, J. K., Wang, Y., Geiger, T. L., Gilfillan, S., Fuchs, A., Vivier, E., Sun, J. C., Cella, M., & Colonna, M. (2016). Transforming Growth Factor- $\beta$  Signaling Guides the Differentiation of Innate Lymphoid Cells in Salivary Glands. *Immunity*, 44(5), 1127–1139. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.03.007>
- Cortez, V. S., Fuchs, A., Cella, M., Gilfillan, S., & Colonna, M. (2014). Cutting Edge: Salivary Gland NK Cells Develop Independently of Nfil3 in Steady-State. *The Journal of Immunology*, 192(10), 4487–4491. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1303469>
- Cortez, V. S., Ulland, T. K., Cervantes-Barragan, L., Bando, J. K., Robinette, M. L., Wang, Q., White, A. J., Gilfillan, S., Cella, M., & Colonna, M. (2017). SMAD4 impedes the conversion of NK cells into ILC1-like cells by curtailing non-canonical TGF- $\beta$  signaling. *Nature Immunology*, 18(9), 995–1003. <https://doi.org/10.1038/NI.3809>
- Cosman, D., Müllberg, J., Sutherland, C. L., Chin, W., Armitage, R., Fanslow, W., Kubin, M., & Chalupny, N. J. (2001). ULBPs, novel MHC class I-related molecules, bind to CMV glycoprotein UL16 and stimulate NK cytotoxicity through the NKG2D receptor. *Immunity*, 14(2), 123–133. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(01\)00095-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(01)00095-4)
- Costello, R. T., Knoblauch, B., Sanchez, C., Mercier, D., Le Treut, T., & Sébahoun, G. (2012). Expression of natural killer cell activating receptors in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Immunology*, 135(2), 151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03521.x>
- Coudert, J. D., Scarpellino, L., Gros, F., Vivier, E., & Held, W. (2008). Sustained NKG2D engagement induces cross-tolerance of multiple distinct NK cell activation pathways. *Blood*, 111(7), 3571–3578. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-07-100057>
- Cózar, B., Greppi, M., Carpentier, S., Narni-Mancinelli, E., Chiossone, L., & Vivier, E. (2021). Tumor-infiltrating natural killer cells. *Cancer Discovery*, 11(1), 34. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0655>
- Crinier, A., Milpied, P., Escalière, B., Piperoglou, C., Galluso, J., Balsamo, A., Spinelli, L., Cervera-Marzal, I., Ebbo, M., Girard-Madoux, M., Jaeger, S., Bollon, E., Hamed, S., Hardwigen, J., Ugolini, S., Vély, F., Narni-Mancinelli, E., & Vivier, E. (2018). High-Dimensional Single-Cell Analysis Identifies Organ-Specific Signatures and Conserved NK Cell Subsets in Humans and Mice. *Immunity*, 49(5), 971–986.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.09.009>
- Croft, M. (2003). Co-stimulatory members of the TNFR family: keys to effective T-cell immunity? *Nature Reviews. Immunology*, 3(8), 609–620. <https://doi.org/10.1038/NRI1148>
- Crozat, K., Guiton, R., Contreras, V., Feuillet, V., Dutertre, C. A., Ventre, E., Manh, T. P. V., Baranek, T., Storset, A. K., Marvel, J., Boudinot, P., Hosmalin, A., Schwartz-Cornil, I., & Dalod, M. (2010). The XC chemokine receptor 1 is a conserved selective marker of mammalian cells homologous to mouse CD8 $\alpha$  dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 207(6), 1283. <https://doi.org/10.1084/JEM.20100223>
- Cua, D. J., Sherlock, J., Chen, Y., Murphy, C. A., Joyce, B., Seymour, B., Lucian, L., To, W., Kwan, S., Churakova, T., Zurawski, S., Wiekowski, M., Lira, S. A., Gorman, D., Kastelein, R. A., & Sedgwick, J. D. (2003). Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature* 2003 421:6924, 421(6924), 744–748. <https://doi.org/10.1038/nature01355>
- Cuff, A. O., Sillito, F., Dertschnig, S., Hall, A., Luong, T. V., Chakraverty, R., & Male, V. (2019). The Obese Liver Environment Mediates Conversion of NK Cells to a Less Cytotoxic ILC1-Like Phenotype. *Frontiers in Immunology*, 10, 2180. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02180/BIBTEX>
- Cui, G., Qi, H., Gundersen, M. D., Yang, H., Christiansen, I., Sørbye, S. W., Goll, R., & Florholmen, J. (2015a). Dynamics of the IL-33/ST2 network in the progression of human colorectal adenoma to sporadic colorectal cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 64(2), 181–190. <https://doi.org/10.1007/S00262-014-1624-X>
- Cursons, J., Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Foroutan, M., Anderson, A., Hollande, F., Hediyyeh-Zadeh, S., Behren, A., Huntington, N. D., & Davis, M. J. (2019). A Gene Signature Predicting Natural Killer Cell Infiltration and Improved Survival in Melanoma Patients. *Cancer Immunology Research*, 7(7), 1162–1174. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0500>
- Cuturi, M. C., Anegón, I., Sherman, F., Loudon, R., Clark, S. C., Perussia, B., & Trinchieri, G. (1989). Production of hematopoietic colony-stimulating factors by human natural killer cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 169(2), 569. <https://doi.org/10.1084/JEM.169.2.569>
- D'andrea, A., Aste-Amezaga, M., Valiante, N. M., Ma, X., Kubin, M., & Trinchieri, G. (1993). Interleukin 10 (IL-10) inhibits human lymphocyte interferon gamma-production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL-12 synthesis in accessory cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 178(3), 1041–1048. <https://doi.org/10.1084/JEM.178.3.1041>
- Da Silva, I. P., Gallois, A., Jimenez-Baranda, S., Khan, S., Anderson, A. C., Kuchroo, V. K., Osman, I., & Bhardwaj, N. (2014). Reversal of NK-cell exhaustion in advanced melanoma by Tim-3 blockade. *Cancer Immunology Research*, 2(5), 410–422. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0171>
- Da, Y., Liu, Y., Hu, Y., Liu, W., Ma, J., Lu, N., Zhang, C., & Zhang, C. (2022). STING agonist cGAMP enhances anti-tumor activity of CAR-NK cells against pancreatic cancer. *Oncoimmunology*, 11(1). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2022.2054105>
- Dahlgren, M. W., Jones, S. W., Cautivo, K. M., Dubinin, A., Ortiz-Carpena, J. F., Farhat, S., Yu, K. S., Lee, K., Wang, C., Molofsky, A. V., Tward, A. D., Krummel, M. F., Peng, T., & Molofsky, A. B. (2019). Adventitial Stromal Cells Define Group 2 Innate Lymphoid Cell Tissue Niches. *Immunity*, 50(3), 707–722.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.02.002>
- Dahlvang, J. D., Dick, J. K., Sangala, J. A., Kennedy, P. R., Pomeroy, E. J., Snyder, K. M., Moushon, J. M., Thefaine, C. E., Wu, J., Hamilton, S. E., Felices, M., Miller, J. S., Walcheck, B., Webber, B. R., Moriarity, B. S., & Hart, G. T. (2023). Ablation of SYK Kinase from Expanded Primary Human NK Cells via CRISPR/Cas9 Enhances Cytotoxicity and Cytokine Production. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 210(8). <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.2200488>
- Daly, J., Sarkar, S., Natoni, A., Stark, J. C., Riley, N. M., Bertozzi, C. R., Carlsten, M., & O'Dwyer, M. E. (2022). Targeting hypersialylation in multiple myeloma represents a novel approach to enhance NK cell-mediated tumor responses. *Blood Advances*, 6(11), 3352–3366. <https://doi.org/10.1182/BLOODADVANCES.2021006805>
- De Andrade, L. F., En Tay, R., Pan, D., Luoma, A. M., Ito, Y., Badrinath, S., Tsoucas, D., Franz, B., May, K. F., Harvey, C. J., Kobold, S., Pyrdol, J. W., Yoon, C., Yuan, G. C., Hodi, F. S., Dranoff, G., & Wucherpfennig, K. W. (2018). Antibody-mediated inhibition of MICA and MICB shedding promotes NK cell-driven tumor immunity. *Science (New York, N.Y.)*, 359(6383), 1537. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAO0505>

- De Andrade, L. F., Lu, Y., Luoma, A., Ito, Y., Pan, D., Pyrdol, J. W., Yoon, C. H., Yuan, G. C., & Wucherpfennig, K. W. (2019). Discovery of specialized NK cell populations infiltrating human melanoma metastases. *JCI Insight*, 4(23). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.133103>
- de Groen, R. A., Boltjes, A., Hou, J., Liu, B. S., Mcphee, F., Friborg, J., Janssen, H. L. A., & Boonstra, A. (2015). IFN- $\lambda$ -mediated IL-12 production in macrophages induces IFN- $\gamma$  production in human NK cells. *European Journal of Immunology*, 45(1), 250–259. <https://doi.org/10.1002/EJI.201444903>
- de Kruijf, E. M., Sajet, A., van Nes, J. G. H., Natanov, R., Putter, H., Smit, V. T. H. B. M., Liefers, G. J., van den Elsen, P. J., van de Velde, C. J. H., & Kuppen, P. J. K. (2010). HLA-E and HLA-G Expression in Classical HLA Class I-Negative Tumors Is of Prognostic Value for Clinical Outcome of Early Breast Cancer Patients. *The Journal of Immunology*, 185(12), 7452–7459. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1002629>
- De Maria, A., Bozzano, F., Cantoni, C., & Moretta, L. (2011). Revisiting human natural killer cell subset function revealed cytolytic CD56dimCD16+ NK cells as rapid producers of abundant IFN- $\gamma$  on activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(2), 728–732. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1012356108/-/DCSUPPLEMENTAL>
- De Monte, L., Wörmann, S., Brunetto, E., Heltai, S., Magliacane, G., Reni, M., Paganoni, A. M., Recalde, H., Mondino, A., Falconi, M., Aleotti, F., Balzano, G., Algül, H., Doglioni, C., & Protti, M. P. (2016). Basophil recruitment into tumor-draining lymph nodes correlates with Th2 inflammation and reduced survival in pancreatic cancer patients. *Cancer Research*, 76(7), 1792–1803. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1801-T/652039/AM/BASOPHIL-RECRUITMENT-INTO-TUMOR-DRAINING-LYMPH>
- De Poot, S. A. H., & Bovenschen, N. (2014). Granzyme M: behind enemy lines. *Cell Death & Differentiation* 2014 21:3, 21(3), 359–368. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.189>
- De Smedt, T., Van Mechelen, M., De Becker, G., Urbain, J., Leo, O., & Moser, M. (1997). Effect of interleukin-10 on dendritic cell maturation and function. *European Journal of Immunology*, 27(5), 1229–1235. <https://doi.org/10.1002/EJI.1830270526>
- Deauvieu, F., Ollion, V., Doffin, A. C., Achard, C., Fonteneau, J. F., Verronese, E., Durand, I., Ghittoni, R., Marvel, J., Dezutter-Dambuyant, C., Walzer, T., Vie, H., Perrot, I., Goutagny, N., Caux, C., & Valladeau-Guilemond, J. (2015). Human natural killer cells promote cross-presentation of tumor cell-derived antigens by dendritic cells. *International Journal of Cancer*, 136(5), 1085–1094. <https://doi.org/10.1002/IJC.29087>
- Deblaker-Hohe, D. F., Yamauchi, A., Yu, C. R., Horvath-Arcidiacono, J. A., & Bloom, E. T. (1995). IL-12 synergizes with IL-2 to induce lymphokine-activated cytotoxicity and perforin and granzyme gene expression in fresh human NK cells. *Cellular Immunology*, 165(1), 33–43. <https://doi.org/10.1006/CIMM.1995.1184>
- Del Zotto, G., Antonini, F., Pesce, S., Moretta, F., Moretta, L., & Marcenaro, E. (2020). Comprehensive Phenotyping of Human PB NK Cells by Flow Cytometry. *Cytometry. Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 97(9), 891–899. <https://doi.org/10.1002/CYTO.A.24001>
- Delahaye, N. F., Rusakiewicz, S., Martins, I., Ménard, C., Roux, S., Lyonnet, L., Paul, P., Sarabi, M., Chaput, N., Semeraro, M., Minard-Colin, V., Poirier-Colame, V., Chaba, K., Flament, C., Baud, V., Authier, H., Kerdine-Römer, S., Pallardy, M., Cremer, I., ... Zitvogel, L. (2011). Alternatively spliced NKp30 isoforms affect the prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Nature Medicine*, 17(6), 700–707. <https://doi.org/10.1038/NM.2366>
- Delconte, R. B., Kolesnik, T. B., Dagley, L. F., Rautela, J., Shi, W., Putz, E. M., Stannard, K., Zhang, J. G., Teh, C., Firth, M., Ushiki, T., Andoniou, C. E., Degli-Esposti, M. A., Sharp, P. P., Sanvitali, C. E., Infusini, G., Liao, N. P. D., Linossi, E. M., Burns, C. J., ... Huntington, N. D. (2016). CIS is a potent checkpoint in NK cell-mediated tumor immunity. *Nature Immunology* 2016 17:7, 17(7), 816–824. <https://doi.org/10.1038/ni.3470>
- Demaria, O., Cornen, S., Daëron, M., Morel, Y., Medzhitov, R., & Vivier, E. (2019). Harnessing innate immunity in cancer therapy. *Nature* 2019 574:7776, 574(7776), 45–56. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1593-5>
- Demaria, O., Gauthier, L., Debroas, G., & Vivier, E. (2021). Natural killer cell engagers in cancer immunotherapy: Next generation of immunology treatments. *European Journal of Immunology*, 51(8), 1934–1942. <https://doi.org/10.1002/EJI.202048953>
- Demaria, O., Gauthier, L., Vetzizou, M., Blanchard Alvarez, A., Vagne, C., Habif, G., Batista, L., Baron, W., Belaïd, N., Girard-Madoux, M., Cesari, C., Caratini, M., Bosco, F., Benac, O., Lopez, J., Fenis, A., Galluso, J., Trichard, S., Carrette, B., ... Vivier, E. (2022). Antitumor immunity induced by antibody-based natural killer cell engager therapeutics armed with not-alpha IL-2 variant. *Cell Reports Medicine*, 3(10), 100783. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100783>
- DeNardo, D. G., Barreto, J. B., Andreu, P., Vasquez, L., Tawfik, D., Kolhatkar, N., & Coussens, L. M. (2009). CD4(+) T cells regulate pulmonary metastasis of mammary carcinomas by enhancing protumor properties of macrophages. *Cancer Cell*, 16(2), 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.CCR.2009.06.018>
- Denkert, C., von Minckwitz, G., Darb-Esfahani, S., Lederer, B., Heppner, B. I., Weber, K. E., Budczies, J., Huober, J., Klauschen, F., Furlanetto, J., Schmitt, W. D., Blohmer, J. U., Karn, T., Pfitzner, B. M., Kümmel, S., Engels, K., Schneeweiss, A., Hartmann, A., Noske, A., ... Loibl, S. (2018). Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *The Lancet. Oncology*, 19(1), 40–50. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30904-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30904-X)
- Deuse, T., Hu, X., Agbor-Enoh, S., Jang, M. K., Alawi, M., Saygi, C., Gravina, A., Tediashvili, G., Nguyen, V. Q., Liu, Y., Valantine, H., Lanier, L. L., & Schrepfer, S. (2021). The SIRP $\alpha$ -CD47 immune checkpoint in NK cells. *Journal of Experimental Medicine*, 218(3). <https://doi.org/10.1084/JEM.20200839/211668>
- Devergne, O., Birkenbach, M., & Kieff, E. (1997). Epstein-Barr virus-induced gene 3 and the p35 subunit of interleukin 12 form a novel heterodimeric hematopoietin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(22), 12041. <https://doi.org/10.1073/PNAS.94.22.12041>
- Devergne, O., Coulomb-L'Herminé, A., Capel, F., Moussa, M., & Capron, F. (2001). Expression of Epstein-Barr virus-induced gene 3, an interleukin-12 p40-related molecule, throughout human pregnancy: involvement of syncytiotrophoblasts and extravillous trophoblasts. *The American Journal of Pathology*, 159(5), 1763–1776. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63023-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63023-4)
- Devergne, O., Hummel, M., Koeppen, H., Le Beau, M. M., Nathanson, E. C., Kieff, E., & Birkenbach, M. (1996). A novel interleukin-12 p40-related protein induced by latent Epstein-Barr virus infection in B lymphocytes. *Journal of Virology*, 70(2), 1143. <https://doi.org/10.1128/JVI.70.2.1143-1153.1996>

- Dharmadhikari, B., Wu, M., Abdullah, N. S., Rajendran, S., Ishak, N. D., Nickles, E., Harfuddin, Z., & Schwarz, H. (2016). CD137 and CD137L signals are main drivers of type 1, cell-mediated immune responses. *Oncoimmunology*, 5(4), 1113367. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1113367>
- Di Matteo, S., Munari, E., Fiore, P. F., Santopolo, S., Sampaoli, C., Pelosi, A., Chouaib, S., Tumino, N., Vacca, P., Mariotti, F. R., Ebert, S., Machwirth, M., Haas, D., Pezzullo, M., Pietra, G., Grottoli, M., Buart, S., Mortier, E., Maggi, E., ... Azzarone, B. (2023). The roles of different forms of IL-15 in human melanoma progression. *Frontiers in Immunology*, 14, 1183668. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1183668/FULL>
- Diefenbach, A., Jensen, E. R., Jamieson, A. M., & Raulet, D. H. (2001). Rae1 and H60 ligands of the NKG2D receptor stimulate tumour immunity. *Nature*, 413(6852), 165–171. <https://doi.org/10.1038/35093109>
- Diermayr, S., Himmelreich, H., Durovic, B., Mathys-Schneeberger, A., Siegler, U., Langenkamp, U., Hofsteenge, J., Gratwohl, A., Tichelli, A., Paluszewska, M., Wiktor-Jedrzejczak, W., Kalberer, C. P., & Wodnar-Filipowicz, A. (2008). NKG2D ligand expression in AML increases in response to HDAC inhibitor valproic acid and contributes to allorecognition by NK-cell lines with single KIR-HLA class I specificities. *Blood*, 111(3), 1428–1436. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-07-101311>
- Dinarello, C. A. (1999). Interleukin-18. *Methods (San Diego, Calif.)*, 19(1), 121–132. <https://doi.org/10.1006/METH.1999.0837>
- Dinarello, C. A. (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological Reviews*, 281(1), 8. <https://doi.org/10.1111/IMR.12621>
- Dinarello, C. A., Nold-Petry, C., Nold, M., Fujita, M., Li, S., Kim, S., & Bufler, P. (2016). Suppression of Innate Inflammation and Immunity by Interleukin Family Member Interleukin-37. *European Journal of Immunology*, 46(5), 1067. <https://doi.org/10.1002/EJL.201545828>
- Dixon, K. O., van der Kooij, S. W., Vignali, D. A. A., & van Kooten, C. (2015). Human tolerogenic dendritic cells produce IL-35 in the absence of other IL-12 family members. *European Journal of Immunology*, 45(6), 1736–1747. <https://doi.org/10.1002/EJL.201445217>
- Dogra, P., Rancan, C., Ma, W., Toth, M., Senda, T., Carpenter, D. J., Kubota, M., Matsumoto, R., Thapa, P., Szabo, P. A., Li Poon, M. M., Li, J., Arakawa-Hoyt, J., Shen, Y., Fong, L., Lanier, L. L., & Farber, D. L. (2020). Tissue Determinants of Human NK Cell Development, Function, and Residence. *Cell*, 180(4), 749–763.e13. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.01.022>
- Dominguez, D., Ye, C., Geng, Z., Chen, S., Fan, J., Qin, L., Long, A., Wang, L., Zhang, Z., Zhang, Y., Fang, D., Kuzel, T. M., & Zhang, B. (2017). Exogenous IL-33 Restores Dendritic Cell Activation and Maturation in Established Cancer. *The Journal of Immunology*, 198(3), 1365–1375. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1501399>
- Donatelli, S. S., Zhou, J. M., Gilvary, D. L., Eksioğlu, E. A., Chen, X., Cress, W. D., Haura, E. B., Schabath, M. B., Coppola, D., Wei, S., & Djeu, J. Y. (2014). TGF- $\beta$ -inducible microRNA-183 silences tumor-associated natural killer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(11), 4203–4208. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1319269111/SUPPL\\_FILE/PNAS.201319269SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1319269111/SUPPL_FILE/PNAS.201319269SI.PDF)
- Dong, H., Ham, J. D., Hu, G., Xie, G., Vergara, J., Liang, Y., Ali, A., Tarannum, M., Donner, H., Baginska, J., Abdulhamid, Y., Dinh, K., Soiffer, R. J., Ritz, J., Glimcher, L. H., Chen, J., & Romee, R. (2022). Memory-like NK cells armed with a neoepitope-specific CAR exhibit potent activity against NPM1 mutated acute myeloid leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(25), e2122379119. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2122379119/SUPPL\\_FILE/PNAS.2122379119.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2122379119/SUPPL_FILE/PNAS.2122379119.SAPP.PDF)
- Dong, W., Wu, X., Ma, S., Wang, Y., Nalin, A. P., Zhu, Z., Zhang, J., Benson, D. M., He, K., Caligiuri, M. A., & Yu, J. (2019). The mechanism of anti-pd-1 antibody efficacy against pd-1–negative tumors identifies nk cells expressing pd-1 as a cytolytic effector. *Cancer Discovery*, 9(10), 1422–1437. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1259/42867/AM/THE-MECHANISM-OF-ANTI-PD-L1-ANTIBODY-EFFICACY>
- Dong, Y., Hu, H., Fu, D., Zheng, S., Wang, Q., Keshav, K. C., Song, X., & Tian, Z. (2021). Serum Expression of IL-33 and ST2 in Patients with Psoriasis Vulgaris. *Archives of Iranian Medicine*, 24(9), 689–695. <https://doi.org/10.34172/AIM.2021.99>
- Dorner, B. G., Scheffold, A., Rolph, M. S., Hüser, M. B., Kaufmann, S. H. E., Radbruch, A., Flesch, I. E. A., & Kroczyk, R. A. (2002). MIP-1alpha, MIP-1beta, RANTES, and ATAC/lymphotactin function together with IFN-gamma as type 1 cytokines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(9), 6181–6186. <https://doi.org/10.1073/PNAS.092141999>
- Dou, Y., Fu, B., Sun, R., Li, W., Hu, W., Tian, Z., & Wei, H. (2015). Influenza Vaccine Induces Intracellular Immune Memory of Human NK Cells. *PLOS ONE*, 10(3), e0121258. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0121258>
- Dougall, W. C., Kurtulus, S., Smyth, M. J., & Anderson, A. C. (2017). TIGIT and CD96: new checkpoint receptor targets for cancer immunotherapy. *Immunological Reviews*, 276(1), 112–120. <https://doi.org/10.1111/IMR.12518>
- Drake, P. M., Gunn, M. D., Charo, I. F., Tsou, C. L., Zhou, Y., Huang, L., & Fisher, S. J. (2001). Human Placental Cytotrophoblasts Attract Monocytes and Cd56bright Natural Killer Cells via the Actions of Monocyte Inflammatory Protein 1 $\alpha$ . *The Journal of Experimental Medicine*, 193(10), 1199. <https://doi.org/10.1084/JEM.193.10.1199>
- Dreis, C., Ottenlinger, F. M., Putyrski, M., Ernst, A., Huhn, M., Schmidt, K. G., Pfeilschifter, J. M., & Radeke, H. H. (2019). Tissue cytokine IL-33 modulates the cytotoxic CD8T lymphocyte activity during nutrient deprivation by regulation of lineage-specific differentiation programs. *Frontiers in Immunology*, 10, 464730. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01698/BIBTEX>
- Duault, C., Betous, D., Bezombes, C., Roga, S., Cayrol, C., Girard, J. P., Fournié, J. J., & Poupot, M. (2017). IL-33-expanded human V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells have anti-lymphoma effect in a mouse tumor model. *European Journal of Immunology*, 47(12), 2137–2141. <https://doi.org/10.1002/EJL.201747093>
- Dubois, S., Mariner, J., Waldmann, T. A., & Tagaya, Y. (2002). IL-15 $\alpha$  recycles and presents IL-15 in trans to neighboring cells. *Immunity*, 17(5), 537–547. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(02\)00429-6](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00429-6)
- Dulphy, N., Haas, P., Busson, M., Belhadji, S., Peffault de Latour, R., Robin, M., Carmagnat, M., Loiseau, P., Tamouza, R., Scieux, C., Rabian, C., Di Santo, J. P., Charron, D., Janin, A., Socié, G., & Toubert, A. (2008). An unusual CD56(bright) CD16(low) NK cell subset dominates the early posttransplant period following HLA-matched hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 181(3), 2227–2237. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.3.2227>

- Dunn, G. P., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2004). The three Es of cancer immunoediting. *Annual Review of Immunology*, 22, 329–360. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.22.012703.104803>
- Dupage, M., & Bluestone, J. A. (2016). Harnessing the plasticity of CD4(+) T cells to treat immune-mediated disease. *Nature Reviews Immunology*, 16(3), 149–163. <https://doi.org/10.1038/NRI.2015.18>
- Dutta, A., Banerjee, A., Saikia, N., Phookan, J., Baruah, M. N., & Baruah, S. (2015). Negative regulation of natural killer cell in tumor tissue and peripheral blood of oral squamous cell carcinoma. *Cytokine*, 76(2), 123–130. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2015.09.006>
- Dwyer, G. K., D’Cruz, L. M., & Turnquist, H. R. (2022). Emerging Functions of IL-33 in Homeostasis and Immunity. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-101320-124243>, 40, 15–43. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-101320-124243>
- Dwyer, L. J., Maheshwari, S., Levy, E., Poznansky, M. C., Whalen, M. J., & Sîrbulescu, R. F. (2023). B cell treatment promotes a neuroprotective microenvironment after traumatic brain injury through reciprocal immunomodulation with infiltrating peripheral myeloid cells. *Journal of Neuroinflammation*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12974-023-02812-Y>
- Eagle, R., Jafferji, I., & Barrow, A. (2009). Beyond Stressed Self: Evidence for NKG2D Ligand Expression on Healthy Cells. *Current Immunology Reviews*, 5(1), 22–34. <https://doi.org/10.2174/157339509787314369>
- Earls, R. H., & Lee, J. K. (2020). The role of natural killer cells in Parkinson’s disease. *Experimental & Molecular Medicine* 2020 52:9, 52(9), 1517–1525. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-00505-7>
- Eberl, G., Colonna, M., Santo, J. P. D., & McKenzie, A. N. J. (2015). Innate Lymphoid Cells: a new paradigm in immunology. *Science (New York, N.Y.)*, 348(6237), aaa6566. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAA6566>
- Eckelhart, E., Warsch, W., Zebedin, E., Simma, O., Stoiber, D., Kolbe, T., Rüllicke, T., Mueller, M., Casanova, E., & Sexl, V. (2011). A novel Ncr1-Cre mouse reveals the essential role of STAT5 for NK-cell survival and development. *Blood*, 117(5), 1565–1573. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2010-06-291633>
- Edlich, B., Ahlenstiel, G., Azpiroz, A. Z., Stoltzfus, J., Noureddin, M., Serti, E., Feld, J. J., Liang, T. J., Rotman, Y., & Rehmann, B. (2012). Early changes in interferon signaling define natural killer cell response and refractoriness to interferon-based therapy of hepatitis C patients. *Hepatology*, 55(1), 39–48. <https://doi.org/10.1002/HEP.24628>
- Egwuagu, C. E., Yu, C. R., Sun, L., & Wang, R. (2015). Interleukin 35: Critical Regulator of Immunity and Lymphocyte-mediated Diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 26(5), 587. <https://doi.org/10.1016/J.CYTOGFR.2015.07.013>
- Eissmann, M. F., Dijkstra, C., Jarnicki, A., Pesse, T., Brunner, J., Poh, A. R., Etemadi, N., Tsantikos, E., Thiem, S., Huntington, N. D., Hibbs, M. L., Boussioutas, A., Grimbaldston, M. A., Buchert, M., O’Donoghue, R. J. J., Masson, F., & Ernst, M. (2019). IL-33-mediated mast cell activation promotes gastric cancer through macrophage mobilization. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/S41467-019-10676-1>
- Eissmann, P., Beauchamp, L., Wooters, J., Tilton, J. C., Long, E. O., & Watzl, C. (2005). Molecular basis for positive and negative signaling by the natural killer cell receptor 2B4 (CD244). *Blood*, 105(12), 4722–4729. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2004-09-3796>
- El Kazafy, S. A., Fouad, Y. M., Said, A. F., Assal, H. H., Ahmed, A. E., El Askary, A., Ali, T. M., & Ahmed, O. M. (2023). Relation between Cytokine Levels and Pulmonary Dysfunction in COVID-19 Patients: A Case-Control Study. *Journal of Personalized Medicine*, 13(1), 34. <https://doi.org/10.3390/JPM13010034>
- Elboim, M., Gazit, R., Gur, C., Ghadially, H., Betsler-Cohen, G., & Mandelboim, O. (2010). Tumor Immunoediting by Nkp46. *The Journal of Immunology*, 184(10), 5637–5644. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0901644>
- Elias, S., Yamin, R., Golomb, L., Tsukerman, P., Stanietsky-Kaynan, N., Ben-Yehuda, D., & Mandelboim, O. (2014). Immune evasion by oncogenic proteins of acute myeloid leukemia. *Blood*, 123(10), 1535–1543. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2013-09-526590>
- Elliott, J. M., & Yokoyama, W. M. (2011). Unifying concepts of MHC-dependent natural killer cell education. *Trends in Immunology*, 32(8), 364–372. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2011.06.001>
- Elliott, J. M., Wahle, J. A., & Yokoyama, W. M. (2010). MHC class I-deficient natural killer cells acquire a licensed phenotype after transfer into an MHC class I-sufficient environment. *Journal of Experimental Medicine*, 207(10), 2073–2079. <https://doi.org/10.1084/JEM.20100986>
- Elmas, E., Saljoughian, N., de Souza Fernandes Pereira, M., Tullius, B. P., Sorathia, K., Nakkula, R. J., Lee, D. A., & Naeimi Kararoudi, M. (2022). CRISPR Gene Editing of Human Primary NK and T Cells for Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Oncology*, 12, 834002. <https://doi.org/10.3389/FONC.2022.834002/BIBTEX>
- Elpek, K. G., Rubinstein, M. P., Bellemare-Pelletier, A., Goldrath, A. W., & Turley, S. J. (2010). Mature natural killer cells with phenotypic and functional alterations accumulate upon sustained stimulation with IL-15/IL-15Ralpha complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(50), 21647–21652. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1012128107>
- El-Sherbiny, Y. M., Meade, J. L., Holmes, T. D., McGonagle, D., Mackie, S. L., Morgan, A. W., Cook, G., Feyler, S., Richards, S. J., Davies, F. E., Morgan, G. J., & Cook, G. P. (2007). The requirement for DNAM-1, NKG2D, and Nkp46 in the natural killer cell-mediated killing of myeloma cells. *Cancer Research*, 67(18), 8444–8449. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-4230>
- Enoksson, M., Lyberg, K., Möller-Westerberg, C., Fallon, P. G., Nilsson, G., & Lunderius-Andersson, C. (2011). Mast cells as sensors of cell injury through IL-33 recognition. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 186(4), 2523–2528. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1003383>
- Erman, B., Bilic, I., Hirschmugl, T., Salzer, E., Çağdas, D., Esenboga, S., Akcoren, Z., Sanal, O., İlhan, T., & Boztug, K. (2015). Combined immunodeficiency with CD4 lymphopenia and sclerosing cholangitis caused by a novel loss-of-function mutation affecting IL21R. *Haematologica*, 100(6), e216. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2014.120980>
- Esebanmen, G. E., & Langridge, W. H. R. (2017). The role of TGF-beta signaling in dendritic cell tolerance. *Immunologic Research*, 65(5), 987–994. <https://doi.org/10.1007/S12026-017-8944-9/METRICAL>



- Esin, S., Batoni, G., Counoupas, C., Stringaro, A., Brancatisano, F. L., Colone, M., Maisetta, G., Florio, W., Arancia, G., & Campa, M. (2008). Direct binding of human NK cell natural cytotoxicity receptor NKP44 to the surfaces of mycobacteria and other bacteria. *Infection and Immunity*, 76(4), 1719–1727. <https://doi.org/10.1128/IAI.00870-07>
- Esplugues, E., Sancho, D., Vega-Ramos, J., Martínez-A, C., Syrbe, U., Hamann, A., Engel, P., Sánchez-Madrid, F., & Lauzurica, P. (2003). Enhanced antitumor immunity in mice deficient in CD69. *The Journal of Experimental Medicine*, 197(9), 1093–1106. <https://doi.org/10.1084/JEM.20021337>
- Estella, E., McKenzie, M. D., Catterall, T., Sutton, V. R., Bird, P. I., Trapani, J. A., Kay, T. W., & Thomas, H. E. (2006). Granzyme B-mediated death of pancreatic beta-cells requires the proapoptotic BH3-only molecule bid. *Diabetes*, 55(8), 2212–2219. <https://doi.org/10.2337/DB06-0129>
- Ewen, E. M., Pahl, J. H. W., Miller, M., Watzl, C., & Cerwenka, A. (2018). KIR downregulation by IL-12/15/18 unleashes human NK cells from KIR/HLA-I inhibition and enhances killing of tumor cells. *European Journal of Immunology*, 48(2), 355–365. <https://doi.org/10.1002/EJI.201747128>
- Fang, M., Li, Y., Huang, K., Qi, S., Zhang, J., Zgodzinski, W., Majewski, M., Wallner, G., Gozdz, S., Macek, P., Kowalik, A., Pasiarski, M., Grywalska, E., Vatan, L., Nagarsheth, N., Li, W., Zhao, L., Kryczek, I., Wang, G., ... Wang, L. (2017). IL33 Promotes Colon Cancer Cell Stemness via JNK Activation and Macrophage Recruitment. *Cancer Research*, 77(10), 2735–2745. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1602>
- Fangazio, M., Ladewig, E., Gomez, K., Garcia-Ibanez, L., Kumar, R., Teruya-Feldstein, J., Rossi, D., Filip, I., Pan-Hammarström, Q., Inghirami, G., Boldorini, R., Ott, G., Staiger, A. M., Chapuy, B., Gaidano, G., Bhagat, G., Basso, K., Rabadan, R., Pasqualucci, L., & Dalla-Favera, R. (2021). Genetic mechanisms of HLA-I loss and immune escape in diffuse large B cell lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(22). <https://doi.org/10.1073/PNAS.2104504118/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Farber, D. L., Yudanin, N. A., & Restifo, N. P. (2014). Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 14(1), 24–35. <https://doi.org/10.1038/NRI3567>
- Farias, A. S., Spagnol, G. S., Bordeaux-Rego, P., Oliveira, C. O. F., Fontana, A. G. M., de Paula, R. F. O., Santos, M. P. A., Pradella, F., Moraes, A. S., Oliveira, E. C., Longhini, A. L. F., Rezende, A. C. S., Vaisberg, M. W., & Santos, L. M. B. (2013). Vitamin D3 Induces IDO + Tolerogenic DCs and Enhances Treg, Reducing the Severity of EAE. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 19(4), 269. <https://doi.org/10.1111/CNS.12071>
- Fathman, J. W., Bhattacharya, D., Inlay, M. A., Seita, J., Karsunky, H., & Weissman, I. L. (2011). Identification of the earliest natural killer cell-committed progenitor in murine bone marrow. *Blood*, 118(20), 5439. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-04-348912>
- Fauriat, C., Long, E. O., Ljunggren, H. G., & Bryceson, Y. T. (2010). Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition. *Blood*, 115(11), 2167–2176. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-08-238469>
- Faustino, L. D., Griffith, J. W., Rahimi, R. A., Nepal, K., Hamilos, D. L., Cho, J. L., Medoff, B. D., Moon, J. J., Vignali, D. A. A., & Luster, A. D. (2020). Interleukin-33 activates regulatory T cells to suppress innate  $\gamma\delta$  T cell responses in the lung. *Nature Immunology*, 21(11), 1371. <https://doi.org/10.1038/S41590-020-0785-3>
- Feehan, D. D., Jamil, K., Polyak, M. J., Ogbomo, H., Hasell, M., Li, S. S., Xiang, R. F., Parkins, M., Trapani, J. A., Harrison, J. J., & Mody, C. H. (2022). Natural killer cells kill extracellular *Pseudomonas aeruginosa* using contact-dependent release of granzymes B and H. *PLoS Pathogens*, 18(2). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1010325>
- Fehniger, T. A., & Caligiuri, M. A. (2001). Interleukin 15: biology and relevance to human disease. *Blood*, 97(1), 14–32. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V97.1.14>
- Fehniger, T. A., Cai, S. F., Cao, X., Bredemeyer, A. J., Presti, R. M., French, A. R. R., & Ley, T. J. (2007). Acquisition of murine NK cell cytotoxicity requires the translation of a pre-existing pool of granzyme B and perforin mRNAs. *Immunity*, 26(6), 798–811. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2007.04.010>
- Fehniger, T. A., Shah, M. H., Turner, M. J., VanDeusen, J. B., Whitman, S. P., Cooper, M. A., Suzuki, K., Wechsler, M., Goodsaid, F., & Caligiuri, M. A. (1999). Differential Cytokine and Chemokine Gene Expression by Human NK Cells Following Activation with IL-18 or IL-15 in Combination with IL-12: Implications for the Innate Immune Response. *The Journal of Immunology*, 162(8), 4511–4520. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.162.8.4511>
- Felices, M., Lenvik, A. J., McElmurry, R., Chu, S., Hinderlie, P., Bendzick, L., Geller, M. A., Tolar, J., Blazar, B. R., & Miller, J. S. (2018). Continuous treatment with IL-15 exhausts human NK cells via a metabolic defect. *JCI Insight*, 3(3). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.96219>
- Fend, L., Rusakiewicz, S., Adam, J., Bastien, B., Caignard, A., Messaoudene, M., Iribarren, C., Cremer, I., Marabelle, A., Borg, C., Semeraro, M., Barraud, L., Limacher, J. M., Eggermont, A., Kroemer, G., & Zitvogel, L. (2016). Prognostic impact of the expression of NCR1 and NCR3 NK cell receptors and PD-L1 on advanced non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology*, 6(1). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1163456>
- Feng, H., Dong, Y., Wu, J., Qiao, Y., Zhu, G., Jin, H., Cui, J., Li, W., Liu, Y. J., Chen, J., & Song, Y. (2016). Epirubicin pretreatment enhances NK cell-mediated cytotoxicity against breast cancer cells in vitro. *American Journal of Translational Research*, 8(2), 473. <https://doi.org/10.1016/j.amjtr.2016.04.007>
- Ferlazzo, G., Pack, M., Thomas, D., Paludan, C., Schmid, D., Strowig, T., Bougras, G., Muller, W. A., Moretta, L., & Münz, C. (2004). Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(47), 16606. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0407522101>
- Ferlazzo, G., Thomas, D., Lin, S.-L., Goodman, K., Morandi, B., Muller, W. A., Moretta, A., & Münz, C. (2004). The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 172(3), 1455–1462. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.172.3.1455>
- Ferlazzo, G., Tsang, M. L., Moretta, L., Melioli, G., Steinman, R. M., & Münz, C. (2002). Human dendritic cells activate resting natural killer (NK) cells and are recognized via the Nkp30 receptor by activated NK cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 195(3), 343–351. <https://doi.org/10.1084/JEM.20011149>

- Filipovic, I., Chiossone, L., Vacca, P., Hamilton, R. S., Ingegnere, T., Doisne, J. M., Hawkes, D. A., Mingari, M. C., Sharkey, A. M., Moretta, L., & Colucci, F. (2018). Molecular definition of group 1 innate lymphoid cells in the mouse uterus. *Nature Communications* 2018 9:1, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06918-3>
- Fiore, P. F., Vacca, P., Tumino, N., Besi, F., Pelosi, A., Munari, E., Marconi, M., Caruana, I., Pistoia, V., Moretta, L., & Azzarone, B. (2021). Wilms' Tumor Primary Cells Display Potent Immunoregulatory Properties on NK Cells and Macrophages. *Cancers*, 13(2), 1–22. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13020224>
- Fiori, M. E., Di Franco, S., Villanova, L., Bianca, P., Stassi, G., & De Maria, R. (2019). Cancer-associated fibroblasts as abettors of tumor progression at the crossroads of EMT and therapy resistance. *Molecular Cancer* 2019 18:1, 18(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/S12943-019-0994-2>
- Fitzgerald, D. C., Zhang, G. X., El-Behi, M., Fonseca-Kelly, Z., Li, H., Yu, S., Saris, C. J., Gran, B., Ciric, B., & Rostami, A. (2007). Suppression of autoimmune inflammation of the central nervous system by interleukin 10 secreted by interleukin 27-stimulated T cells. *Nature Immunology* 2007 8:12, 8(12), 1372–1379. <https://doi.org/10.1038/ni1540>
- Foley, B., Cooley, S., Verneris, M. R., Pitt, M., Curtsinger, J., Luo, X., Lopez-Vergès, S., Lanier, L. L., Weisdorf, D., & Miller, J. S. (2012). Cytomegalovirus reactivation after allogeneic transplantation promotes a lasting increase in educated NKG2C+ natural killer cells with potent function. *Blood*, 119(11), 2665. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-10-386995>
- Fontenot, J. D., Gavin, M. A., & Rudensky, A. Y. (2003). Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nature Immunology*, 4(4), 986–992. <https://doi.org/10.1038/NI904>
- Förster-Waldl, E., Sadeghi, K., Tamandl, D., Gerhold, B., Hallwirth, U., Rohrmeister, K., Hayde, M., Prusa, A. R., Herkner, K., Boltz-Nitulescu, G., Pollak, A., & Spittler, A. (2005). Monocyte Toll-Like Receptor 4 Expression and LPS-Induced Cytokine Production Increase during Gestational Aging. *Pediatric Research* 2005 58:1, 58(1), 121–124. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000163397.53466.0f>
- Freud, A. G., Keller, K. A., Scoville, S. D., Yu, J., Carson, W. E., & Correspondence, M. A. C. (2016). NKp80 Defines a Critical Step during Human Natural Killer Cell Development. *Cell Reports*, 16, 379–391. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.05.095>
- Freud, A. G., Mundy-Bosse, B. L., Yu, J., & Caligiuri, M. A. (2017). The Broad Spectrum of Human Natural Killer Cell Diversity. *Immunity*, 47(5), 820–833. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2017.10.008>
- Freud, A. G., Yokohama, A., Becknell, B., Lee, M. T., Mao, H. C., Ferketich, A. K., & Caligiuri, M. A. (2006). Evidence for discrete stages of human natural killer cell differentiation in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 203(4), 1033. <https://doi.org/10.1084/JEM.20052507>
- Freud, A. G., Yu, J., & Caligiuri, M. A. (2014). Human natural killer cell development in secondary lymphoid tissues. *Seminars in Immunology*, 26(2), 132–137. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2014.02.008>
- Friedman, D., Simmonds, P., Hale, A., Bere, L., Hodson, N. W., White, M. R. H., & Davis, D. M. (2021). Natural killer cell immune synapse formation and cytotoxicity are controlled by tension of the target interface. *Journal of Cell Science*, 134(7). <https://doi.org/10.1242/JCS.258570>
- Friedrich, C., Taggenbrock, R. L. R. E., Doucet-Ladevèze, R., Golda, G., Moenius, R., Arampatzis, P., Kragten, N. A. M., Kreymborg, K., Gomez de Agüero, M., Kastenmüller, W., Saliba, A. E., Grün, D., van Gisbergen, K. P. J. M., & Gasteiger, G. (2021). Effector differentiation downstream of lineage commitment in ILC1s is driven by Hobit across tissues. *Nature Immunology* 2021 22:10, 22(10), 1256–1267. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01013-0>
- Fu, B., Li, X., Sun, R., Tong, X., Ling, B., Tian, Z., & Wei, H. (2013). Natural killer cells promote immune tolerance by regulating inflammatory TH17 cells at the human maternal-fetal interface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(3), E231–E240. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1206322110/SUPPL\\_FILE/PNAS.201206322SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1206322110/SUPPL_FILE/PNAS.201206322SI.PDF)
- Fu, B., Zhou, Y., Ni, X., Tong, X., Xu, X., Dong, Z., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2017). Natural Killer Cells Promote Fetal Development through the Secretion of Growth-Promoting Factors. *Immunity*, 47(6), 1100–1113.e6. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2017.11.018>
- Fu, J., Lin, S. H., Wang, C. J., Li, S. Y., Feng, X. Y., Liu, Q., & Xu, F. (2016). HMGB1 regulates IL-33 expression in acute respiratory distress syndrome. *International Immunopharmacology*, 38, 267–274. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2016.06.010>
- Fu, S., Zhang, N., Yopp, A. C., Chen, D., Mao, M., Chen, D., Zhang, H., Ding, Y., & Bromberg, J. S. (2004). TGF-beta induces Foxp3 + T-regulatory cells from CD4 + CD25 - precursors. *American Journal of Transplantation : Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 4(10), 1614–1627. <https://doi.org/10.1111/J.1600-6143.2004.00566.X>
- Fu, Y. P., Yi, Y., Cai, X. Y., Sun, J., Ni, X. C., He, H. W., Wang, J. X., Lu, Z. F., Huang, J. L., Cao, Y., Zhou, J., Fan, J., & Qiu, S. J. (2016). Overexpression of interleukin-35 associates with hepatocellular carcinoma aggressiveness and recurrence after curative resection. *British Journal of Cancer* 2016 114:7, 114(7), 767–776. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.47>
- Fuchs, A., Vermi, W., Lee, J. S., Lonardi, S., Gilfillan, S., Newberry, R. D., Cella, M., & Colonna, M. (2013). Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL-12- and IL-15-responsive IFN-gamma-producing cells. *Immunity*, 38(4), 769–781. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2013.02.010>
- Gabrilovich, D. I., Chen, H. L., Girgis, K. R., Cunningham, H. T., Meny, G. M., Nadaf, S., Kavanaugh, D., & Carbone, D. P. (1996). Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nature Medicine*, 2(10), 1096–1103. <https://doi.org/10.1038/NM1096-1096>
- Gadani, S. P., Walsh, J. T., Smirnov, I., Zheng, J., & Kipnis, J. (2015). The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury. *Neuron*, 85(4), 703–709. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2015.01.013>
- Gaggero, S., Bruschi, M., Petretto, A., Parodi, M., Zotto, G., Del Lavarello, C., Prato, C., Santucci, L., Barbuto, A., Bottino, C., Candiano, G., Moretta, A., Vitale, M., Moretta, L., & Cantoni, C. (2018). Nidogen-1 is a novel extracellular ligand for the NKp44 activating receptor. *Oncoimmunology*, 7(9). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1470730>

- Galand, C., Leyva-Castillo, J. M., Yoon, J., Han, A., Lee, M. S., McKenzie, A. N. J., Stassen, M., Oyoshi, M. K., Finkelman, F. D., & Geha, R. S. (2016). IL-33 promotes food anaphylaxis in epicutaneously sensitized mice by targeting mast cells. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(5), 1356–1366. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.03.056>
- Gallazzi, M., Baci, D., Mortara, L., Bosi, A., Buono, G., Naselli, A., Guarneri, A., Dehò, F., Capogrosso, P., Albini, A., Noonan, D. M., & Bruno, A. (2021). Prostate Cancer Peripheral Blood NK Cells Show Enhanced CD9, CD49a, CXCR4, CXCL8, MMP-9 Production and Secrete Monocyte-Recruiting and Polarizing Factors. *Frontiers in Immunology*, 11, 586126. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.586126/BIBTEX>
- Galluzzi, L., Humeau, J., Buqué, A., Zitvogel, L., & Kroemer, G. (2020). Immunostimulation with chemotherapy in the era of immune checkpoint inhibitors. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2020 17:12, 17(12), 725–741. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0413-z>
- Galot, R., Le Tourneau, C., Saada-Bouid, E., Daste, A., Even, C., Debruyne, P., Henry, S., Zanetta, S., Rutten, A., Licitra, L., Canon, J. L., Kaminsky, M. C., Specenier, P., Rottey, S., Guigay, J., Kong, A., Tinhofer, I., Borcoman, E., Dirix, L., ... Machiels, J. P. (2021). A phase II study of monalizumab in patients with recurrent/metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: The I1 cohort of the EORTC-HNCG-1559 UPSTREAM trial. *European Journal of Cancer*, 158, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2021.09.003>
- Gamliel, M., Goldman-Wohl, D., Isaacson, B., Gur, C., Stein, N., Yamin, R., Berger, M., Grunewald, M., Keshet, E., Rais, Y., Bornstein, C., David, E., Jelinski, A., Eisenberg, I., Greenfield, C., Ben-David, A., Imbar, T., Gilad, R., Haimov-Kochman, R., ... Mandelboim, O. (2018). Trained Memory of Human Uterine NK Cells Enhances Their Function in Subsequent Pregnancies. *Immunity*, 48(5), 951–962.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.03.030>
- Gang, M., Marin, N. D., Wong, P., Neal, C. C., Marsala, L., Foster, M., Schappe, T., Meng, W., Tran, J., Schaettler, M., Davila, M., Gao, F., Cashen, A. F., Bartlett, N. L., Mehta-Shah, N., Kahl, B. S., Kim, M. Y., Cooper, M. L., DiPersio, J. F., ... Fehniger, T. A. (2020). CAR-modified memory-like NK cells exhibit potent responses to NK-resistant lymphomas. *Blood*, 136(20), 2308–2318. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2020006619>
- Gang, M., Marin, N. D., Wong, P., Neal, C. C., Marsala, L., Foster, M., Schappe, T., Meng, W., Tran, J., Schaettler, M., Davila, M., Gao, F., Cashen, A. F., Bartlett, N. L., Mehta-Shah, N., Kahl, B. S., Kim, M. Y., Cooper, M. L., DiPersio, J. F., ... Fehniger, T. A. (2020). CAR-modified memory-like NK cells exhibit potent responses to NK-resistant lymphomas. *Blood*, 136(20), 2308–2318. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2020006619>
- Gannon, P. O., Poisson, A. O., Delvoye, N., Lapointe, R., Mes-Masson, A. M., & Saad, F. (2009). Characterization of the intra-prostatic immune cell infiltration in androgen-deprived prostate cancer patients. *Journal of Immunological Methods*, 348(1–2), 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2009.06.004>
- Gao, K., Li, X., Zhang, L., Bai, L., Dong, W., Gao, K., Shi, G., Xia, X., Wu, L., & Zhang, L. (2013). Transgenic expression of IL-33 activates CD8+ T cells and NK cells and inhibits tumor growth and metastasis in mice. *Cancer Letters*, 335(2), 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.03.002>
- Gao, X., Wang, X., Yang, Q., Zhao, X., Wen, W., Li, G., Lu, J., Qin, W., Qi, Y., Xie, F., Jiang, J., Wu, C., Zhang, X., Chen, X., Turnquist, H., Zhu, Y., & Lu, B. (2015). Tumoral Expression of IL-33 Inhibits Tumor Growth and Modifies the Tumor Microenvironment through CD8+ T and NK Cells. *The Journal of Immunology*, 194(1), 438–445. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1401344>
- Gao, Y., Li, L., Hu, X., Zhang, W., & Li, Y. (2022). Interleukin-35 has a Protective Role in Infectious Mononucleosis-Induced Liver Inflammation Probably by Inhibiting CD8+ T Cell Function. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 70(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/S00005-022-00663-8/FIGURES/6>
- Gao, Y., Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Bald, T., Ng, S. S., Young, A., Ngiow, S. F., Rautela, J., Straube, J., Waddell, N., Blake, S. J., Yan, J., Bartholin, L., Lee, J. S., Vivier, E., Takeda, K., Messaoudene, M., Zitvogel, L., Teng, M. W. L., Belz, G. T., ... Smyth, M. J. (2017). Tumor immune evasion by the conversion of effector NK cells into type 1 innate lymphoid cells. *Nature Immunology*, 18(9), 1004–1015. <https://doi.org/10.1038/NI3800>
- Garcés-Lázaro, I., Kotzur, R., Cerwenka, A., & Mandelboim, O. (2022). NK Cells Under Hypoxia: The Two Faces of Vascularization in Tumor and Pregnancy. *Frontiers in Immunology*, 13, 2917. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.924775/BIBTEX>
- Garg, A., Barnes, P. F., Porgador, A., Roy, S., Wu, S., Nanda, J. S., Griffith, D. E., Girard, W. M., Rawal, N., Shetty, S., & Vankayalapati, R. (2006). Vimentin expressed on Mycobacterium tuberculosis-infected human monocytes is involved in binding to the NKp46 receptor. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 177(9), 6192–6198. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.177.9.6192>
- Garlanda, C., Dinarello, C. A., & Mantovani, A. (2013). THE INTERLEUKIN-1 FAMILY: BACK TO THE FUTURE. *Immunity*, 39(6), 1003. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.11.010>
- Garrido, F., & Aptsiauri, N. (2019). Cancer immune escape: MHC expression in primary tumours versus metastases. *Immunology*, 158(4), 255. <https://doi.org/10.1111/IMM.13114>
- Garrido, F., Perea, F., Bernal, M., Sánchez-Palencia, A., Aptsiauri, N., & Ruiz-Cabello, F. (2017). The Escape of Cancer from T Cell-Mediated Immune Surveillance: HLA Class I Loss and Tumor Tissue Architecture. *Vaccines*, 5(1). <https://doi.org/10.3390/VACCINES5010007>
- Gasser, S., Orsulic, S., Brown, E. J., & Raulat, D. H. (2005). The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands for the NKG2D receptor. *Nature*, 436(7054), 1186. <https://doi.org/10.1038/NATURE03884>
- Gasteiger, G., Hemmers, S., Firth, M. A., Floc'h, A. Le, Huse, M., Sun, J. C., & Rudensky, A. Y. (2013). IL-2-dependent tuning of NK cell sensitivity for target cells is controlled by regulatory T cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 210(6), 1065–1068. <https://doi.org/10.1084/JEM.20122462>
- Gately, M. K., Renzetti, L. M., Magram, J., Stern, A. S., Adorini, L., Gubler, U., & Presky, D. H. (2003). THE INTERLEUKIN-12/INTERLEUKIN-12-RECEPTOR SYSTEM: Role in Normal and Pathologic Immune Responses. <https://doi.org/10.1146/Annurev.Immunol.16.1.495>, 16, 495–521. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.16.1.495>
- Gauthier, L., Virone-Oddos, A., Beninga, J., Rossi, B., Nicolazzi, C., Amara, C., Blanchard-Alvarez, A., Gourdin, N., Courta, J., Basset, A., Agnel, M., Guillot, F., Grondin, G., Bonnevaux, H., Bauchet, A. L., Morel, A., Morel, Y., Chiron, M., & Vivier, E. (2023). Control of acute myeloid leukemia by a trifunctional NKp46-CD16a-NK cell engager targeting CD123. *Nature Biotechnology*. <https://doi.org/10.1038/S41587-022-01626-2>

- Gautier, V., Cayrol, C., Farache, D., Roga, S., Monsarrat, B., Bulet-Schiltz, O., Gonzalez De Peredo, A., & Girard, J. P. (2016). Extracellular IL-33 cytokine, but not endogenous nuclear IL-33, regulates protein expression in endothelial cells. *Scientific Reports* 2016 6:1, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/SREP34255>
- Gavin, M. A., Rasmussen, J. P., Fontenot, J. D., Vasta, V., Manganiello, V. C., Beavo, J. A., & Rudensky, A. Y. (2007). Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature* 2006 445:7129, 445(7129), 771–775. <https://doi.org/10.1038/nature05543>
- Gerosa, F., Baldani-Guerra, B., Lyakh, L. A., Batoni, G., Esin, S., Winkler-Pickett, R. T., Consolaro, M. R., De Marchi, M., Giachino, D., Robbiano, A., Astegiano, M., Sambataro, A., Kastelein, R. A., Carra, G., & Trinchieri, G. (2008). Differential regulation of interleukin 12 and interleukin 23 production in human dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(6), 1447. <https://doi.org/10.1084/JEM.20071450>
- Gerosa, F., Baldani-Guerra, B., Nisii, C., Marchesini, V., Carra, G., & Trinchieri, G. (2002). Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 195(3), 327–333. <https://doi.org/10.1084/JEM.20010938>
- Gerosa, F., Gobbi, A., Zorzi, P., Burg, S., Briere, F., Carra, G., & Trinchieri, G. (2005). The Reciprocal Interaction of NK Cells with Plasmacytoid or Myeloid Dendritic Cells Profoundly Affects Innate Resistance Functions. *The Journal of Immunology*, 174(2), 727–734. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.174.2.727>
- Ghiringhelli, F., Ménard, C., Terme, M., Flament, C., Taieb, J., Chaput, N., Puig, P. E., Novault, S., Escudier, B., Vivier, E., Levesque, A., Robert, C., Blay, J. Y., Bernard, J., Caillat-Zucman, S., Freitas, A., Tursz, T., Wagner-Ballon, O., Capron, C., ... Zitvogel, L. (2005). CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. *The Journal of Experimental Medicine*, 202(8), 1075–1085. <https://doi.org/10.1084/JEM.20051511>
- Gidlund, M., Örn, A., Wigzell, H., Senik, A., & Gresser, I. (1978). Enhanced NK cell activity in mice injected with interferon and interferon inducers. *Nature* 1978 273:5665, 273(5665), 759–761. <https://doi.org/10.1038/273759a0>
- Giebel, S., Locatelli, F., Lamparelli, T., Velardi, A., Davies, S., Frumento, G., Maccario, R., Bonetti, F., Wojnar, J., Martinetti, M., Frasson, F., Giorgiani, G., Bacigalupo, A., & Holowiecki, J. (2003). Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Blood*, 102(3), 814–819. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2003-01-0091>
- Gilfillan, S., Chan, C. J., Cella, M., Haynes, N. M., Rapaport, A. S., Boles, K. S., Andrews, D. M., Smyth, M. J., & Colonna, M. (2008). DNAM-1 promotes activation of cytotoxic lymphocytes by nonprofessional antigen-presenting cells and tumors. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(13), 2965. <https://doi.org/10.1084/JEM.20081752>
- Gilfillan, S., Ho, E. L., Cella, M., Yokohama, W. M., & Colonna, M. (2002). NKG2D recruits two distinct adapters to trigger NK cell activation and costimulation. *Nature Immunology* 2002 3:12, 3(12), 1150–1155. <https://doi.org/10.1038/ni857>
- Gill, S., Vasey, A. E., De Souza, A., Baker, J., Smith, A. T., Kohrt, H. E., Florek, M., Gibbs, K. D., Tate, K., Ritchie, D. S., & Negrin, R. S. (2012). Rapid development of exhaustion and down-regulation of eomesodermin limit the antitumor activity of adoptively transferred murine natural killer cells. *Blood*, 119(24), 5758. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-03-415364>
- Girart, M. V., Fuentes, M. B., Domaica, C. I., Rossi, L. E., & Zwierner, N. W. (2007). Engagement of TLR3, TLR7, and NKG2D regulate IFN-gamma secretion but not NKG2D-mediated cytotoxicity by human NK cells stimulated with suboptimal doses of IL-12. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 179(6), 3472–3479. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.179.6.3472>
- Goldszmid, R. S., Caspar, P., Rivollier, A., White, S., Dzutsev, A., Hienny, S., Kelsall, B., Trinchieri, G., & Sher, A. (2012). NK cell-derived interferon-γ orchestrates the cellular dynamics and differentiation of monocytes into inflammatory dendritic cells at the site of infection. *Immunity*, 36(6), 1047. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2012.03.026>
- Gollob, J. A., Veenstra, K. G., Jyonouchi, H., Kelly, A. M., Ferrieri, P., Panka, D. J., Altare, F., Fieschi, C., Casanova, J.-L., Frank, D. A., & Mier, J. W. (2000). Impairment of STAT activation by IL-12 in a patient with atypical mycobacterial and staphylococcal infections. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 165(7), 4120–4126. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.165.7.4120>
- Gonzalez, V. D., Huang, Y. W., Delgado-Gonzalez, A., Chen, S. Y., Donoso, K., Sachs, K., Gentles, A. J., Allard, G. M., Kolahi, K. S., Howitt, B. E., Porpiglia, E., & Fantl, W. J. (2021). High-grade serous ovarian tumor cells modulate NK cell function to create an immune-tolerant microenvironment. *Cell Reports*, 36(9), 109632. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109632>
- Gonzalez-Junca, A., Driscoll, K. E., Pellicciotta, I., Du, S., Lo, C. H., Roy, R., Parry, R., Tenvooren, I., Marquez, D. M., Spitzer, M. H., & Barcellos-Hoff, M. H. (2019). Autocrine TGFβ is a Survival Factor for Monocytes and Drives Immunosuppressive Lineage Commitment. *Cancer Immunology Research*, 7(2), 306. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0310>
- Gonzalez, F., & Ashkenazi, A. (2010). New insights into apoptosis signaling by Apo2L/TRAIL. *Oncogene* 2010 29:34, 29(34), 4752–4765. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.221>
- Goping, I. S., Barry, M., Liston, P., Sawchuk, T., Constantinescu, G., Michalak, K. M., Shostak, I., Roberts, D. L., Hunter, A. M., Korneluk, R., & Bleackley, R. C. (2003). Granzyme B-induced apoptosis requires both direct caspase activation and relief of caspase inhibition. *Immunity*, 18(3), 355–365. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00032-3)
- Gordon, E. D., Simpson, L. J., Rios, C. L., Ringel, L., Lachowicz-Scroggins, M. E., Peters, M. C., Wesolowska-Andersen, A., Gonzalez, J. R., MacLeod, H. J., Christian, L. S., Yuan, S., Barry, L., Woodruff, P. G., Ansel, K. M., Nocka, K., Seibold, M. A., & Fahy, J. V. (2016). Alternative splicing of interleukin-33 and type 2 inflammation in asthma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(31), 8765–8770. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1601914113>
- Gran, B., Zhang, G.-X., Yu, S., Li, J., Chen, X.-H., Ventura, E. S., Kamoun, M., & Rostami, A. (2002). IL-12p35-Deficient Mice Are Susceptible to Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Evidence for Redundancy in the IL-12 System in the Induction of Central Nervous System Autoimmune Demyelination. *The Journal of Immunology*, 169(12), 7104–7110. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.169.12.7104>
- Grassmann, S., Pachmayr, L. O., Leube, J., Mihatsch, L., Andrae, I., Flommersfeld, S., Oduro, J., Cicin-Sain, L., Schiemann, M., Flossdorf, M., & Buchholz, V. R. (2019). Distinct Surface Expression of Activating Receptor Ly49H Drives Differential Expansion of NK Cell Clones upon Murine Cytomegalovirus Infection. *Immunity*, 50(6), 1391–1400.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.04.015>

- Grégoire, C., Chasson, L., Luci, C., Tomasello, E., Geissmann, F., Vivier, E., & Walzer, T. (2007). The trafficking of natural killer cells. *Immunological Reviews*, 220(1), 169–182. <https://doi.org/10.1111/J.1600-065X.2007.00563.X>
- Griesenauer, B., & Paczesny, S. (2017). The ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology*, 8(APR), 475. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00475>
- Groh, V., Wu, J., Yee, C., & Spies, T. (2002). Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature*, 419(6908), 734–738. <https://doi.org/10.1038/NATURE01112>
- Grossman, W. J., Verbsky, J. W., Tollefsen, B. L., Kemper, C., Atkinson, J. P., & Ley, T. J. (2004). Differential expression of granzymes A and B in human cytotoxic lymphocyte subsets and T regulatory cells. *Blood*, 104(9), 2840–2848. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2004-03-0859>
- Grover, A., Sanseviero, E., Timosenko, E., & Gabrilovich, D. I. (2021). Myeloid-derived suppressor cells: A propitious road to clinic. *Cancer Discovery*, 11(11), 2693–2706. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0764/666381/P/MYELOID-DERIVED-SUPPRESSOR-CELLS-A-PROPITIOUS-ROAD>
- Grzywacz, B., Kataria, N., Sikora, M., Oostendorp, R. A., Dzierzak, E. A., Blazar, B. R., Miller, J. S., & Verneris, M. R. (2006). Coordinated acquisition of inhibitory and activating receptors and functional properties by developing human natural killer cells. *Blood*, 108(12), 3824. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-04-020198>
- Guerra, N., Tan, Y. X., Joncker, N. T., Choy, A., Gallardo, F., Xiong, N., Knoblaugh, S., Cado, D., Greenberg, N. R., & Raulet, D. H. (2008). NKG2D-deficient mice are defective in tumor surveillance in models of spontaneous malignancy. *Immunity*, 28(4), 571–580. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2008.02.016>
- Guia, S., & Narni-Mancinelli, E. (2020a). Helper-like Innate Lymphoid Cells in Humans and Mice. *Trends in Immunology*, 41(5), 436–452. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2020.03.002>
- Guillerey, C., De Andrade, L. F., Vuckovic, S., Miles, K., Ngiow, S. F., Yong, M. C. R., Teng, M. W. L., Colonna, M., Ritchie, D. S., Chesi, M., Bergsagel, P. L., Hill, G. R., Smyth, M. J., & Martinet, L. (2015). Immunosurveillance and therapy of multiple myeloma are CD226 dependent. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(5), 2077. <https://doi.org/10.1172/JCI77181>
- Guillerey, C., Huntington, N. D., & Smyth, M. J. (2016). Targeting natural killer cells in cancer immunotherapy. *Nature Immunology*, 17(9), 1025–1036. <https://doi.org/10.1038/NI.3518>
- Gunesch, J. T., Dixon, A. L., Ebrahim, T. A. M., Berrien-Elliott, M. M., Tatineni, S., Kumar, T., Hegewisch-Solloa, E., Fehniger, T. A., & Mace, E. M. (2020). CD56 regulates human NK cell cytotoxicity through Pyk2. *ELife*, 9, 1–28. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.57346>
- Guo, C., Cai, P., Jin, L., Sha, Q., Yu, Q., Zhang, W., Jiang, C., Liu, Q., Zong, D., Li, K., Fang, J., Lu, F., Wang, Y., Li, D., Lin, J., Li, L., Zeng, Z., Tong, X., Wei, H., & Qu, K. (2021). Single-cell profiling of the human decidal immune microenvironment in patients with recurrent pregnancy loss. *Cell Discovery*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.1038/S41421-020-00236-Z>
- Gutierrez-Silerio, G. Y., Bueno-Topete, M. R., Vega-Magaña, A. N., Bastidas-Ramirez, B. E., Gutierrez-Franco, J., Escarra-Senmarti, M., Pedraza-Brindis, E. J., Peña-Rodríguez, M., Ramos-Marquez, M. E., Delgado-Rizo, V., Banu, N., Alejandro-Gonzalez, A. G., Fafutis-Morris, M., Haramati, J., & del Toro-Arreola, S. (2023). Non-fitness status of peripheral NK cells defined by decreased NKp30 and perforin, and increased soluble B7H6, in cervical cancer patients. *Immunology*, 168(3), 538–553. <https://doi.org/10.1111/IMM.13593>
- Haeberlein, S., Sebald, H., Bogdan, C., & Schleicher, U. (2010). IL-18, but not IL-15, contributes to the IL-12-dependent induction of NK-cell effector functions by *Leishmania infantum* in vivo. *European Journal of Immunology*, 40(6), 1708. <https://doi.org/10.1002/EJI.200939988>
- Hage, C., Hoves, S., Strauss, L., Bissinger, S., Prinz, Y., Pöschinger, T., Kiessling, F., & Ries, C. H. (2019). Sorafenib Induces Pyroptosis in Macrophages and Triggers Natural Killer Cell-Mediated Cytotoxicity Against Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 70(4), 1280–1297. <https://doi.org/10.1002/HEP.30666>
- Halama, N., Braun, M., Kahlert, C., Spille, A., Quack, C., Rahbari, N., Koch, M., Weitz, J., Kloor, M., Zoernig, I., Schirmacher, P., Brand, K., Grabe, N., & Falk, C. S. (2011). Natural killer cells are scarce in colorectal carcinoma tissue despite high levels of chemokines and cytokines. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(4), 678–689. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2173>
- Halfteck, G. G., Elboim, M., Gur, C., Achdout, H., Ghadially, H., & Mandelboim, O. (2009). Enhanced in vivo growth of lymphoma tumors in the absence of the NK-activating receptor NKp46/NCR1. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 182(4), 2221–2230. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0801878>
- Haller, S., Duval, A., Migliorini, R., Stevanin, M., Mack, V., & Acha-Orbea, H. (2017). Interleukin-35-producing CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> dendritic cells acquire a tolerogenic state and regulate T cell function. *Frontiers in Immunology*, 8(FEB), 233819. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00098/BIBTEX>
- Halvorsen, E. C., Franks, S. E., Wadsworth, B. J., Harbourn, B. T., Cederberg, R. A., Steer, C. A., Martinez-Gonzalez, I., Calder, J., Lockwood, W. W., & Bennewith, K. L. (2019). IL-33 increases ST2<sup>+</sup> Tregs and promotes metastatic tumour growth in the lungs in an amphiregulin-dependent manner. *Oncotarget*, 8(2). [https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1527497/SUPPL\\_FILE/KONI\\_A\\_1527497\\_SM7520.PDF](https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1527497/SUPPL_FILE/KONI_A_1527497_SM7520.PDF)
- Hammer, Q., Rückert, T., & Romagnani, C. (2018). Natural killer cell specificity for viral infections. *Nature Immunology*, 19(8), 800–808. <https://doi.org/10.1038/S41590-018-0163-6>
- Hammer, Q., Rückert, T., Borst, E. M., Dunst, J., Haubner, A., Durek, P., Heinrich, F., Gasparoni, G., Babic, M., Tomic, A., Pietra, G., Nienen, M., Blau, I. W., Hofmann, J., Na, I. K., Prinz, I., Koenecke, C., Hemmati, P., Babel, N., ... Romagnani, C. (2018). Peptide-specific recognition of human cytomegalovirus strains controls adaptive natural killer cells. *Nature Immunology*, 19(5), 453–463. <https://doi.org/10.1038/S41590-018-0082-6>
- Han, S., Lin, Y. C., Wu, T., Salgado, A. D., Mexhitaj, I., Wuest, S. C., Romm, E., Ohayon, J., Goldbach-Mansky, R., Vanderver, A., Marques, A., Toro, C., Williamson, P., Cortese, I., & Bielekova, B. (2014). Comprehensive immunophenotyping of cerebrospinal fluid cells in patients with neuroimmunological diseases. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 192(6), 2551–2563. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1302884>

- Hanabuchi, S., Watanabe, N., Wang, Y. H., Wang, Y. H., Ito, T., Shaw, J., Cao, W., Xiao-Feng Qin, F., & Liu, Y. J. (2006). Human plasmacytoid predendritic cells activate NK cells through glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor-ligand (GITRL). *Blood*, 107(9), 3617–3623. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-08-3419>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hanna, J., Goldman-Wohl, D., Hamani, Y., Avraham, I., Greenfield, C., Natanson-Yaron, S., Prus, D., Cohen-Daniel, L., Arnon, T. I., Manaster, I., Gazit, R., Yutkin, V., Benharroch, D., Porgador, A., Keshet, E., Yagel, S., & Mandelboim, O. (2006). Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nature Medicine*, 12(9), 1065–1074. <https://doi.org/10.1038/NM1452>
- Hanna, J., Wald, O., Goldman-Wohl, D., Prus, D., Markel, G., Gazit, R., Katz, G., Haimov-Kochman, R., Fujii, N., Yagel, S., Peled, A., & Mandelboim, O. (2003). CXCL12 expression by invasive trophoblasts induces the specific migration of CD16<sup>+</sup> human natural killer cells. *Blood*, 102(5), 1569–1577. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2003-02-0517>
- Hansen, M. L., Woetmann, A., Krejsgaard, T., Kopp, K. L. M., Søkilde, R., Litman, T., Straten, P. T., Geisler, C., Wasik, M. A., Ødum, N., & Eriksen, K. W. (2011). IFN- $\alpha$  primes T- and NK-cells for IL-15-mediated signaling and cytotoxicity. *Molecular Immunology*, 48(15–16), 2087–2093. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2011.07.008>
- Hansen, T. F., Nederby, L., Zedan, A. H., Mejlholm, I., Henriksen, J. R., Steffensen, K. D., Thomsen, C. B., Raunkilde, L., Jensen, L. H., & Jakobsen, A. (2019). Correlation Between Natural Killer Cell Activity and Treatment Effect in Patients with Disseminated Cancer. *Translational Oncology*, 12(7), 968. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.04.002>
- Hao, S., Chen, X., Wang, F., Shao, Q., Liu, J., Zhao, H., Yuan, C., Ren, H., & Mao, H. (2018). Breast cancer cell-derived IL-35 promotes tumor progression via induction of IL-35-producing induced regulatory T cells. *Carcinogenesis*, 39(12), 1488–1496. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGY136>
- Hardman, C. S., Panova, V., & McKenzie, A. N. J. (2013). IL-33 citrine reporter mice reveal the temporal and spatial expression of IL-33 during allergic lung inflammation. *European Journal of Immunology*, 43(2), 488–498. <https://doi.org/10.1002/EJI.201242863>
- Harimoto, H., Shimizu, M., Nakagawa, Y., Nakatsuka, K., Wakabayashi, A., Sakamoto, C., & Takahashi, H. (2013). Inactivation of tumor-specific CD8<sup>+</sup> CTLs by tumor-infiltrating tolerogenic dendritic cells. *Immunology and Cell Biology*, 91(9), 545. <https://doi.org/10.1038/ICB.2013.38>
- Harly, C., Kenney, D., Ren, G., Lai, B., Raabe, T., Yang, Q., Cam, M. C., Xue, H. H., Zhao, K., & Bhandoola, A. (2019). The transcription factor TCF-1 enforces commitment to the innate lymphoid cell lineage. *Nature Immunology* 2019 20:9, 20(9), 1150–1160. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0445-7>
- Harmon, C., Robinson, M. W., Hand, F., Almuaili, D., Mentor, K., Houlihan, D. D., Hoti, E., Lynch, L., Geoghegan, J., & O'Farrelly, C. (2019). Lactate-mediated acidification of tumor microenvironment induces apoptosis of liver-resident NK cells in colorectal liver metastasis. *Cancer Immunology Research*, 7(2), 335–346. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0481/470908/AM/LACTATE-MEDIATED-ACIDIFICATION-OF-TUMOR>
- Harper, J., Huot, N., Micci, L., Tharp, G., King, C., Rasclé, P., Shenvi, N., Wang, H., Galardi, C., Upadhyay, A. A., Villinger, F., Lifson, J., Silvestri, G., Easley, K., Jacquelin, B., Bosinger, S., Müller-Trutwin, M., & Paiardini, M. (2021). IL-21 and IFN $\alpha$  therapy rescues terminally differentiated NK cells and limits SIV reservoir in ART-treated macaques. *Nature Communications* 2021 12:1, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23189-7>
- Hart, O. M., Athie-Morales, V., O'Connor, G. M., & Gardiner, C. M. (2005). TLR7/8-Mediated Activation of Human NK Cells Results in Accessory Cell-Dependent IFN- $\gamma$  Production. *The Journal of Immunology*, 175(3), 1636–1642. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.175.3.1636>
- Hasegawa, H., Mizoguchi, I., Chiba, Y., Ohashi, M., Xu, M., & Yoshimoto, T. (2016). Expanding diversity in molecular structures and functions of the IL-6/IL-12 heterodimeric cytokine family. *Frontiers in Immunology*, 7(NOV), 222844. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2016.00479/BIBTEX>
- Hashemi, E., & Malarkannan, S. (2020). Tissue-Resident NK Cells: Development, Maturation, and Clinical Relevance. *Cancers*, 12(6), 1–23. <https://doi.org/10.3390/CANCERS12061553>
- Hasim, M. S., Marotel, M., Hodgins, J. J., Vulpis, E., Makinson, O. J., Asif, S., Shih, H. Y., Scheer, A. K., MacMillan, O., Alonso, F. G., Burke, K. P., Cook, D. P., Li, R., Petrucci, M. T., Santoni, A., Fallon, P. G., Sharpe, A. H., Sciumè, G., Veillette, A., ... Ardolino, M. (2022). When killers become thieves: Trogocytosed PD-1 inhibits NK cells in cancer. *Science Advances*, 8(15). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABJ3286>
- Hatzioannou, A., Banos, A., Sakelaropoulos, T., Fedonidis, C., Vidali, M. S., Köhne, M., Händler, K., Boon, L., Henriques, A., Koliarakis, V., Georgiadis, P., Zoidakis, J., Termentzi, A., Beyer, M., Chavakis, T., Boumpas, D., Tsirigos, A., & Verginis, P. (2020). An intrinsic role of IL-33 in Treg cell-mediated tumor immunoevasion. *Nature Immunology*, 21(1), 75–85. <https://doi.org/10.1038/S41590-019-0555-2>
- Hawke, L. G., Mitchell, B. Z., & Ormiston, M. L. (2020). TGF- $\beta$  and IL-15 Synergize through MAPK Pathways to Drive the Conversion of Human NK Cells to an Innate Lymphoid Cell 1-like Phenotype. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 204(12), 3171–3181. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1900866>
- Hawke, L. G., Whitford, M. K. M., & Ormiston, M. L. (2020). The Production of Pro-angiogenic VEGF-A Isoforms by Hypoxic Human NK Cells Is Independent of Their TGF- $\beta$ -Mediated Conversion to an ILC1-Like Phenotype. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.01903>
- Hayakawa, M., Hayakawa, H., Matsuyama, Y., Tamemoto, H., Okazaki, H., & Tominaga, S. (2009). Mature interleukin-33 is produced by calpain-mediated cleavage in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 387(1), 218–222. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.07.018>

- Hayakawa, Y., & Smyth, M. J. (2006). CD27 dissects mature NK cells into two subsets with distinct responsiveness and migratory capacity. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 176(3), 1517–1524. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.176.3.1517>
- Hayakawa, Y., Huntington, N. D., Nutt, S. L., & Smyth, M. J. (2006). Functional subsets of mouse natural killer cells. *Immunological Reviews*, 214(1), 47–55. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00454.x>
- Hayakawa, Y., Takeda, K., Yagita, H., Smyth, M. J., Van Kaer, L., Okumura, K., & Saiki, I. (2002). IFN- $\gamma$ -mediated inhibition of tumor angiogenesis by natural killer T-cell ligand,  $\alpha$ -galactosylceramide. *Blood*, 100(5), 1728–1733. [https://doi.org/10.1182/BLOOD.V100.5.1728.H81702001728\\_1728\\_1733](https://doi.org/10.1182/BLOOD.V100.5.1728.H81702001728_1728_1733)
- Hayashi, T., Imai, K., Morishita, Y., Hayashi, I., Kusunoki, Y., & Nakachi, K. (2006). Identification of the NKG2D haplotypes associated with natural cytotoxic activity of peripheral blood lymphocytes and cancer immunosurveillance. *Cancer Research*, 66(1), 563–570. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2776>
- Hazini, A., Fisher, K., & Seymour, L. (2021). Deregulation of HLA-I in cancer and its central importance for immunotherapy. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9(8), 2899. <https://doi.org/10.1136/JITC-2021-002899>
- He, H., Shi, L., Meng, D., Zhou, H., Ma, J., Wu, Y., Wu, Y., Gu, Y., Xie, W., Zhang, J., & Zhu, Y. (2021). PD-1 blockade combined with IL-33 enhances the antitumor immune response in a type-1 lymphocyte-mediated manner. *Cancer Treatment and Research Communications*, 28, 100379. <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2021.100379>
- He, S., Chu, J., Wu, L. C., Mao, H., Peng, Y., Alvarez-Breckenridge, C. A., Hughes, T., Wei, M., Zhang, J., Yuan, S., Sandhu, S., Vasu, S., Benson, D. M., Hofmeister, C. C., He, X., Ghoshal, K., Devine, S. M., Caligiuri, M. A., & Yu, J. (2013). MicroRNAs activate natural killer cells through Toll-like receptor signaling. *Blood*, 121(23), 4663. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-07-441360>
- He, W., Dorn, D. C., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Moore, M. A. S., & Massagué, J. (2006). Hematopoiesis controlled by distinct TIF1 $\gamma$  and Smad4 branches of the TGF $\beta$  pathway. *Cell*, 125(5), 929–941. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.045>
- He, Y., & Tian, Z. (2016). NK cell education via nonclassical MHC and non-MHC ligands. *Cellular & Molecular Immunology* 2016 14:4, 14(4), 321–330. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.26>
- He, Y., Pei, J., Hong, L., Xing, Q., & Chi, G. (2021). IL-35 promotes EMT through STAT3 activation and induces MET by promoting M2 macrophage polarization in HCC. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 559, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.04.050>
- Hecht, M. L., Rosental, B., Horlacher, T., Hershkovitz, O., De Paz, J. L., Noti, C., Schauer, S., Porgador, A., & Seeberger, P. H. (2009). Natural cytotoxicity receptors NKp30, NKp44 and NKp46 bind to different heparan sulfate/heparin sequences. *Journal of Proteome Research*, 8(2), 712–720. <https://doi.org/10.1021/PR800747C>
- Heiden, M. G. V., Cantley, L. C., & Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science* (New York, N.Y.), 324(5930), 1029. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1160809>
- Heim, L., Kachler, K., Siegmund, R., Trufa, D. I., Mittler, S., Geppert, C. I., Friedrich, J., Rieker, R. J., Sirbu, H., & Finotto, S. (2019). Increased expression of the immunosuppressive interleukin-35 in patients with non-small cell lung cancer. *British Journal of Cancer*, 120(9), 903. <https://doi.org/10.1038/S41416-019-0444-3>
- Heinhuis, B., Koenders, M. I., Van Riel, P. L., Van De Loo, F. A., Dinarello, C. A., Netea, M. G., Van Den Berg, W. B., & Joosten, L. A. B. (2011). Tumour necrosis factor alpha-driven IL-32 expression in rheumatoid arthritis synovial tissue amplifies an inflammatory cascade. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(4), 660–667. <https://doi.org/10.1136/ARD.2010.139196>
- Henry, C. M., Sullivan, G. P., Clancy, D. M., Afonina, I. S., Kulms, D., & Martin, S. J. (2016). Neutrophil-Derived Proteases Escalate Inflammation through Activation of IL-36 Family Cytokines. *Cell Reports*, 14(4), 708–722. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.072>
- Heo, W., Lee, Y. S., Son, C. H., Yang, K., Park, Y. S., & Bae, J. (2015). Radiation-induced matrix metalloproteinases limit natural killer cell-mediated anticancer immunity in NCI-H23 lung cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 11(3), 1800–1806. <https://doi.org/10.3892/MMR.2014.2918>
- Herbst, R. S., Majem, M., Barlesi, F., Carcereny, E., Chu, Q., Monnet, I., Sanchez-Hernandez, A., Dakhil, S., Camidge, D. R., Winzer, L., Soo-Hoo, Y., Cooper, Z. A., Kumar, R., Bothos, J., Aggarwal, C., & Martinez-Marti, A. (2022). COAST: An Open-Label, Phase II, Multidrug Platform Study of Durvalumab Alone or in Combination with Oleclumab or Monalizumab in Patients with Unresectable, Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 3. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.00227>
- Hernandez, R., Pöder, J., LaPorte, K. M., & Malek, T. R. (2022). Engineering IL-2 for immunotherapy of autoimmunity and cancer. *Nature Reviews Immunology* 2022 22:10, 22(10), 614–628. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00680-w>
- Hernández-Caselles, T., Martínez-Esparza, M., Pérez-Oliva, A. B., Quintanilla-Cecconi, A. M., García-Alonso, A., Alvarez-López, D. M. R., & García-Peñarrubia, P. (2006). A study of CD33 (SIGLEC-3) antigen expression and function on activated human T and NK cells: two isoforms of CD33 are generated by alternative splicing. *Journal of Leukocyte Biology*, 79(1), 46–58. <https://doi.org/10.1189/JLB.0205096>
- Heyes, M. P. (1991). Relationship Between Interferon- $\gamma$ , Indoleamine-2,3-dioxygenase and Tryptophan. *The FASEB Journal*, 5(14), 3003–3004. <https://doi.org/10.1096/fasebj.5.14.1752366>
- Hirata, Y., Egea, L., Dann, S. M., Eckmann, L., & Kagnoff, M. F. (2010). GM-CSF-facilitated dendritic cell recruitment and survival govern the intestinal mucosal response to a mouse enteric bacterial pathogen. *Cell Host & Microbe*, 7(2), 151–163. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.01.006>
- Hochdörfer, T., Winkler, C., Pardali, K., & Mjösberg, J. (2019). Expression of c-Kit discriminates between two functionally distinct subsets of human type 2 innate lymphoid cells. *European Journal of Immunology*, 49(6), 884–893. <https://doi.org/10.1002/EJI.201848006>
- Hohlbaum, A. M., Moe, S., & Marshak-Rothstein, A. (2000). Opposing Effects of Transmembrane and Soluble FAS Ligand Expression on Inflammation and Tumor Cell Survival. *Journal of Experimental Medicine*, 191(7), 1209–1220. <https://doi.org/10.1084/JEM.191.7.1209>

- Hollande, C., Boussier, J., Ziai, J., Nozawa, T., Bondet, V., Phung, W., Lu, B., Duffy, D., Paradis, V., Mallet, V., Eberl, G., Sandoval, W., Schartner, J. M., Pol, S., Barreira da Silva, R., & Albert, M. L. (2019). Inhibition of the dipeptidyl peptidase DPP4 (CD26) reveals IL-33-dependent eosinophil-mediated control of tumor growth. *Nature Immunology* 20(3), 257–264. <https://doi.org/10.1038/S41590-019-0321-5>
- Hollenbeak, C. S., Todd, M. M., Billingsley, E. M., Harper, G., Dyer, A. M., & Lengerich, E. J. (2005). Increased incidence of melanoma in renal transplantation recipients. *Cancer*, 104(9), 1962–1967. <https://doi.org/10.1002/CNCR.21404>
- Holmes, T. D., & Bryceson, Y. T. (2016). Natural killer cell memory in context. *Seminars in Immunology*, 28(4), 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2016.05.008>
- Holmes, T. D., Pandey, R. V., Helm, E. Y., Schlums, H., Han, H., Campbell, T. M., Drashansky, T. T., Chiang, S., Wu, C. Y., Tao, C., Shoukier, M., Tolosa, E., Hardenberg, S. Von, Sun, M., Klemann, C., Marsh, R. A., Lau, C. M., Lin, Y., Sun, J. C., ... Bryceson, Y. T. (2021). The transcription factor Bcl11b promotes both canonical and adaptive NK cell differentiation. *Science Immunology*, 6(57). <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABC9801>
- Horn, L. A., Chariou, P. L., Gameiro, S. R., Qin, H., Iida, M., Fousek, K., Meyer, T. J., Cam, M., Flies, D., Langermann, S., Schlom, J., & Palena, C. (2022). Remodeling the tumor microenvironment via blockade of LAIR-1 and TGF- $\beta$  signaling enables PD-L1-mediated tumor eradication. *The Journal of Clinical Investigation*, 132(8). <https://doi.org/10.1172/JCI155148>
- Hornig, T., Bezradica, J. S., & Medzhitov, R. (2007). NKG2D signaling is coupled to the interleukin 15 receptor signaling pathway. *Nature Immunology* 2007 8:12, 8(12), 1345–1352. <https://doi.org/10.1038/ni1524>
- Hornung, V., Rothenfusser, S., Britsch, S., Krug, A., Jahrsdörfer, B., Giese, T., Endres, S., & Hartmann, G. (2002). Quantitative Expression of Toll-Like Receptor 1–10 mRNA in Cellular Subsets of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells and Sensitivity to CpG Oligodeoxynucleotides. *The Journal of Immunology*, 168(9), 4531–4537. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.168.9.4531>
- Horowitz, A., Behrens, R. H., Okell, L., Fooks, A. R., & Riley, E. M. (2010). NK cells as effectors of acquired immune responses: effector CD4+ T cell-dependent activation of NK cells following vaccination. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 185(5), 2808–2818. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1000844>
- Horwitz, D. A., Gray, J. D., & Ohtsuka, K. (1999). Role of NK cells and TGF-beta in the regulation of T-cell-dependent antibody production in health and autoimmune disease. *Microbes and Infection*, 1(15), 1305–1311. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)00253-1](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(99)00253-1)
- Hoshino, T., Winkler-Pickett, R. T., Mason, A. T., Ortaldo, J. R., & Young, H. A. (1999). IL-13 Production by NK Cells: IL-13-Producing NK and T Cells Are Present In Vivo in the Absence of IFN- $\gamma$ . *The Journal of Immunology*, 162(1), 51–59. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.162.1.51>
- Hou, R., Huang, R., Zhou, Y., Lin, D., Xu, J., Yang, L., Wei, X., Xie, Z., & Zhou, Q. (2023). Single-cell profiling of the microenvironment in decidual tissue from women with missed abortions. *Fertility and Sterility*, 119(3), 492–503. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.12.016>
- Houchins, J. P., Lanier, L. L., Niemi, E. C., Phillips, J. H., & Ryan, J. C. (1997). Natural killer cell cytolytic activity is inhibited by NKG2-A and activated by NKG2-C. *The Journal of Immunology*, 158(8), 3603–3609. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.158.8.3603>
- Hsu, J., Hodgins, J. J., Marathe, M., Nicolai, C. J., Bourgeois-Daigneault, M. C., Trevino, T. N., Azimi, C. S., Scheer, A. K., Randolph, H. E., Thompson, T. W., Zhang, L., Iannello, A., Mathur, N., Jardine, K. E., Kirn, G. A., Bell, J. C., McBurney, M. W., Raulet, D. H., & Ardolino, M. (2018). Contribution of NK cells to immunotherapy mediated by PD-1/PD-L1 blockade. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(10), 4654–4668. <https://doi.org/10.1172/JCI99317>
- Hu, H., Sun, J., Wang, C., Bu, X., Liu, X., Mao, Y., & Wang, H. (2017a). IL-33 facilitates endocrine resistance of breast cancer by inducing cancer stem cell properties. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 485(3), 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.02.080>
- Hu, L. A., Fu, Y., Zhang, D. N., & Zhang, J. (2013). Serum IL-33 as a diagnostic and prognostic marker in non-small cell lung cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 14(4), 2563–2566. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.4.2563>
- Huang, C., Li, N., Li, Z., Chang, A., Chen, Y., Zhao, T., Li, Y., Wang, X., Zhang, W., Wang, Z., Luo, L., Shi, J., Yang, S., Ren, H., & Hao, J. (2017). Tumour-derived Interleukin 35 promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell extravasation and metastasis by inducing ICAM1 expression. *Nature Communications* 2017 8:1, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/ncomms14035>
- Huang, C., Li, Z., Li, N., Li, Y., Chang, A., Zhao, T., Wang, X., Wang, H., Gao, S., Yang, S., Hao, J., & Ren, H. (2018). Interleukin 35 Expression Correlates With Microvessel Density in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, Recruits Monocytes, and Promotes Growth and Angiogenesis of Xenograft Tumors in Mice. *Gastroenterology*, 154(3), 675–688. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2017.09.039>
- Huang, S., Hendriks, W., Althage, A., Hemmi, S., Bluethmann, H., Kamijo, R., Vilček, J., Zinkernagel, R. M., & Aguet, M. (1993). Immune response in mice that lack the interferon-gamma receptor. *Science (New York, N.Y.)*, 259(5102), 1742–1745. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8456301>
- Huang, Y. H., Zhu, C., Kondo, Y., Anderson, A. C., Gandhi, A., Russell, A., Dougan, S. K., Petersen, B. S., Melum, E., Pertel, T., Clayton, K. L., Raab, M., Chen, Q., Beauchemin, N., Yazaki, P. J., Pyzik, M., Ostrowski, M. A., Glickman, J. N., Rudd, C. E., ... Blumberg, R. S. (2015). CEACAM1 regulates TIM-3-mediated tolerance and exhaustion. *Nature*, 517(7534), 386–390. <https://doi.org/10.1038/NATURE13848>
- Huang, Y., Guo, L., Qiu, J., Chen, X., Hu-Li, J., Siebenlist, U., Williamson, P. R., Urban, J. F., & Paul, W. E. (2015). IL-25-responsive, lineage-negative KLRG1(hi) cells are multipotential “inflammatory” type 2 innate lymphoid cells. *Nature Immunology*, 16(2), 161–169. <https://doi.org/10.1038/NI.3078>
- Huang, Y., Li, X., Zhu, L., Huang, C., Chen, W., Ling, Z., Zhu, S. L., Feng, X., Yi, C., Gu, W., Yan, C., Wang, J., Ma, L., Su, X., Dai, R., Shi, G., Sun, B., & Zhang, Y. (2022). Thrombin cleaves IL-33 and modulates IL-33-activated allergic lung inflammation. *Allergy*, 77(7), 2104–2120. <https://doi.org/10.1111/ALL.15210>
- Huang, Y., Wang, Y., Li, Y., Guo, K., & He, Y. (2011). Role of sorafenib and sunitinib in the induction of expressions of NKG2D ligands in nasopharyngeal carcinoma with high expression of ABCG2. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 137(5), 829–837. <https://doi.org/10.1007/S00432-010-0944-2>



- Huard, B., Prigent, P., Tournier, M., Bruniquel, D., & Triebel, F. (1995). CD4/major histocompatibility complex class II interaction analyzed with CD4- and lymphocyte activation gene-3 (LAG-3)-Ig fusion proteins. *European Journal of Immunology*, 25(9), 2718–2721. <https://doi.org/10.1002/EJL1830250949>
- Hudak, J. E., Canham, S. M., & Bertozzi, C. R. (2014). Glycocalyx engineering reveals a Siglec-based mechanism for NK cell immunoevasion. *Nature Chemical Biology*, 10(1), 69–75. <https://doi.org/10.1038/NCHEMBIO.1388>
- Huhn, O., Ivarsson, M. A., Gardner, L., Hollinshead, M., Stinchcombe, J. C., Chen, P., Shreeve, N., Chazara, O., Farrell, L. E., Theorell, J., Ghadially, H., Parham, P., Griffiths, G., Horowitz, A., Moffett, A., Sharkey, A. M., & Colucci, F. (2020). Distinctive phenotypes and functions of innate lymphoid cells in human decidua during early pregnancy. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-019-14123-Z>
- Hung, L. Y., Pastore, C. F., Douglas, B., & Herbert, D. R. (2021). Myeloid-Derived IL-33 Limits the Severity of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis. *The American Journal of Pathology*, 191(2), 266–273. <https://doi.org/10.1016/J.AJP.2020.11.004>
- Hung, L. Y., Tanaka, Y., Herbine, K., Pastore, C., Singh, B., Ferguson, A., Vora, N., Douglas, B., Zullo, K., Behrens, E. M., Tan, T. L. H., Kohanski, M. A., Bryce, P., Lin, C., Kambayashi, T., Reed, D. R., Brown, B. L., Cohen, N. A., & Herbert, D. R. (2020). Cellular context of IL-33 expression dictates impact on anti-helminth immunity. *Science Immunology*, 5(53), 6259. [https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABC6259/SUPPL\\_FILE/ABC6259\\_TABLE\\_S3.XLSX](https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABC6259/SUPPL_FILE/ABC6259_TABLE_S3.XLSX)
- Hunter, C. A., Timans, J., Pisacane, P., Menon, S., Cai, G., Walker, W., Aste-Amezaga, M., Chizzonite, R., Bazan, J. F., & Kastelein, R. A. (1997). Comparison of the effects of interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta and interferon-gamma-inducing factor on the production of interferon-gamma by natural killer. *European Journal of Immunology*, 27(11), 2787–2792. <https://doi.org/10.1002/EJL1830271107>
- Huntington, K. E., Louie, A. D., Srinivasan, P. R., Schorl, C., Lu, S., Silverberg, D., Newhouse, D., Wu, Z., Zhou, L., Borden, B. A., Giles, F. J., Dooner, M., Carneiro, B. A., & El-Deiry, W. S. (2023). GSK-3 inhibitor elraglusib enhances tumor-infiltrating immune cell activation in tumor biopsies and synergizes with anti-PD-L1 in a murine model of colorectal cancer. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.02.07.527499>
- Huntington, N. D., Cursons, J., & Rautela, J. (2020). The cancer–natural killer cell immunity cycle. *Nature Reviews Cancer* 2020 20:8, 20(8), 437–454. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0272-z>
- Huntington, N. D., Legrand, N., Alves, N. L., Jaron, B., Weijer, K., Plet, A., Corcuff, E., Mortier, E., Jacques, Y., Spits, H., & Di Santo, J. P. (2009). IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 206(1), 25–34. <https://doi.org/10.1084/JEM.20082013>
- Husain, Z., Huang, Y., Seth, P., & Sukhatme, V. P. (2013). Tumor-Derived Lactate Modifies Antitumor Immune Response: Effect on Myeloid-Derived Suppressor Cells and NK Cells. *The Journal of Immunology*, 191(3), 1486–1495. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202702>
- Hutmacher, C., Nuñez, N. G., Liuzzi, A. R., Becher, B., & Neri, D. (2019). Targeted Delivery of IL2 to the Tumor Stroma Potentiates the Action of Immune Checkpoint Inhibitors by Preferential Activation of NK and CD8+ T Cells. *Cancer Immunology Research*, 7(4), 572–583. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0566>
- Huhtanen, J., Kasanen, H., Peltola, K., Lönnberg, T., Glumoff, V., Brück, O., Dufva, O., Peltonen, K., Vikkula, J., Jokinen, E., Ilander, M., Lee, M. H., Mäkelä, S., Nyakas, M., Li, B., Hernberg, M., Bono, P., Lähdesmäki, H., Kreutzman, A., & Mustjoki, S. (2023). Single-cell characterization of anti-LAG-3 and anti-PD-1 combination treatment in patients with melanoma. *The Journal of Clinical Investigation*, 133(6). <https://doi.org/10.1172/JCI164809>
- Iguchi-Manaka, A., Kai, H., Yamashita, Y., Shibata, K., Tahara-Hanaoka, S., Honda, S. I., Yasui, T., Kikutani, H., Shibuya, K., & Shibuya, A. (2008). Accelerated tumor growth in mice deficient in DNAM-1 receptor. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(13), 2959–2964. <https://doi.org/10.1084/JEM.20081611>
- Ikeda, H., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2002). The roles of IFN $\gamma$  in protection against tumor development and cancer immunoevasion. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 13(2), 95–109. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(01\)00038-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(01)00038-7)
- Ikutani, M., Yanagibashi, T., Ogasawara, M., Tsuneyama, K., Yamamoto, S., Hattori, Y., Kouro, T., Itakura, A., Nagai, Y., Takaki, S., & Takatsu, K. (2012). Identification of Innate IL-5-Producing Cells and Their Role in Lung Eosinophil Regulation and Antitumor Immunity. *The Journal of Immunology*, 188(2), 703–713. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1101270>
- Ilander, M. M., Olsson-Strömberg, U., Lähteenmäki, H., Tiina, K., Koskenvesa, P., Söderlund, S., Höglund, M., Markevärn, B., Sjölander, A., Lotfi, K., Malm, C., Lubking, A., Ekblom, M., Holm, E., Björemann, M., Lehmann, S., Stenke, L., Ohm, L., Majeed, W., ... Mustjoki, S. (2014). Early Disease Relapse after Tyrosine Kinase Inhibitor Treatment Discontinuation in CML Is Related Both to Low Number and Impaired Function of NK-Cells. *Blood*, 124(21), 812–812. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V124.21.812.812>
- Illman, S. A., Lehti, K., Keski-Oja, J., & Lohi, J. (2006). Epilysin (MMP-28) induces TGF-beta mediated epithelial to mesenchymal transition in lung carcinoma cells. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 18), 3856–3865. <https://doi.org/10.1242/JCS.03157>
- Imada, K., Bloom, E. T., Nakajima, H., Horvath-Arcidiacono, J. A., Udy, G. B., Davey, H. W., & Leonard, W. J. (1998). Stat5b is essential for natural killer cell-mediated proliferation and cytolytic activity. *The Journal of Experimental Medicine*, 188(11), 2067–2074. <https://doi.org/10.1084/JEM.188.11.2067>
- Imai, Y., Yasuda, K., Sakaguchi, Y., Futatsugi-Yumikura, S., Yoshimoto, T., Nakanishi, K., & Yamanishi, K. (2014). Immediate-type contact hypersensitivity is reduced in interleukin-33 knockout mice. *Journal of Dermatological Science*, 74(2), 159–161. <https://doi.org/10.1016/J.JDERMSCI.2014.01.009>
- Ishikawa, E., Tsuboi, K., Saijo, K., Harada, H., Takano, S., Nose, T., & Ohno, T. (2004). Autologous Natural Killer Cell Therapy for Human Recurrent Malignant Glioma. *Anticancer Research*, 24(3B), 1861–1871. <https://ar.iiarjournals.org/content/24/3B/1861>
- Itakura, E., Huang, R. R., Wen, D. R., Paul, E., Wunsch, P. H., & Cochran, A. J. (2011). IL-10 expression by primary tumor cells correlates with melanoma progression from radial to vertical growth phase and development of metastatic competence. *Modern Pathology* 2011 24:6, 24(6), 801–809. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.5>

- Ito, M., Maruyama, T., Saito, N., Koganei, S., Yamamoto, K., & Matsumoto, N. (2006). Killer cell lectin-like receptor G1 binds three members of the classical cadherin family to inhibit NK cell cytotoxicity. *The Journal of Experimental Medicine*, 203(2), 289–295. <https://doi.org/10.1084/JEM.20051986>
- Jackson, D. J., Makrinioti, H., Rana, B. M. J., Shamji, B. W. H., Trujillo-Torralbo, M. B., Footitt, J., Del-Rosario, J., Telcian, A. G., Nikonova, A., Zhu, J., Aniscenko, J., Gogsadze, L., Bakhsholiani, E., Traub, S., Dhariwal, J., Porter, J., Hunt, D., Hunt, T., Hunt, T., ... Johnston, S. L. (2014). IL-33-dependent type 2 inflammation during rhinovirus-induced asthma exacerbations in vivo. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 190(12), 1373–1382. <https://doi.org/10.1164/RCCM.201406-1039OC>
- Jandus, C., Boligan, K. F., Chijioke, O., Liu, H., Dahlhaus, M., Démoulines, T., Schneider, C., Wehrli, M., Hunger, R. E., Baerlocher, G. M., Simon, H. U., Romero, P., Münz, C., & Von Gunten, S. (2014). Interactions between Siglec-7/9 receptors and ligands influence NK cell-dependent tumor immunosurveillance. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(4), 1810–1820. <https://doi.org/10.1172/JCI65899>
- Jarahian, M., Watzl, C., Fournier, P., Arnold, A., Djandji, D., Zahedi, S., Cerwenka, A., Paschen, A., Schirmacher, V., & Momburg, F. (2009). Activation of Natural Killer Cells by Newcastle Disease Virus Hemagglutinin-Neuraminidase. *Journal of Virology*, 83(16), 8108. <https://doi.org/10.1128/JVI.00211-09>
- Jeevan-Raj, B., Gehrig, J., Charmoy, M., Chennupati, V., Grandclément, C., Angelino, P., Delorenzi, M., & Held, W. (2017). The Transcription Factor Tcf1 Contributes to Normal NK Cell Development and Function by Limiting the Expression of Granzymes. *Cell Reports*, 20(3), 613–626. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.06.071>
- Jenkins, M. R., Trapani, J. A., Doherty, P. C., & Turner, S. J. (2008). Granzyme K Expressing Cytotoxic T Lymphocytes Protects Against Influenza Virus in Granzyme AB<sup>-/-</sup> Mice. <https://Home.Liebertpub.Com/Vim>, 21(3), 341–346. <https://doi.org/10.1089/VIM.2008.0036>
- Jenne, C. N., Enders, A., Rivera, R., Watson, S. R., Bankovich, A. J., Pereira, J. P., Xu, Y., Roots, C. M., Beilke, J. N., Banerjee, A., Reiner, S. L., Miller, S. A., Weinmann, A. S., Goodnow, C. C., Lanier, L. L., Cyster, J. G., & Chun, J. (2009). T-bet-dependent S1P5 expression in NK cells promotes egress from lymph nodes and bone marrow. *Journal of Experimental Medicine*, 206(11), 2469–2481. <https://doi.org/10.1084/JEM.20090525>
- Jenne, C. N., Enders, A., Rivera, R., Watson, S. R., Bankovich, A. J., Pereira, J. P., Xu, Y., Roots, C. M., Beilke, J. N., Banerjee, A., Reiner, S. L., Miller, S. A., Weinmann, A. S., Goodnow, C. C., Lanier, L. L., Cyster, J. G., & Chun, J. (2009). T-bet-dependent S1P5 expression in NK cells promotes egress from lymph nodes and bone marrow. *Journal of Experimental Medicine*, 206(11), 2469–2481. <https://doi.org/10.1084/JEM.20090525>
- Jeon, Y. J., Gil, C. H., Won, J., Jo, A., & Kim, H. J. (2023). Symbiotic microbiome *Staphylococcus epidermidis* restricts IL-33 production in allergic nasal epithelium via limiting the cellular necroptosis. *BMC Microbiology*, 23(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12866-023-02898-7/TABLES/1>
- Jevtovic, A., Pantic, J., Jovanovic, I., Milovanovic, M., Stanojevic, I., Vojvodic, D., Arsenijevic, N., Lukic, M. L., & Radosavljevic, G. D. (2020). Interleukin-33 pretreatment promotes metastatic growth of murine melanoma by reducing the cytotoxic capacity of CD8<sup>+</sup> T cells and enhancing regulatory T cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 69(8), 1461–1475. <https://doi.org/10.1007/S00262-020-02522-X>
- Jewett, A., & Bonavida, B. (1995). Interferon-alpha activates cytotoxic function but inhibits interleukin-2-mediated proliferation and tumor necrosis factor-alpha secretion by immature human natural killer cells. *Journal of Clinical Immunology*, 15(1), 35–44. <https://doi.org/10.1007/BF01489488>
- Jiang, W., Chai, N. R., Maric, D., & Bielekova, B. (2011). Unexpected role for granzyme K in CD56bright NK cell-mediated immunoregulation of multiple sclerosis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 187(2), 781–790. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1100789>
- Jiang, Y., Yang, M., Sun, X., Chen, X., Ma, M., Yin, X., Qian, S., Zhang, Z., Fu, Y., Liu, J., Han, X., Xu, J., & Shang, H. (2018). IL-10+ NK and TGF-β+ NK cells play negative regulatory roles in HIV infection. *BMC Infectious Diseases*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12879-018-2991-2>
- Jiao, M., Sun, Y., Shi, J., Zhang, N., Tang, X., Fan, A., Liu, S., Dai, C., Qian, Z., Zhang, F., Wang, C., Chen, H., & Zheng, F. (2023). IL-33 and HMGB1 modulate the progression of EAE via oppositely regulating each other. *International Immunopharmacology*, 122, 110653. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110653>
- Jin, R., Xu, J., Gao, Q., Mao, X., Yin, J., Lu, K., Guo, Y., Zhang, M., & Cheng, R. (2020). IL-33-induced neutrophil extracellular traps degrade fibronectin in a murine model of bronchopulmonary dysplasia. *Cell Death Discovery* 2020 6:1, 6(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41420-020-0267-2>
- Jin, Z., Lei, L., Lin, D., Liu, Y., Song, Y., Gong, H., Zhu, Y., Mei, Y., Hu, B., Wu, Y., Zhang, G., & Liu, H. (2018a). IL-33 Released in the Liver Inhibits Tumor Growth via Promotion of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T Cell Responses in Hepatocellular Carcinoma. *The Journal of Immunology*, 201(12), 3770–3779. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1800627>
- Jinushi, M., Takehara, T., Kanto, T., Tatsumi, T., Groh, V., Spies, T., Miyagi, T., Suzuki, T., Sasaki, Y., & Hayashi, N. (2003). Critical Role of MHC Class I-Related Chain A and B Expression on IFN-α-Stimulated Dendritic Cells in NK Cell Activation: Impairment in Chronic Hepatitis C Virus Infection. *The Journal of Immunology*, 170(3), 1249–1256. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.170.3.1249>
- Jocic, M., Arsenijevic, N., Gajovic, N., Jurisevic, M., Jovanovic, I., Jovanovic, M., Zdravkovic, N., Maric, V., & Jovanovic, M. (2022). Anemia of inflammation in patients with colorectal cancer: Correlation with interleukin-1, interleukin-33 and galectin-1. *Journal of Medical Biochemistry*, 41(1), 79–90. <https://doi.org/10.5937/JOMB0-30135>
- Johansson, K., Malmhäll, C., Ramos-Ramírez, P., & Rådinger, M. (2018). Bone marrow type 2 innate lymphoid cells: a local source of interleukin-5 in interleukin-33-driven eosinophilia. *Immunology*, 153(2), 268–278. <https://doi.org/10.1111/IMM.12842>
- Johansson, S., Johansson, M., Rosmaraki, E., Vahlne, G., Mehr, R., Salmon-Divon, M., Lemonnier, F., Kärre, K., & Höglund, P. (2005). Natural killer cell education in mice with single or multiple major histocompatibility complex class I molecules. *The Journal of Experimental Medicine*, 201(7), 1145. <https://doi.org/10.1084/JEM.20050167>
- Johnson, A. F., Sands, J. S., Trivedi, K. M., Russell, R., LaRock, D. L., & LaRock, C. N. (2023). Constitutive secretion of pro-IL-18 allows keratinocytes to initiate inflammation during bacterial infection. *PLoS Pathogens*, 19(4), e1011321. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1011321>
- Joncker, N. T., Shifrin, N., Delebecque, F., & Raulet, D. H. (2010). Mature natural killer cells reset their responsiveness when exposed to an altered MHC environment. *The Journal of Experimental Medicine*, 207(10), 2065–2072. <https://doi.org/10.1084/JEM.20100570>

- Joshi, A. D., Oak, S. R., Hartigan, A. J., Finn, W. G., Kunkel, S. L., Duffy, K. E., Das, A., & Hogaboam, C. M. (2010). Interleukin-33 contributes to both M1 and M2 chemokine marker expression in human macrophages. *BMC Immunology*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-11-52/FIGURES/6>
- Jost, S., Reardon, J., Peterson, E., Poole, D., Bosch, R., Alter, G., & Altfeld, M. (2011). Expansion of 2B4+ natural killer (NK) cells and decrease in NKp46+ NK cells in response to influenza. *Immunology*, 132(4), 516. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03394.x>
- Jovanovic, I. P., Pejnovic, N. N., Radosavljevic, G. D., Pantic, J. M., Milovanovic, M. Z., Arsenijevic, N. N., & Lukic, M. L. (2014). Interleukin-33/ST2 axis promotes breast cancer growth and metastases by facilitating intratumoral accumulation of immunosuppressive and innate lymphoid cells. *International Journal of Cancer*, 134(7), 1669-1682. <https://doi.org/10.1002/IJC.28481>
- Judge, S. J., Dunai, C., Aguilar, E. G., Vick, S. C., Sturgill, I. R., Khuat, L. T., Stoffel, K. M., Van Dyke, J., Longo, D. L., Darrow, M. A., Anderson, S. K., Blazar, B. R., Monjazeb, A. M., Serody, J. S., Canter, R. J., & Murphy, W. J. (2020). Minimal PD-1 expression in mouse and human NK cells under diverse conditions. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(6), 3051. <https://doi.org/10.1172/JCI133353>
- Juelke, K., Killig, M., Luetke-Eversloh, M., Parente, E., Gruen, J., Morandi, B., Ferlazzo, G., Thiel, A., Schmitt-Knosalla, I., & Romagnani, C. (2010). CD62L expression identifies a unique subset of polyfunctional CD56dim NK cells. *Blood*, 116(8), 1299-1307. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-11-253286>
- Juin, P., Geneste, O., Gautier, F., Depil, S., & Campone, M. (2013). Decoding and unlocking the BCL-2 dependency of cancer cells. *Nature Reviews Cancer* 2013 13:7, 13(7), 455-465. <https://doi.org/10.1038/nrc3538>
- Kägi, D., Ledermann, B., Bürki, K., Seiler, P., Odermatt, B., Olsen, K. J., Podack, E. R., Zinkernagel, R. M., & Hengartner, H. (1994). Cytotoxicity mediated by T cells and natural killer cells is greatly impaired in perforin-deficient mice. *Nature* 1994 369:6475, 369(6475), 31-37. <https://doi.org/10.1038/369031a0>
- Kakkar, R., Hei, H., Dobner, S., & Lee, R. T. (2012). Interleukin 33 as a Mechanically Responsive Cytokine Secreted by Living Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 287(9), 6941-6948. <https://doi.org/10.1074/JBC.M111.298703>
- Kalkunte, S. S., Mselle, T. F., Norris, W. E., Wira, C. R., Sentman, C. L., & Sharma, S. (2009). Vascular endothelial growth factor C facilitates immune tolerance and endovascular activity of human uterine NK cells at the maternal-fetal interface. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 182(7), 4085-4092. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0803769>
- Kallert, S. M., Darbre, S., Bonilla, W. V., Kreutzfeldt, M., Page, N., Müller, P., Kreuzaler, M., Lu, M., Favre, S., Kreppel, F., Löhning, M., Luther, S. A., Zippelius, A., Merkler, D., & Pinschewer, D. D. (2017). Replicating viral vector platform exploits alarmin signals for potent CD8+ T cell-mediated tumour immunotherapy. *Nature Communications* 2017 8:1, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/ncomms15327>
- Kang, S., Narazaki, M., Metwally, H., & Kishimoto, T. (2020). Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *Journal of Experimental Medicine*, 217(5). <https://doi.org/10.1084/JEM.20190347/151633>
- Kaplan, M. H., Sun, Y. L., Hoey, T., & Grusby, M. J. (1996). Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4-deficient mice. *Nature*, 382(6587), 174-177. <https://doi.org/10.1038/382174A0>
- Kaplanski, G. (2018). Interleukin-18: Biological properties and role in disease pathogenesis. *Immunological Reviews*, 281(1), 138-153. <https://doi.org/10.1111/IMR.12616>
- Karsunky, H., Inlay, M. A., Serwold, T., Bhattacharya, D., & Weissman, I. L. (2008). Flk2+ common lymphoid progenitors possess equivalent differentiation potential for the B and T lineages. *Blood*, 111(12), 5562-5570. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-11-126219>
- Kasaian, M. T., Whitters, M. J., Carter, L. L., Lowe, L. D., Jussif, J. M., Deng, B., Johnson, K. A., Witek, J. A. S., Senices, M., Konz, R. F., Wurster, A. L., Donaldson, D. D., Collins, M., Young, D. A., & Grusby, M. J. (2002). IL-21 limits NK cell responses and promotes antigen-specific T cell activation: a mediator of the transition from innate to adaptive immunity. *Immunity*, 16(4), 559-569. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(02\)00295-9](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00295-9)
- Kasikova, L., Hensler, M., Truxova, I., Skapa, P., Laco, J., Belicova, L., Praznovec, I., Vosahlikova, S., Halaska, M. J., Brtnicky, T., Rob, L., Presl, J., Kostun, J., Cremer, I., Ryska, A., Kroemer, G., Galluzzi, L., Spisek, R., & Fucikova, J. (2019). Calreticulin exposure correlates with robust adaptive antitumor immunity and favorable prognosis in ovarian carcinoma patients. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1), 312. <https://doi.org/10.1186/S40425-019-0781-Z>
- Kaspar, A. A., Okada, S., Kumar, J., Poulain, F. R., Drouvalakis, K. A., Kelekar, A., Hanson, D. A., Kluck, R. M., Hitoshi, Y., Johnson, D. E., Froelich, C. J., Thompson, C. B., Newmeyer, D. D., Anel, A., Clayberger, C., & Krensky, A. M. (2001). A distinct pathway of cell-mediated apoptosis initiated by granulysin. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 167(1), 350-356. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.167.1.350>
- Katz-Kiriakos, E., Steinberg, D. F., Kluender, C. E., Osorio, O. A., Newsom-Stewart, C., Baronia, A., Byers, D. E., Holtzman, M. J., Katafiasz, D., Bailey, K. L., Brody, S. L., Miller, M. J., & Alexander-Brett, J. (2021). Epithelial IL-33 appropriates exosome trafficking for secretion in chronic airway disease. *JCI Insight*, 6(4). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.136166>
- Kaufmann, S. H. E. (2019). Immunology's Coming of Age. *Frontiers in Immunology*, 10(APR), 684. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.00684>
- Kayagaki, N., Kawasaki, A., Ebata, T., Ohmoto, H., Ikeda, S., Inoue, S., Yoshino, K., Okumura, K., & Yagita, H. (1995). Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. *The Journal of Experimental Medicine*, 182(6), 1777-1783. <https://doi.org/10.1084/JEM.182.6.1777>
- Kayagaki, N., Yamaguchi, N., Nakayama, M., Takeda, K., Akiba, H., Tsutsui, H., Okamura, H., Nakanishi, K., Okumura, K., & Yagita, H. (1999). Expression and Function of TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand on Murine Activated NK Cells. *The Journal of Immunology*, 163(4), 1906-1913. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.163.4.1906>
- Kearley, J., Silver, J. S., Sanden, C., Liu, Z., Berlin, A. A., White, N., Mori, M., Pham, T. H., Ward, C. K., Criner, G. J., Marchetti, N., Mustelin, T., Erjefalt, J. S., Kolbeck, R., & Humbles, A. A. (2015). Cigarette smoke silences innate lymphoid cell function and facilitates an exacerbated type I interleukin-33-dependent response to infection. *Immunity*, 42(3), 566-579. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.02.011>

- Keating, S. E., Zaiatz-Bittencourt, V., Loftus, R. M., Keane, C., Brennan, K., Finlay, D. K., & Gardiner, C. M. (2016). Metabolic Reprogramming Supports IFN- $\gamma$  Production by CD56bright NK Cells. *The Journal of Immunology*, 196(6), 2552–2560. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1501783>
- Kedia-Mehta, N., Tobin, L., Zaiatz-Bittencourt, V., Pisarska, M. M., De Barra, C., Choi, C., Elamin, E., O'Shea, D., Gardiner, C. M., Finlay, D. K., & Hogan, A. E. (2021). Cytokine-induced natural killer cell training is dependent on cellular metabolism and is defective in obesity. *Blood Advances*, 5(21), 4447. <https://doi.org/10.1182/BLOODADVANCES.2021005047>
- Kelly, J. M., Waterhouse, N. J., Cretney, E., Browne, K. A., Ellis, S., Trapani, J. A., & Smyth, M. J. (2004). Granzyme M mediates a novel form of perforin-dependent cell death. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(21), 22236–22242. <https://doi.org/10.1074/JBC.M401670200>
- Kennedy, M. K., Glaccum, M., Brown, S. N., Butz, E. A., Viney, J. L., Embers, M., Matsuki, N., Charrier, K., Sedger, L., Willis, C. R., Brasel, K., Morrissey, P. J., Stocking, K., Schuh, J. A. C. L., Joyce, S., & Peschon, J. J. (2000). Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. *The Journal of Experimental Medicine*, 191(5), 771–780. <https://doi.org/10.1084/JEM.191.5.771>
- Kennedy, P. R., Vallera, D. A., Ettestad, B., Hallstrom, C., Kodal, B., Todhunter, D. A., Bendzick, L., Hinderlie, P., Walker, J. T., Pulkrabek, B., Pastan, I., Kratzke, R. A., Fujioka, N., Miller, J. S., & Felices, M. (2023). A tri-specific killer engager against mesothelin targets NK cells towards lung cancer. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1060905/FULL>
- Keppel, M. P., Saucier, N., Mah, A. Y., Vogel, T. P., & Cooper, M. A. (2015). Activation-specific metabolic requirements for NK Cell IFN- $\gamma$  production. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 194(4), 1954–1962. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1402099>
- Keskin, D. B., Allan, D. S. J., Rybalov, B., Andzelm, M. M., Stern, J. N. H., Kopcow, H. D., Koopman, L. A., & Strominger, J. L. (2007). TGF promotes conversion of CD16 peripheral blood NK cells into CD16 NK cells with similarities to decidual NK cells. [www.pnas.org/cgi/content/full/](http://www.pnas.org/cgi/content/full/)
- Kessenbrock, K., Plaks, V., & Werb, Z. (2010). Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. *Cell*, 141(1), 52–67. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.03.015>
- Khanna, V., Kim, H., Zhang, W., Larson, P., Shah, M., Griffith, T. S., Ferguson, D., & Panyam, J. (2021). Novel TLR 7/8 agonists for improving NK cell mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC). *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83005-6>
- Kiekens, L., Wahlen, S., Persyn, E., De Vos, Z., Taghon, T., Vandekerckhove, B., & Leclercq, G. (2022). T-BET drives the conversion of human type 3 innate lymphoid cells into functional NK cells. *Frontiers in Immunology*, 13, 6244. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.975778/BIBTEX>
- Kienzl, M., Hasenoehrl, C., Valadez-Cosmes, P., Maitz, K., Sarsembayeva, A., Sturm, E., Heinemann, A., Kargl, J., & Schicho, R. (2020). IL-33 reduces tumor growth in models of colorectal cancer with the help of eosinophils. *Oncoimmunology*, 9(1). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2020.1776059>
- Kiessling, R., Klein, E., & Wigzell, H. (1975). "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *European Journal of Immunology*, 5(2), 112–117. <https://doi.org/10.1002/EJL.1830050208>
- Kiessling, R., Klein, E., Pross, H., & Wigzell, H. (1975). "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *European Journal of Immunology*, 5(2), 117–121. <https://doi.org/10.1002/EJL.1830050209>
- Kim, D. H., Kamel-Reid, S., Chang, H., Sutherland, R., Jung, C. W., Kim, H. J., Lee, J. J., & Lipton, J. H. (2009). Natural killer or natural killer/T cell lineage large granular lymphocytosis associated with dasatinib therapy for Philadelphia chromosome positive leukemia. *Haematologica*, 94(1), 135. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.13151>
- Kim, H. S., & Long, E. O. (2012). Complementary Phosphorylation Sites in the Adaptor Protein SLP-76 Promote Synergistic Activation of Natural Killer Cells. *Science Signaling*, 5(232). <https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.2002754>
- Kim, J. Y., Kim, G., Lim, S. C., & Choi, H. S. (2021). Il-33-induced transcriptional activation of lpin1 accelerates breast tumorigenesis. *Cancers*, 13(9), 2174. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13092174/S1>
- Kim, J. Y., Son, Y. O., Park, S. W., Bae, J. H., Joo, S. C., Hyung, H. K., Chung, B. S., Kim, S. H., & Kang, C. D. (2006). Increase of NKG2D ligands and sensitivity to NK cell-mediated cytotoxicity of tumor cells by heat shock and ionizing radiation. *Experimental & Molecular Medicine*, 38(5), 474–484. <https://doi.org/10.1038/EMM.2006.56>
- Kim, K. S., Choi, B., Choi, H., Ko, M. J., Kim, D. H., & Kim, D. H. (2022). Enhanced natural killer cell anti-tumor activity with nanoparticles mediated ferroptosis and potential therapeutic application in prostate cancer. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/S12951-022-01635-Y>
- Kim, M. S., Kim, E., Heo, J. S., Bae, D. J., Lee, J. U. W., Lee, T. H., Lee, H. J., Chang, H. S., Park, J. S., Jang, A. S., Koh, E. S., Hwang, H. G., Lim, G., Kim, S., & Park, C. S. (2015). Circulating IL-33 level is associated with the progression of lung cancer. *Lung Cancer*, 90(2), 346–351. <https://doi.org/10.1016/J.LUNGCAN.2015.08.011>
- Kim, S. H., Han, S. Y., Azam, T., Yoon, D. Y., & Dinarello, C. A. (2005). Interleukin-32: A cytokine and inducer of TNF $\alpha$ . *Immunity*, 22(1), 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.12.003>
- Kim, Y. J., Han, M. K., & Broxmeyer, H. E. (2008). 4-1BB regulates NKG2D costimulation in human cord blood CD8+ T cells. *Blood*, 111(3), 1378–1386. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-01-069450>
- Kiniwa, T., Enomoto, Y., Terazawa, N., Omia, A., Miyataa, N., Ishiwata, K., & Miyajima, A. (2016). NK cells activated by Interleukin-4 in cooperation with Interleukin-15 exhibit distinctive characteristics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(36), 10139–10144. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1600112113/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Kita, H. (2022). Gasdermin D pores for IL-33 release. *Nature Immunology* 2022 23:7, 23(7), 989–991. <https://doi.org/10.1038/S41590-022-01249-4>

- Klose, C. S. N., & Artis, D. (2016). Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nature Immunology*, 17(7), 765–774. <https://doi.org/10.1038/NI.3489>
- Knelson, E. H., Ivanova, E. V., Tarannum, M., Campisi, M., Lizotte, P. H., Booker, M. A., Ozgenc, I., Noureddine, M., Meisenheimer, B., Chen, M., Piel, B., Spicer, N., Obua, B., Messier, C. M., Shannon, E., Mahadevan, N. R., Tani, T., Schol, P. J., Lee-Hassett, A. M., ... Barbie, D. A. (2022). Activation of tumor-cell STING primes NK-cell therapy. *Cancer Immunology Research*, 10(8), 947. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-22-0017>
- Kobayashi, H., Dubois, S., Sato, N., Sabzevari, H., Sakai, Y., Waldmann, T. A., & Tagaya, Y. (2005). Role of trans-cellular IL-15 presentation in the activation of NK cell-mediated killing, which leads to enhanced tumor immunosurveillance. *Blood*, 105(2), 721–727. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2003-12-4187>
- Kobayashi, T., Voisin, B., Kim, D. Y., Kennedy, E. A., Jo, J. H., Shih, H. Y., Truong, A., Doebel, T., Sakamoto, K., Cui, C. Y., Schlessinger, D., Moro, K., Nakae, S., Horiuchi, K., Zhu, J., Leonard, W. J., Kong, H. H., & Nagao, K. (2019). Homeostatic Control of Sebaceous Glands by Innate Lymphoid Cells Regulates Commensal Bacteria Equilibrium. *Cell*, 176(5), 982. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.12.031>
- Kochetkova, I., Golden, S., Holderness, K., Callis, G., & Pascual, D. W. (2010). IL-35 Stimulation of CD39+ Regulatory T Cells Confers Protection against Collagen II-Induced Arthritis via the Production of IL-10. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 184(12), 7144. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0902739>
- Koga, M. M., Engel, A., Pigni, M., Lavanchy, C., Stevanin, M., Laversenne, V., Schneider, B. L., & Acha-Orbea, H. (2021). IL10- and IL35-Secreting MutuDC Lines Act in Cooperation to Inhibit Memory T Cell Activation Through LAG-3 Expression. *Frontiers in Immunology*, 12, 607315. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.607315/FULL>
- Koh, J., Kim, H. Y., Lee, Y., Park, I. K., Kang, C. H., Kim, Y. T., Kim, J. E., Choi, M., Lee, W. W., Jeon, Y. K., & Chung, D. H. (2019). IL23-Producing Human Lung Cancer Cells Promote Tumor Growth via Conversion of Innate Lymphoid Cell 1 (ILC1) into ILC3. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(13), 4026–4037. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3458>
- Kohn, L. A., Hao, Q. L., Sasidharan, R., Parekh, C., Ge, S., Zhu, Y., Mikkola, H. K. A., & Crooks, G. M. (2012). Lymphoid priming in human bone marrow begins before expression of CD10 with upregulation of L-selectin. *Nature Immunology*, 13(10), 963–971. <https://doi.org/10.1038/NI.2405>
- Kokkinou, E., Pandey, R. V., Mazzurana, L., Gutierrez-Perez, I., Tibbitt, C. A., Weigel, W., Soini, T., Carrasco, A., Rao, A., Nagasawa, M., Bal, S. M., Jangard, M., Friberg, D., Lindfors, U., Nordenvall, C., Ljunggren, M., Haapaniemi, S., Keita, Å. V., Söderholm, J., ... Mjösberg, J. (2022). CD45RA+CD62L- ILCs in human tissues represent a quiescent local reservoir for the generation of differentiated ILCs. *Science Immunology*, 7(70). <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABJ8301>
- Komai-Koma, M., Wang, E., Kurowska-Stolarska, M., Li, D., McSharry, C., & Xu, D. (2016). Interleukin-33 promoting Th1 lymphocyte differentiation depends on IL-12. *Immunobiology*, 221(3), 412. <https://doi.org/10.1016/J.IMBIO.2015.11.013>
- Kondo, M., Takeshita, T., Higuchi, M., Nakamura, M., Sudo, T., Nishikawa, S. I., & Sugamura, K. (1994). Functional participation of the IL-2 receptor gamma chain in IL-7 receptor complexes. *Science (New York, N.Y.)*, 263(5152), 1453–1454. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.8128231>
- Kondo, M., Weissman, I. L., & Akashi, K. (1997). Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell*, 91(5), 661–672. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80453-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80453-5)
- Kondo, Y., Yoshimoto, T., Yasuda, K., Futatsugi-yumikura, S., Morimoto, M., Hayashi, N., Hoshino, T., Fujimoto, J., & Nakanishi, K. (2008). Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *International Immunology*, 20(6), 791–800. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXN037>
- Koopman, L. A., Kopcow, H. D., Rybalov, B., Boyson, J. E., Orange, J. S., Schatz, F., Masch, R., Lockwood, C. J., Schachter, A. D., Park, P. J., & Strominger, J. L. (2003). Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(8), 1201–1212. <https://doi.org/10.1084/JEM.20030305>
- Kopcow, H. D., Allan, D. S. J., Chen, X., Rybalov, B., Andzelm, M. M., Ge, B., & Strominger, J. L. (2005). Human decidual NK cells form immature activating synapses and are not cytotoxic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(43), 15563–15568. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0507835102/ASSET/4DDAFF9F-F155-4E92-A101-F5F08D89C260/ASSETS/GRAPHIC/ZPQ0430599300005.JPEG>
- Kopp, H. G., Placke, T., & Salih, H. R. (2009). Platelet-derived transforming growth factor-beta down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Research*, 69(19), 7775–7783. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2123>
- Kotlarz, D., Ziętara, N., Uzel, G., Weidemann, T., Braun, C. J., Diestelhorst, J., Krawitz, P. M., Robinson, P. N., Hecht, J., Puchalka, J., Gertz, E. M., Schäffer, A. A., Lawrence, M. G., Kardava, L., Pfeifer, D., Baumann, U., Pfister, E. D., Hanson, E. P., Schambach, A., ... Klein, C. (2013). Loss-of-function mutations in the IL-21 receptor gene cause a primary immunodeficiency syndrome. *The Journal of Experimental Medicine*, 210(3), 433. <https://doi.org/10.1084/JEM.20111229>
- Kouo, T., Huang, L., Pucsek, A. B., Cao, M., Solt, S., Armstrong, T., & Jaffee, E. (2015). Galectin-3 Shapes Antitumor Immune Responses by Suppressing CD8+ T Cells via LAG-3 and Inhibiting Expansion of Plasmacytoid Dendritic Cells. *Cancer Immunology Research*, 3(4), 412–423. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0150>
- Kouzaki, H., Iijima, K., Kobayashi, T., O'Grady, S. M., & Kita, H. (2011). The danger signal, extracellular ATP, is a sensor for an airborne allergen and triggers IL-33 release and innate Th2-type responses. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 186(7), 4375–4387. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1003020>
- Krämer, B., Eisenhardt, M., Glässner, A., Körner, C., Sauerbruch, T., Spengler, U., & Nattermann, J. (2011). Do λ-IFNs IL28A and IL28B act on human natural killer cells? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(34), E519. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1108850108>
- Krammer, S., Yang, Z., Mitländer, H., Grund, J. C., Trump, S., Mittler, S., Zirik, S., & Finotto, S. (2023). Rhinovirus Suppresses TGF-β-GARP Presentation by Peripheral NK Cells. *Cells*, 12(1), 129. <https://doi.org/10.3390/CELLS12010129/S1>

- Krebs, R., Tikkanen, J. M., Raissadati, A., Hollmén, M., Dhaygude, K., & Lemström, K. B. (2022). Inhibition of Vascular Endothelial Growth Factor Receptors 1 and 2 Attenuates Natural Killer Cell and Innate Immune Responses in an Experimental Model for Obliterative Bronchiolitis. *The American Journal of Pathology*, 192(2), 254–269. <https://doi.org/10.1016/J.AJPATH.2021.10.018>
- Krensky, A. M., & Clayberger, C. (2009). Biology and clinical relevance of granulysin. *Tissue Antigens*, 73(3), 193. <https://doi.org/10.1111/J.1399-0039.2008.01218.X>
- Kroemer, G., Galassi, C., Zitvogel, L., & Galluzzi, L. (2022). Immunogenic cell stress and death. *Nature Immunology* 2022 23:4, 23(4), 487–500. <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01132-2>
- Krzywinska, E., Kantari-Mimoun, C., Kerdiles, Y., Sobecki, M., Isagawa, T., Gotthardt, D., Castells, M., Haubold, J., Millien, C., Viel, T., Tavitian, B., Takeda, N., Fandrey, J., Vivier, E., Sexl, V., & Stockmann, C. (2017). Loss of HIF-1 $\alpha$  in natural killer cells inhibits tumour growth by stimulating non-productive angiogenesis. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-017-01599-W>
- Kuczynski, E. A., Vermeulen, P. B., Pezzella, F., Kerbel, R. S., & Reynolds, A. R. (2019). Vessel co-option in cancer. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 16(8), 469–493. <https://doi.org/10.1038/S41571-019-0181-9>
- Kulkarni, A. B., Huh, C. G., Becker, D., Geiser, A., Lyght, M., Flanders, K. C., Roberts, A. B., Sporn, M. B., Ward, J. M., & Karlsson, S. (1993). Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(2), 770–774. <https://doi.org/10.1073/PNAS.90.2.770>
- Kulski, J. K., Shiina, T., Anzai, T., Kohara, S., & Inoko, H. (2002). Comparative genomic analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man. *Immunological Reviews*, 190(1), 95–122. <https://doi.org/10.1034/J.1600-065X.2002.19008.X>
- Kumar, P., Thakar, M. S., Ouyang, W., & Malarkannan, S. (2012). IL-22 from conventional NK cells is epithelial regenerative and inflammation protective during influenza infection. *Mucosal Immunology* 2013 6:1, 6(1), 69–82. <https://doi.org/10.1038/mi.2012.49>
- Kurowska-Stolarska, M., Stolarski, B., Kewin, P., Murphy, G., Corrigan, C. J., Ying, S., Pitman, N., Mirchandani, A., Rana, B., van Rooijen, N., Shepherd, M., McSharry, C., McInnes, I. B., Xu, D., & Liew, F. Y. (2009). IL-33 Amplifies the Polarization of Alternatively Activated Macrophages That Contribute to Airway Inflammation. *The Journal of Immunology*, 183(10), 6469–6477. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0901575>
- Kurt-Jones, E. A., Beller, D. I., Mizel, S. B., & Unanue, E. R. (1985). Identification of a membrane-associated interleukin 1 in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(4), 1204. <https://doi.org/10.1073/PNAS.82.4.1204>
- Kvansakul, M., Caria, S., & Hinds, M. G. (2017). The Bcl-2 Family in Host-Virus Interactions. *Viruses*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/V9100290>
- Kvedaraite, E., & Ginhoux, F. (2022). Human dendritic cells in cancer. *Science Immunology*, 7(70), 9409. <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABM9409/ASSET/AE22D540-AB41-4548-BAD2-ACFC6F735546/ASSETS/IMAGES/LARGE/SCIIMMUNOL.ABM9409-F3.JPG>
- Lamas, B., Vergnaud-Gauduchon, J., Goncalves-Mendes, N., Perche, O., Rossary, A., Vasson, M. P., & Farges, M. C. (2012). Altered functions of natural killer cells in response to L-Arginine availability. *Cellular Immunology*, 280(2), 182–190. <https://doi.org/10.1016/J.CELLIMM.2012.11.018>
- Lanier, L. L., Le, A. M., Civin, C. I., Loken, M. R., & Phillips, J. H. (1986). The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *Journal of Immunology*, 136(12), 4480–4486. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.136.12.4480>
- Laroni, A., Gandhi, R., Beynon, V., & Weiner, H. L. (2011). IL-27 Imparts Immunoregulatory Function to Human NK Cell Subsets. *PLOS ONE*, 6(10), e26173. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0026173>
- Laroni, A., Gandhi, R., Beynon, V., & Weiner, H. L. (2011). IL-27 Imparts Immunoregulatory Function to Human NK Cell Subsets. *PLOS ONE*, 6(10), e26173. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0026173>
- Lash, G. E., Schiessl, B., Kirkley, M., Innes, B. A., Cooper, A., Searle, R. F., Robson, S. C., & Bulmer, J. N. (2006). Expression of angiogenic growth factors by uterine natural killer cells during early pregnancy. *Journal of Leukocyte Biology*, 80(3), 572–580. <https://doi.org/10.1189/JLB.0406250>
- Laskowski, T. J., Biederstädt, A., & Rezvani, K. (2022). Natural killer cells in antitumour adoptive cell immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* 2022 22:10, 22(10), 557–575. <https://doi.org/10.1038/s41568-022-00491-0>
- Lau, C. M., Adams, N. M., Geary, C. D., Weizman, O. El, Rapp, M., Pritykin, Y., Leslie, C. S., & Sun, J. C. (2018). Epigenetic control of innate and adaptive immune memory. *Nature Immunology*, 19(9), 963. <https://doi.org/10.1038/S41590-018-0176-1>
- Lauzon, N. M., Mian, F., MacKenzie, R., & Ashkar, A. A. (2006). The direct effects of Toll-like receptor ligands on human NK cell cytokine production and cytotoxicity. *Cellular Immunology*, 241(2), 102–112. <https://doi.org/10.1016/J.CELLIMM.2006.08.004>
- Lavin, Y., Kobayashi, S., Leader, A., Amir, E. ad D., Elefant, N., Bigenwald, C., Remark, R., Sweeney, R., Becker, C. D., Levine, J. H., Meinhof, K., Chow, A., Kim-Shulze, S., Wolf, A., Medaglia, C., Li, H., Rytlewski, J. A., Emerson, R. O., Solovoyov, A., ... Merad, M. (2017). Innate Immune Landscape in Early Lung Adenocarcinoma by Paired Single-Cell Analyses. *Cell*, 169(4), 750. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.04.014>
- Law, R. H. P., Lukoyanova, N., Voskoboinik, I., Caradoc-Davies, T. T., Baran, K., Dunstone, M. A., D'Angelo, M. E., Orlova, E. V., Coulbaly, F., Verschoor, S., Browne, K. A., Ciccone, A., Kuiper, M. J., Bird, P. I., Trapani, J. A., Saibil, H. R., & Whisstock, J. C. (2010). The structural basis for membrane binding and pore formation by lymphocyte perforin. *Nature*, 468(7322), 447–451. <https://doi.org/10.1038/NATURE09518>
- Le Floch, A., Jalil, A., Franciszkievicz, K., Validire, P., Vergnon, I., & Mami-Chouaib, F. (2011). Minimal engagement of CD103 on cytotoxic T lymphocytes with an E-cadherin-Fc molecule triggers lytic granule polarization via a phospholipase Cgamma-dependent pathway. *Cancer Research*, 71(2), 328–338. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2457>

- Le Goffic, R., Arshad, M. I., Rauch, M., L'Helgoualc'h, A., Delmas, B., Piquet-Pellorce, C., & Samson, M. (2011). Infection with influenza virus induces IL-33 in murine lungs. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 45(6), 1125–1132. <https://doi.org/10.1165/RCMB.2010-05160C>
- Le Maux Chansac, B., Moretta, A., Vergnon, I., Opolon, P., Lécluse, Y., Grunenwald, D., Kubin, M., Soria, J.-C., Chouaib, S., & Mami-Chouaib, F. (2005). NK cells infiltrating a MHC class I-deficient lung adenocarcinoma display impaired cytotoxic activity toward autologous tumor cells associated with altered NK cell-triggering receptors. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 175(9), 5790–5798. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.175.9.5790>
- Lebbink, R. J., De Ruiter, T., Adelmeijer, J., Brenkman, A. B., Van Helvoort, J. M., Koch, M., Farndale, R. W., Lisman, T., Sonnenberg, A., Lenting, P. J., & Meyaard, L. (2006). Collagens are functional, high affinity ligands for the inhibitory immune receptor LAIR-1. *The Journal of Experimental Medicine*, 203(6), 1419–1425. <https://doi.org/10.1084/JEM.20052554>
- Lech, M., Kulkarni, O. P., Pfeiffer, S., Savarese, E., Krug, A., Garlanda, C., Mantovani, A., & Anders, H. J. (2008). Tir8/SigIRR prevents murine lupus by suppressing the immunostimulatory effects of lupus autoantigens. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(8), 1879. <https://doi.org/10.1084/JEM.20072646>
- Lee, A. J., Mian, F., Poznanski, S. M., Stackaruk, M., Chan, T., Chew, M. V., & Ashkar, A. A. (2019). Type I interferon receptor on NK cells negatively regulates interferon- $\gamma$  production. *Frontiers in Immunology*, 10(JUN), 1261. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01261/BIBTEX>
- Lee, C. C., Lin, J. C., Hwang, W. L., Kuo, Y. J., Chen, H. K., Tai, S. K., Lin, C. C., & Yang, M. H. (2018). Macrophage-secreted interleukin-35 regulates cancer cell plasticity to facilitate metastatic colonization. *Nature Communications* 2018 9:1, 9(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06268-0>
- Lee, E. J., So, M. W., Hong, S., Kim, Y. G., Yoo, B., & Lee, C. K. (2016). Interleukin-33 acts as a transcriptional repressor and extracellular cytokine in fibroblast-like synoviocytes in patients with rheumatoid arthritis. *Cytokine*, 77, 35–43. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2015.10.005>
- Lee, J. Y., Park, S., Min, W. S., & Kim, H. J. (2014). Restoration of natural killer cell cytotoxicity by VEGFR-3 inhibition in myelogenous leukemia. *Cancer Letters*, 354(2), 281–289. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2014.08.027>
- Lee, J., Zhang, T., Hwang, I., Kim, A., Nitschke, L., Kim, M. J., Scott, J. M., Kamimura, Y., Lanier, L. L., & Kim, S. (2015). Epigenetic modification and antibody-dependent expansion of memory-like NK cells in human cytomegalovirus-infected individuals. *Immunity*, 42(3), 431. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.02.013>
- Lee, K. M., Stott, R. T., Zhao, G., Soohoo, J., Xiong, W., Lian, M. M., Fitzgerald, L., Shi, S., Akrawi, E., Lei, J., Deng, S., Yeh, H., Markmann, J. F., & Kim, J. I. (2014). TGF- $\beta$ -producing regulatory B cells induce regulatory T cells and promote transplantation tolerance. *European Journal of Immunology*, 44(6), 1728–1736. <https://doi.org/10.1002/EJI.201344062>
- Lefrançois, E., Roga, S., Gautier, V., Gonzalez-de-Peredo, A., Monsarrat, B., Girard, J. P., & Cayrol, C. (2012). IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(5), 1673–1678. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1115884109>
- Lefrançois, E., Duval, A., Mirey, E., Roga, S., Espinosa, E., Cayrol, C., & Girard, J. P. (2014). Central domain of IL-33 is cleaved by mast cell proteases for potent activation of group-2 innate lymphoid cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(43), 15502–15507. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1410700111>
- Lemech, C., Dredge, K., Bampton, D., Hammond, E., Clouston, A., Waterhouse, N. J., Stanley, A. C., Leveque-El Mouttie, L., Chojnowski, G. M., Haydon, A., Pavlakis, N., Burge, M., Brown, M. P., & Goldstein, D. (2023). Phase Ib open-label, multicenter study of pixatimod, an activator of TLR9, in combination with nivolumab in subjects with microsatellite-stable metastatic colorectal cancer, metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma and other solid tumors. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 11(1). <https://doi.org/10.1136/JITC-2022-006136>
- Leong, J. W., Chase, J. M., Romee, R., Schneider, S. E., Sullivan, R. P., Cooper, M. A., & Fehniger, T. A. (2014). Pre-activation with IL-12, IL-15, and IL-18 induces CD25 and a functional high affinity IL-2 receptor on human cytokine-induced memory-like NK cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 20(4), 463. <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2014.01.006>
- Lettau, M., Schmidt, H., Kabelitz, D., & Janssen, O. (2007). Secretory lysosomes and their cargo in T and NK cells. *Immunology Letters*, 108(1), 10–19. <https://doi.org/10.1016/J.IMLET.2006.10.001>
- Li, A., Herbst, R. H., Canner, D., Schenkel, J. M., Smith, O. C., Kim, J. Y., Hillman, M., Bhutkar, A., Cuoco, M. S., Rappazzo, C. G., Rogers, P., Dang, C., Jerby-Arnon, L., Rozenblatt-Rosen, O., Cong, L., Birnbaum, M., Regev, A., & Jacks, T. (2019). IL-33 Signaling Alters Regulatory T Cell Diversity in Support of Tumor Development. *Cell Reports*, 29(10), 2998–3008.e8. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2019.10.120>
- Li, B., Lalani, A. S., Harding, T. C., Luan, B., Koprivnikar, K., Guang, H. T., Prell, R., VanRoey, M. J., Simmons, A. D., & Jooss, K. (2006). Vascular endothelial growth factor blockade reduces intratumoral regulatory T cells and enhances the efficacy of a GM-CSF-secreting cancer immunotherapy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 12(22), 6808–6816. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1558>
- Li, H., Han, Y., Guo, Q., Zhang, M., & Cao, X. (2009). Cancer-expanded myeloid-derived suppressor cells induce anergy of NK cells through membrane-bound TGF-beta 1. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 182(1), 240–249. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.182.1.240>
- Li, J., Zhou, J., Huang, H., Jiang, J., Zhang, T., & Ni, C. (2023). Mature dendritic cells enriched in immunoregulatory molecules (mregDCs): A novel population in the tumour microenvironment and immunotherapy target. *Clinical and Translational Medicine*, 13(2), e1199. <https://doi.org/10.1002/CTM2.1199>
- Li, M. O., Sanjabi, S., & Flavell, R. A. A. (2006). Transforming growth factor-beta controls development, homeostasis, and tolerance of T cells by regulatory T cell-dependent and -independent mechanisms. *Immunity*, 25(3), 455–471. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2006.07.011>

- Li, S., Mirlekar, B., Johnson, B. M., Brickey, W. J., Wrobel, J. A., Yang, N., Song, D., Entwistle, S., Tan, X., Deng, M., Cui, Y., Li, W., Vincent, B. G., Gale, M., Pylayeva-Gupta, Y., & Ting, J. P. Y. (2022). STING-induced regulatory B cells compromise NK function in cancer immunity. *Nature*, 610(7931), 373–380. <https://doi.org/10.1038/S41586-022-05254-3>
- Li, S., Neff, C. P., Barber, K., Hong, J., Luo, Y., Azam, T., Palmer, B. E., Fujita, M., Garlanda, C., Mantovani, A., Kim, S., & Dinarello, C. A. (2015). Extracellular forms of IL-37 inhibit innate inflammation in vitro and in vivo but require the IL-1 family decoy receptor IL-1R8. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(8), 2497–2502. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1424626112/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Li, Y., Shi, J., Qi, S., Zhang, J., Peng, D., Chen, Z., Wang, G., Wang, Z., & Wang, L. (2018). IL-33 facilitates proliferation of colorectal cancer dependent on COX2/PGE2. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 37(1). <https://doi.org/10.1186/S13046-018-0839-7>
- Li, Y., Wang, Q., Chen, S., Brown, P. H., & Mariuzza, R. A. (2013). Structure of Nkp65 bound to its keratinocyte ligand reveals basis for genetically linked recognition in natural killer gene complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(28), 11505–11510. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1303300110/SUPPL\\_FILE/PNAS.201303300SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1303300110/SUPPL_FILE/PNAS.201303300SI.PDF)
- Li, Y., Wang, Y., Liu, Y., Wang, Y., Zuo, X., Li, Y., & Lu, X. (2014). The Possible Role of the Novel Cytokines IL-35 and IL-37 in Inflammatory Bowel Disease. *Mediators of Inflammation*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/136329>
- Li, Y., Yu, M., Yin, J., Yan, H., & Wang, X. (2022). Enhanced Calcium Signal Induces NK Cell Degranulation but Inhibits Its Cytotoxic Activity. *The Journal of Immunology*, 208(2), 347–357. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.2001141>
- Li, Z., Simin, L., Jian, K., Xin, G., & Youlin, K. (2022). 4-1BB antibody enhances cytotoxic activity of natural killer cells against prostate cancer cells via NKG2D agonist combined with IL-27. *Immunotherapy*, 14(13), 1043–1053. <https://doi.org/10.2217/IMT-2021-0232>
- Li, Z., Zhu, L., Zheng, H., Jiang, W., Wang, Y., Jiang, Z., & Xu, J. (2022). Serum IL-35 levels is a new candidate biomarker of cancer-related cachexia in stage IV non-small cell lung cancer. *Thoracic Cancer*, 13(5), 716–723. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.14307>
- Lian, L. H., Milora, K. A., Manupipatpong, K. K., & Jensen, L. E. (2012). The double-stranded RNA analogue polyinosinic-polycytidylic acid induces keratinocyte pyroptosis and release of interleukin-36γ. *The Journal of Investigative Dermatology*, 132(5), 1346. <https://doi.org/10.1038/JID.2011.482>
- Liang, S., Wei, H., Sun, R., & Tian, Z. (2003). IFNα regulates NK cell cytotoxicity through STAT1 pathway. *Cytokine*, 23(6), 190–199. [https://doi.org/10.1016/S1043-4666\(03\)00226-6](https://doi.org/10.1016/S1043-4666(03)00226-6)
- Liao, J. K. (2013). Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(2), 540. <https://doi.org/10.1172/JCI66843>
- Liao, W., Lin, J. X., & Leonard, W. J. (2011). IL-2 Family Cytokines: New Insights into the Complex Roles of IL-2 as a Broad Regulator of T helper Cell Differentiation. *Current Opinion in Immunology*, 23(5), 598. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2011.08.003>
- Liénard, S., Merceron, R., Vanderaa, C., Lambert, F., Colau, D., Stockis, J., Van Der Woning, B., De Haard, H., Saunders, M., Coulie, P. G., Savvides, S. N., & Lucas, S. (2018). Structural basis of latent TGF-β1 presentation and activation by GARP on human regulatory T cells. *Science*, 362(6417), 952–956. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAU2909/SUPPL\\_FILE/AAU2909\\_LIENART\\_SM\\_CORRECTED.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAU2909/SUPPL_FILE/AAU2909_LIENART_SM_CORRECTED.PDF)
- Liew, F. Y., Girard, J. P., & Turnquist, H. R. (2016). Interleukin-33 in health and disease. *Nature Reviews Immunology* 2016 16:11, 16(11), 676–689. <https://doi.org/10.1038/NRI.2016.95>
- Lim, A. I., Li, Y., Lopez-Lastra, S., Stadhouders, R., Paul, F., Casrouge, A., Serafini, N., Puel, A., Bustamante, J., Surace, L., Masse-Ranson, G., David, E., Strick-Marchand, H., Le Bourhis, L., Cocchi, R., Topazio, D., Graziano, P., Muscarella, L. A., Rogge, L., ... Di Santo, J. P. (2017). Systemic Human ILC Precursors Provide a Substrate for Tissue ILC Differentiation. *Cell*, 168(6), 1086–1100.e10. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.02.021>
- Lim, A. I., Menegatti, S., Bustamante, J., Le Bourhis, L., Allez, M., Rogge, L., Casanova, J. L., Yssel, H., & Di Santo, J. P. (2016). IL-12 drives functional plasticity of human group 2 innate lymphoid cells. *Journal of Experimental Medicine*, 213(4), 569–583. <https://doi.org/10.1084/JEM.20151750>
- Lin, H.-J., Liu, Y., Caroland, K., & Lin, J. (2023). Polarization of Cancer-Associated Macrophages Maneuver Neoplastic Attributes of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancers* 2023, Vol. 15, Page 3507, 15(13), 3507. <https://doi.org/10.3390/CANCERS15133507>
- Lin, J. X., & Leonard, W. J. (2000). The role of Stat5a and Stat5b in signaling by IL-2 family cytokines. *Oncogene*, 19(21), 2566–2576. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1203523>
- Lin, J. X., Migone, T. S., Tseng, M., Friedmann, M., Weatherbee, J. A., Zhou, L., Yamauchi, A., Bloom, E. T., Mietz, J., John, S., & Leonard, W. J. (1995). The role of shared receptor motifs and common Stat proteins in the generation of cytokine pleiotropy and redundancy by IL-2, IL-4, IL-7, IL-13, and IL-15. *Immunity*, 2(4), 331–339. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90141-8](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90141-8)
- Lipsky, B. P., Toy, D. Y., Swart, D. A., Smithgall, M. D., & Smith, D. (2012). Deletion of the ST2 proximal promoter disrupts fibroblast-specific expression but does not reduce the amount of soluble ST2 in circulation. *European Journal of Immunology*, 42(7), 1863–1869. <https://doi.org/10.1002/EJI.201142274>
- Liu, C., Lou, Y., Lizée, G., Qin, H., Liu, S., Rabinovich, B., Kim, G. J., Wang, Y. H., Ye, Y., Sikora, A. G., Overwijk, W. W., Liu, Y. J., Wang, G., & Hwu, P. (2008). Plasmacytoid dendritic cells induce NK cell-dependent, tumor antigen-specific T cell cross-priming and tumor regression in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(3), 1165–1175. <https://doi.org/10.1172/JCI33583>
- Liu, E., Marin, D., Banerjee, P., Macapinlac, H. A., Thompson, P., Basar, R., Nassif Kerbauy, L., Overman, B., Thall, P., Kaplan, M., Nandivada, V., Kaur, I., Nunez Cortes, A., Cao, K., Daher, M., Hosing, C., Cohen, E. N., Kebriaei, P., Mehta, R., ... Rezvani, K. (2020). Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors. *The New England Journal of Medicine*, 382(6), 545–553. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1910607>
- Liu, E., Tong, Y., Dotti, G., Shaim, H., Savoldo, B., Mukherjee, M., Orange, J., Wan, X., Lu, X., Reynolds, A., Gagea, M., Banerjee, P., Cai, R., Bdaiwi, M. H., Basar, R., Muftuoglu, M., Li, L., Marin, D., Wierda, W., ... Rezvani, K. (2018). Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity. *Leukemia*, 32(2), 520–531. <https://doi.org/10.1038/LEU.2017.226>



- Liu, F., Tong, F., He, Y., & Liu, H. (2011). Detectable expression of IL-35 in CD4+ T cells from peripheral blood of chronic Hepatitis B patients. *Clinical Immunology*, 139(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.CLIM.2010.12.012>
- Liu, G., Zhang, Q., Yang, J., Li, X., Xian, L., Li, W., Lin, T., Cheng, J., Lin, Q., Xu, X., Li, Q., Lin, Y., Zhou, M., & Shen, E. (2022). Increased TIGIT expressing NK cells with dysfunctional phenotype in AML patients correlated with poor prognosis. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 71(2), 277–287. <https://doi.org/10.1007/S00262-021-02978-5>
- Liu, J., Chen, X., Hao, S., Zhao, H., Pang, L., Wang, L., Ren, H., Wang, C., & Mao, H. (2019). Human chorionic gonadotropin and IL-35 contribute to the maintenance of peripheral immune tolerance during pregnancy through mediating the generation of IL-10+ or IL-35+ Breg cells. *Experimental Cell Research*, 383(2). <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2019.111513>
- Liu, J., Hao, S., Chen, X., Zhao, H., Du, L., Ren, H., Wang, C., & Mao, H. (2019). Human placental trophoblast cells contribute to maternal–fetal tolerance through expressing IL-35 and mediating iTR35 conversion. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12484-z>
- Liu, J., Shen, J. X., Hu, J. L., Huang, W. H., & Zhang, G. J. (2014). Significance of interleukin-33 and its related cytokines in patients with breast cancers. *Frontiers in Immunology*, 5(APR), 83611. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2014.00141/BIBTEX>
- Liu, J.-Q., Liu, Z., Zhang, X., Shi, Y., Talebian, F., Joseph W. Carl, Jr., Yu, C., Shi, F.-D., Whitacre, C. C., Trgovcich, J., & Bai, X.-F. (2012). Enhanced Th17 and Treg responses in EBI3-deficient mice lead to marginally enhanced development of autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 188(7), 3099. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1100106>
- Liu, L. L., Landskron, J., Ask, E. H., Trowsdale, J., Malmberg, K.-J., Bé Ziat Correspondence, V., Enqvist, M., Sohlberg, E., Traherne, J. A., Hammer, Q., Goodridge, J. P., Larsson, S., Jayaraman, J., Oei, V. Y. S., Schaffer, M., Taské, K., Ljunggren, H.-G., Romagnani, C., Bé Ziat, V., & Jebsen, K. G. (2016). Critical Role of CD2 Co-stimulation in Adaptive Natural Killer Cell Responses Revealed in NKG2C-Deficient Humans Article Critical Role of CD2 Co-stimulation in Adaptive Natural Killer Cell Responses Revealed in NKG2C-Deficient Humans. *Cell Reports*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.005>
- Liu, S., Yang, L., Jia, S., Zhao, R., & Jin, Z. (2021). Interleukin-35 suppresses the activity of natural killer-like B cells in patients with hepatocellular carcinoma. *International Immunopharmacology*, 100, 108161. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2021.108161>
- Liu, S., Zhang, H., Li, M., Hu, D., Li, C., Ge, B., Jin, B., & Fan, Z. (2013). Recruitment of Grb2 and SHIP1 by the ITT-like motif of TIGIT suppresses granule polarization and cytotoxicity of NK cells. *Cell Death and Differentiation*, 20(3), 456–464. <https://doi.org/10.1038/CDD.2012.141>
- Liu, S., Zhang, Q., Shao, X., Wang, W., Zhang, C., & Jin, Z. (2017). An immunosuppressive function of interleukin-35 in chronic hepatitis C virus infection. *International Immunopharmacology*, 50, 87–94. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2017.06.015>
- Liu, X., Ren, H., Guo, H., Wang, W., & Zhao, N. (2021). Interleukin-35 has a tumor-promoting role in hepatocellular carcinoma. *Clinical and Experimental Immunology*, 203(2), 219. <https://doi.org/10.1111/CEI.13535>
- Liu, X., Song, J., Zhang, H., Liu, X., Zuo, F., Zhao, Y., Zhao, Y., Yin, X., Guo, X., Wu, X., Zhang, H., Xu, J., Hu, J., Jing, J., Ma, X., & Shi, H. (2023). Immune checkpoint HLA-E:CD94-NKG2A mediates evasion of circulating tumor cells from NK cell surveillance. *Cancer Cell*, 41(2), 272–287.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.01.001>
- Liu, X., Sun, Y., Zheng, Y., Zhang, M., Jin, X., Kang, K., Wang, Y., Li, S., Zhang, H., Zhao, Q., Zhang, S., Wu, J., & Yu, B. (2018). Administration of Interleukin-35-Conditioned Autologous Tolerogenic Dendritic Cells Prolong Allograft Survival After Heart Transplantation. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 49(3), 1221–1237. <https://doi.org/10.1159/000493298>
- Liu, X., Zhu, L., Lu, X., Bian, H., Wu, X., Yang, W., & Qin, Q. (2014). IL-33/ST2 pathway contributes to metastasis of human colorectal cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(3), 486–492. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2014.09.106>
- Liu, Y. Y., Luo, Y., Zhu, T., Jiang, M., Tian, Z. F., Tang, G. S., & Liang, X. S. (2021). Regulatory B Cells Dysregulated T Cell Function in an IL-35-Dependent Way in Patients With Chronic Hepatitis B. *Frontiers in Immunology*, 12, 1. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.653198/FULL>
- Liu, Y., Gao, S., Zhao, Y., Wang, H., Pan, Q., & Shao, Q. (2021). Decidual Natural Killer Cells: A Good Nanny at the Maternal-Fetal Interface During Early Pregnancy. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.663660>
- Liu, Y., Wu, Y., Wang, Y., Cai, Y., Hu, B., Bao, G., Fang, H., Zhao, L., Ma, S., Cheng, Q., Song, Y., Liu, Y., Zhu, Z., Chang, H., Yu, X., Sun, A., Zhang, Y., Vignali, D. A. A., Wu, D., & Liu, H. (2014). IL-35 mitigates murine acute graft-versus-host disease with retention of graft-versus-leukemia effects. *Leukemia* 2015 29:4, 29(4), 939–946. <https://doi.org/10.1038/leu.2014.310>
- Liu, Z., Yadav, P. K., Xu, X., Su, J., Chen, C., Tang, M., Lin, H., Yu, J., Qian, J., Yang, P.-C., & Wang, X. (2011). The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity. *Journal of Leukocyte Biology*, 89(4), 597–606. <https://doi.org/10.1189/JLB.0810456>
- Ljunggren, H. G., & Kärre, K. (1990). In search of the “missing self”: MHC molecules and NK cell recognition. *Immunology Today*, 11(7), 237–244. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(90\)90097-S](https://doi.org/10.1016/0167-5699(90)90097-S)
- Lo, C.-H., Lee, S.-C., Wu, P.-Y., Pan, W.-Y., Su, J., Cheng, C.-W., Roffler, S. R., Chiang, B.-L., Lee, C.-N., Wu, C.-W., & Tao, M.-H. (2003). Antitumor and Antimetastatic Activity of IL-23. *The Journal of Immunology*, 171(2), 600–607. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.171.2.600>
- Lo, H. C., Xu, Z., Kim, I. S., Pingel, B., Aguirre, S., Kodali, S., Liu, J., Zhang, W., Muscarella, A. M., Hein, S. M., Krupnick, A. S., Neilson, J. R., Paust, S., Rosen, J. M., Wang, H., & Zhang, X. H. F. (2020). Resistance to natural killer cell immunosurveillance confers a selective advantage to polyclonal metastasis. *Nature Cancer*, 1(7), 709–722. <https://doi.org/10.1038/S43018-020-0068-9>
- Lodolce, J. P., Boone, D. L., Chai, S., Swain, R. E., Dassopoulos, T., Trettin, S., & Ma, A. (1998). IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation. *Immunity*, 9(5), 669–676. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80664-0](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80664-0)
- Loetscher, P., Seitz, M., Clark-Lewis, I., Baggiolini, M., & Moser, B. (1996). Activation of NK cells by CC chemokines. Chemotaxis, Ca2+ mobilization, and enzyme release. *The Journal of Immunology*, 156(1), 322–327. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.156.1.322>

- Löhning, M., Stroehmann, A., Coyle, A. J., Grogan, J. L., Lin, S., Gutierrez-Ramos, J. C., Levinson, D., Radbruch, A., & Kamradt, T. (1998). T1/ST2 is preferentially expressed on murine Th2 cells, independent of interleukin 4, interleukin 5, and interleukin 10, and important for Th2 effector function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(12), 6930–6935. <https://doi.org/10.1073/PNAS.95.12.6930>
- Lokshin, A., Raskovalova, T., Huang, X., Zacharia, L. C., Jackson, E. K., & Gorelik, E. (2006). Adenosine-Mediated Inhibition of the Cytotoxic Activity and Cytokine Production by Activated Natural Killer Cells. *Cancer Research*, 66(15), 7758–7765. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-0478>
- Lombardelli, L., Logiodice, F., Kullolli, O., Haller, H., Agostinis, C., Bulla, R., Rukavina, D., & Piccinni, M. P. (2022). At Embryo Implantation Site IL-35 Secreted by Trophoblast, Polarizing T Cells towards IL-35+ IL-10+ IL-4+ Th2-Type Cells, Could Favour Fetal Allograft Tolerance and Pregnancy Success. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9). <https://doi.org/10.3390/IJMS23094926>
- Long, A., Dominguez, D., Qin, L., Chen, S., Fan, J., Zhang, M., Fang, D., Zhang, Y., Kuzel, T. M., & Zhang, B. (2018). Type 2 Innate Lymphoid Cells Impede IL-33–Mediated Tumor Suppression. *The Journal of Immunology*, 201(11), 3456–3464. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1800173>
- Long, E. O. (2008). Negative signalling by inhibitory receptors: the NK cell paradigm. *Immunological Reviews*, 224(1), 70. <https://doi.org/10.1111/J.1600-065X.2008.00660.X>
- Long, J., Hu, Z., Xue, H., Wang, Y., Chen, J., Tang, F., Zhou, J., Liu, L., Qiu, W., Zhang, S., Ouyang, Y., Ye, Y., Xu, G., Li, L., & Zeng, Z. (2019). Vascular endothelial growth factor (VEGF) impairs the motility and immune function of human mature dendritic cells through the VEGF receptor 2-RhoA-cofilin1 pathway. *Cancer Science*, 110(8), 2357–2367. <https://doi.org/10.1111/CAS.14091>
- Lopes, J. E., Fisher, J. L., Flick, H. L., Wang, C., Sun, L., Ernstoff, M. S., Alvarez, J. C., & Losey, H. C. (2020). ALKS 4230: a novel engineered IL-2 fusion protein with an improved cellular selectivity profile for cancer immunotherapy. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 8(1), e000673. <https://doi.org/10.1136/JITC-2020-000673>
- Lopes, N., Vivier, E., & Narni-Mancinelli, E. (2023). Natural killer cells and type 1 innate lymphoid cells in cancer. *Seminars in Immunology*, 66, 101709. <https://doi.org/10.1016/J.SMIM.2022.101709>
- López-Soto, A., Huergo-Zapico, L., Galván, J. A., Rodrigo, L., de Herreros, A. G., Astudillo, A., & Gonzalez, S. (2013). Epithelial-mesenchymal transition induces an antitumor immune response mediated by NKG2D receptor. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 190(8), 4408–4419. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202950>
- Lopez-Vergès, S., Milush, J. M., Pandey, S., York, V. A., Arakawa-Hoyt, J., Pircher, H., Norris, P. J., Nixon, D. F., & Lanier, L. L. (2010). CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56dimCD16+ NK-cell subset. *Blood*, 116(19), 3865–3874. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2010-04-282301>
- Lopez-Vergès, S., Milush, J. M., Schwartz, B. S., Pando, M. J., Jarjoura, J., York, V. A., Houchins, J. P., Miller, S., Kang, S. M., Norris, P. J., Nixon, D. F., & Lanier, L. L. (2011). Expansion of a unique CD57 +NKG2C hi natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(36), 14725–14732. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1110900108/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Louis, C., Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Yang, Y., D'Silva, D., Kratina, T., Dagley, L., Hediye-Zadeh, S., Rautela, J., Masters, S. L., Davis, M. J., Babon, J. J., Ciric, B., Vivier, E., Alexander, W. S., Huntington, N. D., & Wicks, I. P. (2020). NK cell-derived GM-CSF potentiates inflammatory arthritis and is negatively regulated by CIS. *The Journal of Experimental Medicine*, 217(5). <https://doi.org/10.1084/JEM.20191421>
- Lu, T., Ma, R., Dong, W., Teng, K. Y., Kollath, D. S., Li, Z., Yi, J., Bustillos, C., Ma, S., Tian, L., Mansour, A. G., Li, Z., Settles, E. W., Zhang, J., Keim, P. S., Barker, B. M., Caligiuri, M. A., & Yu, J. (2022). Off-the-shelf CAR natural killer cells secreting IL-15 target spike in treating COVID-19. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30216-8>
- Lu, X., Liu, M., Yang, J., Que, Y., & Zhang, X. (2022). Panobinostat enhances NK cell cytotoxicity in soft tissue sarcoma. *Clinical and Experimental Immunology*, 209(2), 127–139. <https://doi.org/10.1093/CEI/UXAC068>
- Lucarini, V., Ziccheddu, G., Macchia, I., La Sorsa, V., Peschiaroli, F., Buccione, C., Sistigu, A., Sanchez, M., Andreone, S., D'Urso, M. T., Spada, M., Macchia, D., Afferni, C., Mattei, F., & Schiavoni, G. (2017). IL-33 restricts tumor growth and inhibits pulmonary metastasis in melanoma-bearing mice through eosinophils. *Oncology*, 6(6). [https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1317420/SUPPL\\_FILE/KONI\\_A\\_1317420\\_SM8676.ZIP](https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1317420/SUPPL_FILE/KONI_A_1317420_SM8676.ZIP)
- Lucas, M., Schachterle, W., Oberle, K., Aichele, P., & Diefenbach, A. (2007). Dendritic Cells Prime Natural Killer Cells by trans-Presenting Interleukin 15. *Immunity*, 26(4), 503–517. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.03.006>
- Lucas, M., Schachterle, W., Oberle, K., Aichele, P., & Diefenbach, A. (2007). Dendritic Cells Prime Natural Killer Cells by trans-Presenting Interleukin 15. *Immunity*, 26(4), 503–517. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.03.006>
- Luci, C., Reynders, A., Ivanov, I. I., Cognet, C., Chiche, L., Chasson, L., Hardwigsen, J., Anguiano, E., Banchereau, J., Chaussabel, D., Dalod, M., Littman, D. R., Vivier, E., & Tomasello, E. (2009). Influence of the transcription factor RORγ on the development of Nkp46+ cell populations in gut and skin. *Nature Immunology*, 10(1), 75–82. <https://doi.org/10.1038/NI1681>
- Luetke-Eversloh, M., Hammer, Q., Durek, P., Nordström, K., Gasparoni, G., Pink, M., Hamann, A., Walter, J., Chang, H. D., Dong, J., & Romagnani, C. (2014). Human Cytomegalovirus Drives Epigenetic Imprinting of the IFNG Locus in NKG2Chi Natural Killer Cells. *PLOS Pathogens*, 10(10), e1004441. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1004441>
- Lugano, R., Ramachandran, M., & Dimberg, A. (2020). Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(9), 1745. <https://doi.org/10.1007/S00018-019-03351-7>
- Lund, A. W. (2023). Lymph node metastasis: An immunological burden. *Journal of Experimental Medicine*, 220(9). <https://doi.org/10.1084/JEM.20230904>
- Lund, J., Sato, A., Akira, S., Medzhitov, R., & Iwasaki, A. (2003). Toll-like Receptor 9–mediated Recognition of Herpes Simplex Virus-2 by Plasmacytoid Dendritic Cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(3), 513. <https://doi.org/10.1084/JEM.20030162>

- Lunding, L., Webering, S., Vock, C., Schröder, A., Raedler, D., Schaub, B., Fehrenbach, H., & Wegmann, M. (2015). IL-37 requires IL-18R $\alpha$  and SIGIRR/IL-1R8 to diminish allergic airway inflammation in mice. *Allergy*, 70(4), 366–373. <https://doi.org/10.1111/ALL.12566>
- Luo, Z., Solång, C., Larsson, R., & Singh, K. (2022). Interleukin-35 Prevents the Elevation of the M1/M2 Ratio of Macrophages in Experimental Type 1 Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7970. <https://doi.org/10.3390/IJMS23147970/S1>
- Luo, Z., Tian, M., Yang, G., Tan, Q., Chen, Y., Li, G., Zhang, Q., Li, Y., Wan, P., & Wu, J. (2022). Hypoxia signaling in human health and diseases: implications and prospects for therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022 7:1, 7(1), 1–30. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01080-1>
- Lupardus, P. J., & Garcia, K. C. (2008). The structure of interleukin-23 reveals the molecular basis of p40 subunit sharing with interleukin-12. *Journal of Molecular Biology*, 382(4), 931–941. <https://doi.org/10.1016/J.JMB.2008.07.051>
- Lüthi, A. U., Cullen, S. P., McNeela, E. A., Duriez, P. J., Afonina, I. S., Sheridan, C., Brumatti, G., Taylor, R. C., Kersse, K., Vandenabeele, P., Lavelle, E. C., & Martin, S. J. (2009). Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity*, 31(1), 84–98. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2009.05.007>
- Ma, C., Liu, Z., Shang, S., Jiang, L., Lv, X., Qi, Y., Cui, X., & Ge, J. (2019). Activin A regulates activities of peripheral blood natural killer cells of mouse in an autocrine and paracrine manner. *Experimental Cell Research*, 374(1), 114–121. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2018.11.013>
- Ma, Y., Chen, L., Xie, G., Zhou, Y., Yue, C., Yuan, X., Zheng, Y., Wang, W., Deng, L., & Shen, L. (2016). Elevated level of interleukin-35 in colorectal cancer induces conversion of T cells into iT<sub>H</sub>35 by activating STAT1/STAT3. *Oncotarget*, 7(45), 73003–73015. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.12193>
- MacE, E. M., Dongre, P., Hsu, H. T., Sinha, P., James, A. M., Mann, S. S., Forbes, L. R., Watkin, L. B., & Orange, J. S. (2014). Cell biological steps and checkpoints in accessing NK cell cytotoxicity. *Immunology and Cell Biology*, 92(3), 245–255. <https://doi.org/10.1038/ICB.2013.96>
- Mace, E. M., Hsu, A. P., Monaco-Shawver, L., Makedonas, G., Rosen, J. B., Dropulic, L., Cohen, J. I., Frenkel, E. P., Bagwell, J. C., Sullivan, J. L., Biron, C. A., Spalding, C., Zerbe, C. S., Uzel, G., Holland, S. M., & Orange, J. S. (2013). Mutations in GATA2 cause human NK cell deficiency with specific loss of the CD56bright subset. *Blood*, 121(14), 2669. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-09-453969>
- Maddaloni, M., Kochetkova, I., Hoffman, C., & Pascual, D. W. (2018). Delivery of IL-35 by *Lactococcus lactis* Ameliorates Collagen-Induced Arthritis in Mice. *Frontiers in Immunology*, 9(NOV), 2691. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02691>
- Madera, S., & Sun, J. C. (2015). Cutting Edge: Stage-Specific Requirement of IL-18 for Antiviral NK Cell Expansion. *The Journal of Immunology*, 194(4), 1408–1412. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1402001>
- Madera, S., Geary, C. D., Lau, C. M., Pikovskaya, O., Reiner, S. L., & Sun, J. C. (2018). Cutting Edge: Divergent Requirement of T-Box Transcription Factors in Effector and Memory NK Cells. *The Journal of Immunology*, 200(6), 1977–1981. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1700416>
- Madouri, F., Guillou, N., Fauconnier, L., Marchiol, T., Rouxel, N., Chenuet, P., Ledru, A., Apetoh, L., Ghiringhelli, F., Chamillard, M., Zheng, S. G., Trovero, F., Quesniaux, V. F. J., Ryffel, B., & Togbe, D. (2015). Caspase-1 activation by NLRP3 inflammasome dampens IL-33-dependent house dust mite-induced allergic lung inflammation. *Journal of Molecular Cell Biology*, 7(4), 351–365. <https://doi.org/10.1093/JMCM/JMV012>
- Mager, L. F., Riether, C., Schürch, C. M., Banz, Y., Wasmer, M. H., Stuber, R., Theoharides, A. P., Li, X., Xia, Y., Saito, H., Nakae, S., Baerlocher, G. M., Manz, M. G., McCoy, K. D., Macpherson, A. J., Ochsenbein, A. F., Beutler, B., & Krebs, P. (2015). IL-33 signaling contributes to the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(7), 2579–2591. <https://doi.org/10.1172/JCI77347>
- Magram, J., Connaughton, S. E., Warriar, R. R., Carvajal, D. M., Wu, C. Y., Ferrante, J., Stewart, C., Sarmiento, U., Faherty, D. A., & Gately, M. K. (1996). IL-12-Deficient Mice Are Defective in IFN $\gamma$  Production and Type 1 Cytokine Responses. *Immunity*, 4(5), 471–481. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80413-6](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80413-6)
- Mah, A. Y., Rashidi, A., Keppel, M. P., Saucier, N., Moore, E. K., Alinger, J. B., Tripathy, S. K., Agarwal, S. K., Jeng, E. K., Wong, H. C., Miller, J. S., Fehniger, T. A., Mace, E. M., French, A. R., & Cooper, M. A. (2017). Glycolytic requirement for NK cell cytotoxicity and cytomegalovirus control. *JCI Insight*, 2(23). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.95128>
- Mahapatro, M., Foersch, S., Hefele, M., He, G. W., Giner-Ventura, E., Mchedlidze, T., Kindermann, M., Vetrano, S., Danese, S., Günther, C., Neurath, M. F., Wirtz, S., & Becker, C. (2016). Programming of Intestinal Epithelial Differentiation by IL-33 Derived from Pericryptal Fibroblasts in Response to Systemic Infection. *Cell Reports*, 15(8), 1743–1756. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2016.04.049>
- Mahfooz, N. S., Merling, M. R., Claeys, T. A., Dowling, J. W., Forero, A., & Robinson, R. T. (2023). Human IL-35 Inhibits the Bioactivity of IL-12 and Its Interaction with IL-12R $\beta$ 2. *ImmunoHorizons*, 7(6), 431–441. <https://doi.org/10.4049/IMMUNOHORIZONS.2300039>
- Maier, B., Leader, A. M., Chen, S. T., Tung, N., Chang, C., LeBerichel, J., Chudnovskiy, A., Maskey, S., Walker, L., Finnigan, J. P., Kirkling, M. E., Reizis, B., Ghosh, S., D'Amore, N. R., Bhardwaj, N., Rothlin, C. V., Wolf, A., Flores, R., Marron, T., ... Merad, M. (2020). A conserved dendritic-cell regulatory program limits antitumour immunity. *Nature* 2020 580:7802, 580(7802), 257–262. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2134-Y>
- Mailliard, R. B., Alber, S. M., Shen, H., Watkins, S. C., Kirkwood, J. M., Herberman, R. B., & Kalinski, P. (2005). IL-18-induced CD83+CCR7+ NK helper cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 202(7), 941. <https://doi.org/10.1084/JEM.20050128>
- Mainiero, F., Soriani, A., Strippoli, R., Jacobelli, J., Gismondi, A., Piccoli, M., Frati, L., & Santoni, A. (2000). RAC1/P38 MAPK signaling pathway controls beta1 integrin-induced interleukin-8 production in human natural killer cells. *Immunity*, 12(1), 7–16. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80154-5](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80154-5)
- Maio, M., Altomonte, M., Tataka, R., Zeff, R. A., & Ferrone, S. (1991). Reduction in susceptibility to natural killer cell-mediated lysis of human FO-1 melanoma cells after induction of HLA class I antigen expression by transfection with B2m gene. *Journal of Clinical Investigation*, 88(1), 282. <https://doi.org/10.1172/JCI115289>
- Majewska-Szczepanik, M., Paust, S., von Andrian, U. H., Askenase, P. W., & Szczepanik, M. (2013). Natural killer cell-mediated contact sensitivity develops rapidly and depends on interferon- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  and interleukin-12. *Immunology*, 140(1), 98. <https://doi.org/10.1111/IMM.12120>

- Makkouk, A., Sundaram, V., Chester, C., Chang, S., Colevas, A. D., Sunwoo, J. B., Maecker, H., Desai, M., & Kohrt, H. E. (2017). Characterizing CD137 upregulation on NK cells in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Annals of Oncology*, 28(2), 415–420. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDW570>
- Malek, T. R., & Castro, I. (2010). Interleukin-2 Receptor Signaling: At the Interface between Tolerance and Immunity. *Immunity*, 33(2), 153. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.08.004>
- Malik, A., Sharma, D., Zhu, Q., Karki, R., Guy, C. S., Vogel, P., & Kanneganti, T. D. (2016). IL-33 regulates the IgA-microbiota axis to restrain IL-1 $\alpha$ -dependent colitis and tumorigenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(12), 4469–4481. <https://doi.org/10.1172/JCI88625>
- Mamessier, E., Sylvain, A., Bertucci, F., Castellano, R., Finetti, P., Houvenaeghel, G., Charaffe-Jaufret, E., Birnbaum, D., Moretta, A., & Olive, D. (2011). Human breast tumor cells induce self-tolerance mechanisms to avoid NKG2D-mediated and DNAM-mediated NK cell recognition. *Cancer Research*, 71(21), 6621–6632. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-0792>
- Mamessier, E., Sylvain, A., Thibault, M. L., Houvenaeghel, G., Jacquemier, J., Castellano, R., Gonçalves, A., André, P., Romagné, F., Thibault, G., Viens, P., Birnbaum, D., Bertucci, F., Moretta, A., & Olive, D. (2011). Human breast cancer cells enhance self tolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(9), 3609–3622. <https://doi.org/10.1172/JCI45816>
- Manaster, I., Mizrahi, S., Goldman-Wohl, D., Sela, H. Y., Stern-Ginossar, N., Lankry, D., Gruda, R., Hurwitz, A., Bdolah, Y., Haimov-Kochman, R., Yagel, S., & Mandelboim, O. (2008). Endometrial NK Cells Are Special Immature Cells That Await Pregnancy. *The Journal of Immunology*, 181(3), 1869–1876. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.3.1869>
- Mandelboim, O., Lieberman, N., Lev, M., Paul, L., Arnon, T. I., Bushkin, Y., Davis, D. M., Strominger, J. L., Yewdell, J. W., & Porgador, A. (2001). Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by Nkp46 activates lysis by human NK cells. *Nature*, 409(6823), 1055–1060. <https://doi.org/10.1038/35059110>
- Manetti, M., Ibba-Manneschi, L., Liakouli, V., Guiducci, S., Milia, A. F., Benelli, G., Marrelli, A., Conforti, M. L., Romano, E., Giacomelli, R., Matucci-Cerinic, M., & Cipriani, P. (2010). The IL1-like cytokine IL33 and its receptor ST2 are abnormally expressed in the affected skin and visceral organs of patients with systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(3), 598–605. <https://doi.org/10.1136/ARD.2009.119321>
- Manguso, R. T., Pope, H. W., Zimmer, M. D., Brown, F. D., Yates, K. B., Miller, B. C., Collins, N. B., Bi, K., La Fleur, M. W., Juneja, V. R., Weiss, S. A., Lo, J., Fisher, D. E., Miao, D., Van Allen, E., Root, D. E., Sharpe, A. H., Doench, J. G., & Haining, W. N. (2017). In vivo CRISPR screening identifies Ptpn2 as a cancer immunotherapy target. *Nature* 2017 547:7664, 547(7664), 413–418. <https://doi.org/10.1038/nature23270>
- Manzoor, F., Johnson, M. C., Li, C., Samulski, R. J., Wang, B., & Tisch, R. (2017).  $\beta$ -cell-specific IL-35 therapy suppresses ongoing autoimmune diabetes in NOD mice. *European Journal of Immunology*, 47(1), 144. <https://doi.org/10.1002/EJL.201646493>
- Mao, H., Gao, W., Ma, C., Sun, J., Liu, J., Shao, Q., Song, B., & Qu, X. (2013). Human placental trophoblasts express the immunosuppressive cytokine IL-35. *Human Immunology*, 74(7), 872–877. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2013.04.010>
- Mao, X., Ou, M. T., Karuppagounder, S. S., Kam, T.-I., Yin, X., Xiong, Y., Ge, P., Umanah, G. E., Brahmachari, S., Shin, J.-H., Kang, H. C., Zhang, J., Xu, J., Chen, R., Park, H., Andrabi, S. A., Kang, S. U., Gonçalves, R. A., Liang, Y., ... Dawson, T. M. (2016). Pathological  $\alpha$ -synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3. *Science (New York, N.Y.)*, 353(6307). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAH3374>
- Mao, Y., Van Hoef, V., Zhang, X., Wennerberg, E., Lorent, J., Witt, K., Masvidal, L., Liang, S., Murray, S., Larsson, O., Kiessling, R., & Lundqvist, A. (2016). IL-15 activates mTOR and primes stress-activated gene expression leading to prolonged antitumor capacity of NK cells. *Blood*, 128(11), 1475. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2016-02-698027>
- Marabelle, A., Kohrt, H., Caux, C., & Levy, R. (2014). Intratumoral Immunization: A New Paradigm for Cancer Therapy. *Clinical Cancer Research*, 20(7), 1747–1756. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-2116>
- Maraskovsky, E., Brasel, K., Teepe, M., Roux, E. R., Lyman, S. D., Shortman, K., & McKenna, H. J. (1996). Dramatic increase in the numbers of functionally mature dendritic cells in Flt3 ligand-treated mice: multiple dendritic cell subpopulations identified. *The Journal of Experimental Medicine*, 184(5), 1953. <https://doi.org/10.1084/JEM.184.5.1953>
- Marçais, A., Cherfils-Vicini, J., Viant, C., Degouve, S., Viel, S., Fenis, A., Rabilloud, J., Mayol, K., Tavares, A., Bienvenu, J., Gangloff, Y. G., Gilson, E., Vivier, E., & Walzer, T. (2014a). The metabolic checkpoint kinase mTOR is essential for IL-15 signaling during the development and activation of NK cells. *Nature Immunology*, 15(8), 749–757. <https://doi.org/10.1038/NI.2936>
- Marcenaro, E., Augugliaro, R., Falco, M., Castriconi, R., Parolini, S., Sivori, S., Romeo, E., Millo, R., Moretta, L., Bottino, C., & Moretta, A. (2003). CD59 is physically and functionally associated with natural cytotoxicity receptors and activates human NK cell-mediated cytotoxicity. *European Journal of Immunology*, 33(12), 3367–3376. <https://doi.org/10.1002/EJL.200324425>
- Marcenaro, E., Chiesa, M., Della, Bellora, F., Parolini, S., Millo, R., Moretta, L., & Moretta, A. (2005). IL-12 or IL-4 prime human NK cells to mediate functionally divergent interactions with dendritic cells or tumors. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 174(7), 3992–3998. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.174.7.3992>
- Marcenaro, E., Ferranti, B., Falco, M., Moretta, L., & Moretta, A. (2008). Human NK cells directly recognize *Mycobacterium bovis* via TLR2 and acquire the ability to kill monocyte-derived DC. *International Immunology*, 20(9), 1155–1167. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXN073>
- Marcenaro, E., Pesce, S., Sivori, S., Carlomagno, S., Moretta, L., & Moretta, A. (2013). KIR2DS1-dependent acquisition of CCR7 and migratory properties by human NK cells interacting with allogeneic HLA-C2+ DCs or T-cell blasts. *Blood*, 121(17), 3396–3401. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-09-458752>
- Marcoe, J. P., Lim, J. R., Schaubert, K. L., Fodil-Cornu, N., Matka, M., McCubbrey, A. L., Farr, A. R., Vidal, S. M., & Laouar, Y. (2012). TGF- $\beta$  is responsible for NK cell immaturity during ontogeny and increased susceptibility to infection during mouse infancy. *Nature Immunology*, 13(9), 843–850. <https://doi.org/10.1038/NI.2388>
- Marcus, A., Mao, A. J., Lensink-Vasan, M., Wang, L. A., Vance, R. E., & Raulet, D. H. (2018). Tumor-Derived cGAMP Triggers a STING-Mediated Interferon Response in Non-tumor Cells to Activate the NK Cell Response. *Immunity*, 49(4), 754–763.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.09.016>

- Mariani, S. M., Matiba, B., Bäuml, C., & Krammer, P. H. (1995). Regulation of cell surface APO-1/Fas (CD95) ligand expression by metalloproteases. *European Journal of Immunology*, 25(8), 2303–2307. <https://doi.org/10.1002/EJL1830250828>
- Martinez, J., Huang, X., & Yang, Y. (2008). Direct Action of Type I IFN on NK Cells Is Required for Their Activation in Response to Vaccinia Viral Infection In Vivo. *The Journal of Immunology*, 180(3), 1592–1597. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.180.3.1592>
- Martinez-Gonzalez, I., Mathä, L., Steer, C. A., Ghaedi, M., Poon, G. F. T., & Takei, F. (2016). Allergen-Experienced Group 2 Innate Lymphoid Cells Acquire Memory-like Properties and Enhance Allergic Lung Inflammation. *Immunity*, 45(1), 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2016.06.017>
- Martin-Fontecha, A., Thomsen, L. L., Brett, S., Gerard, C., Lipp, M., Lanzavecchia, A., & Sallusto, F. (2004). Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN- $\gamma$  for TH1 priming. *Nature Immunology* 2004 5:12, 5(12), 1260–1265. <https://doi.org/10.1038/ni1138>
- Martinvalet, D., Dykxhoorn, D. M., Ferrini, R., & Lieberman, J. (2008). Granzyme A Cleaves a Mitochondrial Complex I Protein to Initiate Caspase-Independent Cell Death. *Cell*, 133(4), 681–692. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.032>
- Marvie, P., Lisbonne, M., L'Helgoualc'h, A., Rauch, M., Turlin, B., Preisser, L., Bourd-Boittin, K., Théret, N., Gascan, H., Piquet-Pellorce, C., & Samson, M. (2010). Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(6B), 1726–1739. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00801.x>
- Marx, A. F., Kallert, S. M., Brunner, T. M., Villegas, J. A., Geier, F., Fixemer, J., Abreu-Mota, T., Reuther, P., Bonilla, W. V., Fadejeva, J., Kreutzfeldt, M., Wagner, I., Aparicio-Domingo, P., Scarpellino, L., Charmoy, M., Utzschneider, D. T., Hagedorn, C., Lu, M., Cornille, K., ... Pinschewer, D. D. (2023a). The alarmin interleukin-33 promotes the expansion and preserves the stemness of Tcf-1+ CD8+ T cells in chronic viral infection. *Immunity*, 56(4), 813–828.e10. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2023.01.029>
- Massagué, J. (2012). TGF $\beta$  signalling in context. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 13(10), 616–630. <https://doi.org/10.1038/NRM3434>
- Matalon, O., Ben-Shmuel, A., Kivelevitz, J., Sabag, B., Fried, S., Joseph, N., Noy, E., Biber, G., & Barda-Saad, M. (2018). Actin retrograde flow controls natural killer cell response by regulating the conformation state of SHP-1. *The EMBO Journal*, 37(5), e96264. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.201696264>
- Matsui, M., Kishida, T., Nakano, H., Yoshimoto, K., Shin-Ya, M., Shimada, T., Nakai, S., Imanishi, J., Yoshimoto, T., Hisa, Y., & Mazda, O. (2009). Interleukin-27 activates natural killer cells and suppresses NK-resistant head and neck squamous cell carcinoma through inducing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Cancer Research*, 69(6), 2523–2530. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2793>
- Matsumoto, M., Tatematsu, M., Nishikawa, F., Azuma, M., Ishii, N., Morii-Sakai, A., Shime, H., & Seya, T. (2015). Defined TLR3-specific adjuvant that induces NK and CTL activation without significant cytokine production in vivo. *Nature Communications* 2015 6:1, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms7280>
- Matta, B. M., Lott, J. M., Mathews, L. R., Liu, Q., Rosborough, B. R., Blazar, B. R., & Turnquist, H. R. (2014). IL-33 Is an Unconventional Alarmin That Stimulates IL-2 Secretion by Dendritic Cells To Selectively Expand IL-33R/ST2+ Regulatory T Cells. *The Journal of Immunology*, 193(8), 4010–4020. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1400481>
- Mattei, F., Schiavoni, G., Belardelli, F., & Tough, D. F. (2001). IL-15 Is Expressed by Dendritic Cells in Response to Type I IFN, Double-Stranded RNA, or Lipopolysaccharide and Promotes Dendritic Cell Activation. *The Journal of Immunology*, 167(3), 1179–1187. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.167.3.1179>
- Maurer, S., Kropp, K. N., Klein, G., Steinle, A., Haen, S. P., Walz, J. S., Hinterleitner, C., Märklin, M., Kopp, H. G., & Salih, H. R. (2018). Platelet-mediated shedding of NKG2D ligands impairs NK cell immune-surveillance of tumor cells. *Oncoimmunology*, 7(2). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1364827>
- Maywald, R. L., Doerner, S. K., Pastorelli, L., De Salvo, C., Benton, S. M., Dawson, E. P., Lanza, D. G., Berger, N. A., Markowitz, S. D., Lenz, H. J., Nadeau, J. H., Pizarro, T. T., & Heaney, J. D. (2015). IL-33 activates tumor stroma to promote intestinal polyposis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(19), E2487–E2496. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1422445112/SUPPL\\_FILE/PNAS.1422445112.SD03.XLSX](https://doi.org/10.1073/PNAS.1422445112/SUPPL_FILE/PNAS.1422445112.SD03.XLSX)
- Mazet, J. M., Mahale, J. N., Tong, O., Watson, R. A., Lechuga-Vieco, A. V., Pirgova, G., Lau, V. W. C., Attar, M., Koneva, L. A., Sansom, S. N., Fairfax, B. P., & Gérard, A. (2023). IFN $\gamma$  signaling in cytotoxic T cells restricts anti-tumor responses by inhibiting the maintenance and diversity of intra-tumoral stem-like T cells. *Nature Communications* 2023 14:1, 14(1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35948-9>
- McGranahan, N., Rosenthal, R., Hiley, C. T., Rowan, A. J., Watkins, T. B. K., Wilson, G. A., Birkbak, N. J., Veeriah, S., Van Loo, P., Herrero, J., Swanton, C., Jamal-Hanjani, M., Shafi, S., Czyzewska-Khan, J., Johnson, D., Laycock, J., Bosshard-Carter, L., Gorman, P., Hynds, R. E., ... Dessimoz, C. (2017). Allele-Specific HLA Loss and Immune Escape in Lung Cancer Evolution. *Cell*, 171(6), 1259. <https://doi.org/10.1016/j.CELL.2017.10.001>
- McGranahan, N., Rosenthal, R., Hiley, C. T., Rowan, A. J., Watkins, T. B. K., Wilson, G. A., Birkbak, N. J., Veeriah, S., Van Loo, P., Herrero, J., Swanton, C., Jamal-Hanjani, M., Shafi, S., Czyzewska-Khan, J., Johnson, D., Laycock, J., Bosshard-Carter, L., Gorman, P., Hynds, R. E., ... Dessimoz, C. (2017). Allele-Specific HLA Loss and Immune Escape in Lung Cancer Evolution. *Cell*, 171(6), 1259. <https://doi.org/10.1016/j.CELL.2017.10.001>
- Meller, S., Di Domizio, J., Voo, K. S., Friedrich, H. C., Chamilos, G., Ganguly, D., Conrad, C., Gregorio, J., Le Roy, D., Roger, T., Ladbury, J. E., Homey, B., Watowich, S., Modlin, R. L., Kontoyiannis, D. P., Liu, Y. J., Arold, S. T., & Gilliet, M. (2015). TH17 cells promote microbial killing and innate immune sensing of DNA via interleukin 26. *Nature Immunology* 2015 16:9, 16(9), 970–979. <https://doi.org/10.1038/ni.3211>
- Melsen, J. E., Lugthart, G., Vervat, C., Kielbasa, S. M., van der Zeeuw, S. A. J., Buermans, H. P. J., van Ostaijen-ten Dam, M. M., Lankester, A. C., & Schilham, M. W. (2018). Human Bone Marrow-Resident Natural Killer Cells Have a Unique Transcriptional Profile and Resemble Resident Memory CD8+ T Cells. *Frontiers in Immunology*, 9, 1829. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01829/BIBTEX>
- Meresse, B., Chen, Z., Ciszewski, C., Tretiakova, M., Bhagat, G., Krausz, T. N., Raulet, D. H., Lanier, L. L., Groh, V., Spies, T., Ebert, E. C., Green, P. H., & Jabri, B. (2004). Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity*, 21(3), 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2004.06.020>

- Merino, A., Zhang, B., Dougherty, P., Luo, X., Wang, J., Blazar, B. R., Miller, J. S., & Cichocki, F. (2019). Chronic stimulation drives human NK cell dysfunction and epigenetic reprogramming. *The Journal of Clinical Investigation*, 129(9), 3770. <https://doi.org/10.1172/JCI125916>
- Mertz, K. D., Mager, L. F., Wasmer, M. H., Thiesler, T., Koelzer, V. H., Ruzzante, G., Joller, S., Murdoch, J. R., Brümmerdorf, T., Genitsch, V., Lugli, A., Cathomas, G., Moch, H., Weber, A., Zlobec, I., Junt, T., & Krebs, P. (2015). The IL-33/ST2 pathway contributes to intestinal tumorigenesis in humans and mice. *Oncoimmunology*, 5(1). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1062966>
- Metkar, S. S., Menaa, C., Pardo, J., Wang, B., Wallich, R., Freudenberg, M., Kim, S., Raja, S. M., Shi, L., Simon, M. M., & Froelich, C. J. (2008). Human and Mouse Granzyme A Induce a Proinflammatory Cytokine Response. *Immunity*, 29(5), 720–733. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2008.08.014>
- Mian, M. F., Lauzon, N. M., Andrews, D. W., Lichty, B. D., & Ashkar, A. A. (2010). FimH Can Directly Activate Human and Murine Natural Killer Cells via TLR4. *Molecular Therapy*, 18(7), 1379. <https://doi.org/10.1038/MT.2010.75>
- Michaud, A., Dardari, R., Charrier, E., Cordeiro, P., Herblot, S., & Duval, M. (2010). IL-7 enhances survival of human CD56bright NK cells. *Journal of Immunotherapy*, 33(4), 382–390. <https://doi.org/10.1097/CJI.0B013E3181CD872D>
- Micheau, O., & Tschoop, J. (2003). Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*, 114(2), 181–190. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00521-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00521-X)
- Middleton, D., & Gonzelez, F. (2010). The extensive polymorphism of KIR genes. *Immunology*, 129(1), 8. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2567.2009.03208.X>
- Mikami, Y., Scarno, G., Zitti, B., Shih, H. Y., Kanno, Y., Santoni, A., O'Shea, J. J., & Sciumè, G. (2018). NCR+ ILC3 maintain larger STAT4 reservoir via T-BET to regulate type 1 features upon IL-23 stimulation in mice. *European Journal of Immunology*, 48(7), 1174–1180. <https://doi.org/10.1002/EJI.201847480>
- Mikkola, H. K. A., & Orkin, S. H. (2006). The journey of developing hematopoietic stem cells. *Development (Cambridge, England)*, 133(19), 3733–3744. <https://doi.org/10.1242/DEV.02568>
- Milosavljevic, M. Z., Jovanovic, I. P., Pejnovic, N. N., Mitrovic, S. L. J., Arsenijevic, N. N., Markovic, B. J. S., & Lukic, M. L. (2016). Deletion of IL-33R attenuates VEGF expression and enhances necrosis in mammary carcinoma. *Oncotarget*, 7(14), 18106. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.7635>
- Min-Oo, G., & Lanier, L. L. (2014). Cytomegalovirus generates long-lived antigen-specific NK cells with diminished bystander activation to heterologous infection. *Journal of Experimental Medicine*, 211(13), 2669–2680. <https://doi.org/10.1084/JEM.20141172>
- Miot, C., Beaumont, E., Duluc, D., Le Guillou-Guillemette, H., Preisser, L., Garo, E., Blanchard, S., Fouchard, I. H., Créminon, C., Lamourette, P., Fremaux, I., Calès, P., Lunel-Fabiani, F., Boursier, J., Braum, O., Fickenscher, H., Roingeard, P., Delneste, Y., & Jeannin, P. (2015). IL-26 is overexpressed in chronically HCV-infected patients and enhances TRAIL-mediated cytotoxicity and interferon production by human NK cells. *Gut*, 64(9), 1466–1475. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2013-306604>
- Miranda-Carús, M.-E., Balsa, A., Benito-Miguel, M., Pérez de Ayala, C., & Martín-Mola, E. (2004). IL-15 and the Initiation of Cell Contact-Dependent Synovial Fibroblast-T Lymphocyte Cross-Talk in Rheumatoid Arthritis: Effect of Methotrexate. *The Journal of Immunology*, 173(2), 1463–1476. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.173.2.1463>
- Mirlekar, B., & Pylayeva-Gupta, Y. (2021). IL-12 Family Cytokines in Cancer and Immunotherapy. *Cancers* 2021, Vol. 13, Page 167, 13(2), 167. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13020167>
- Mirlekar, B., Michaud, D., Lee, S. J., Kren, N. P., Harris, C., Greene, K., Goldman, E. C., Gupta, G. P., Fields, R. C., Hawkins, W. G., DeNardo, D. G., Rashid, N. U., Yeh, J. J., McRee, A. J., Vincent, B. G., Vignali, D. A. A., & Pylayeva-Gupta, Y. (2020). B cell-derived IL35 drives STAT3-dependent CD8+ T-cell exclusion in pancreatic cancer. *Cancer Immunology Research*, 8(3), 292. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-19-0349>
- Mirlekar, B., Michaud, D., Searcy, R., Greene, K., & Pylayeva-Gupta, Y. (2018). IL35 hinders endogenous antitumor T-cell immunity and responsiveness to immunotherapy in pancreatic cancer. *Cancer Immunology Research*, 6(9), 1014. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-17-0710>
- Mitsui, A., Tada, Y., Takahashi, T., Shibata, S., Kamata, M., Miyagaki, T., Fujita, H., Sugaya, M., Kadono, T., Sato, S., & Asano, Y. (2016). Serum IL-33 levels are increased in patients with psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 41(2), 183–189. <https://doi.org/10.1111/CED.12670>
- Miyagi, T., Gil, M. P., Wang, X., Louten, J., Chu, W. M., & Biron, C. A. (2007). High basal STAT4 balanced by STAT1 induction to control type 1 interferon effects in natural killer cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 204(10), 2383–2396. <https://doi.org/10.1084/JEM.20070401>
- Mjösberg, J. M., Trifari, S., Crellin, N. K., Peters, C. P., Van Drunen, C. M., Piet, B., Fokkens, W. J., Cupedo, T., & Spits, H. (2011). Human IL-25- and IL-33-responsive type 2 innate lymphoid cells are defined by expression of CRTH2 and CD161. *Nature Immunology*, 12(11), 1055–1062. <https://doi.org/10.1038/NI.2104>
- Mocellin, S., Panelli, M., Wang, E., Rossi, C. R., Pilati, P., Nitti, D., Lise, M., & Marincola, F. M. (2004). IL-10 stimulatory effects on human NK cells explored by gene profile analysis. *Genes & Immunity* 2004 5:8, 5(8), 621–630. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364135>
- Mocikat, R., Braumüller, H., Gumy, A., Egeter, O., Ziegler, H., Reusch, U., Bubeck, A., Louis, J., Mailhammer, R., Riethmüller, G., Koszinowski, U., & Röcken, M. (2003). Natural killer cells activated by MHC class I(low) targets prime dendritic cells to induce protective CD8 T cell responses. *Immunity*, 19(4), 561–569. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00264-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00264-4)
- Molgora, M., Bonavita, E., Ponzetta, A., Riva, F., Barbagallo, M., Jaillon, S., Popović, B., Bernardini, G., Magrini, E., Gianni, F., Zelenay, S., Jonjić, S., Santoni, A., Garlanda, C., & Mantovani, A. (2017). IL-1R8 is a checkpoint in NK cells regulating anti-tumor and anti-viral activity. *Nature*, 551(7678), 110. <https://doi.org/10.1038/NATURE24293>
- Momota, M., Nagayama, M., Okude, H., Ishii, K. J., Ori, D., Kawasaki, T., & Kawai, T. (2020). The Ca<sup>2+</sup>-dependent pathway contributes to changes in the subcellular localization and extracellular release of interleukin-33. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 530(4), 699–705. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2020.07.127>

- Montaldo, E., Vacca, P., Chiossone, L., Croxatto, D., Loiacono, F., Martini, S., Ferrero, S., Walzer, T., Moretta, L., & Mingari, M. C. (2016). Unique Eomes+ NK cell subsets are present in uterus and decidua during early pregnancy. *Frontiers in Immunology*, 6(JAN), 646. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2015.00646/BIBTEX>
- Monticelli, L. A., Osborne, L. C., Noti, M., Tran, S. V., Zaiss, D. M. W., & Artis, D. (2015). IL-33 promotes an innate immune pathway of intestinal tissue protection dependent on amphiregulin-EGFR interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(34), 10762–10767. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1509070112/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Moral, J. A., Leung, J., Rojas, L. A., Ruan, J., Zhao, J., Sethna, Z., Ramnarain, A., Gasmi, B., Gururajan, M., Redmond, D., Askan, G., Bhanot, U., Elyada, E., Park, Y., Tuveson, D. A., Gönen, M., Leach, S. D., Wolchok, J. D., DeMatteo, R. P., ... Balachandran, V. P. (2020). ILC2s amplify PD-1 blockade by activating tissue-specific cancer immunity. *Nature*, 579(7797), 130–135. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2015-4>
- Moral, J. A., Leung, J., Rojas, L. A., Ruan, J., Zhao, J., Sethna, Z., Ramnarain, A., Gasmi, B., Gururajan, M., Redmond, D., Askan, G., Bhanot, U., Elyada, E., Park, Y., Tuveson, D. A., Gönen, M., Leach, S. D., Wolchok, J. D., DeMatteo, R. P., ... Balachandran, V. P. (2020). ILC2s amplify PD-1 blockade by activating tissue-specific cancer immunity. *Nature*, 579(7797), 130–135. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2015-4>
- Morandi, B., Bougras, G., Muller, W. A., Ferlazzo, G., & Münz, C. (2006). NK cells of human secondary lymphoid tissues enhance T cell polarization via IFN-gamma secretion. *European Journal of Immunology*, 36(9), 2394–2400. <https://doi.org/10.1002/EJL.200636290>
- Morandi, B., Mortara, L., Chiossone, L., Accolla, R. S., Mingari, M. C., Moretta, L., Moretta, A., & Ferlazzo, G. (2012). Dendritic Cell Editing by Activated Natural Killer Cells Results in a More Protective Cancer-Specific Immune Response. *PLOS ONE*, 7(6), e39170. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0039170>
- Morante-Palacios, O., Fondelli, F., Ballestar, E., & Martínez-Cáceres, E. M. (2021). Tolerogenic Dendritic Cells in Autoimmunity and Inflammatory Diseases. *Trends in Immunology*, 42(1), 59–75. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2020.11.001>
- Morel, S., Lévy, F., Burllet-Schiltz, O., Brasseur, F., Probst-Kepper, M., Peitrequin, A. L., Monsarrat, B., Van Velthoven, R., Cerottini, J. C., Boon, T., Gairin, J. E., & Van den Eynde, B. J. (2000). Processing of some antigens by the standard proteasome but not by the immunoproteasome results in poor presentation by dendritic cells. *Immunity*, 12(1), 107–117. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80163-6](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80163-6)
- Moreno Ayala, M. A., Campbell, T. F., Zhang, C., Dahan, N., Bockman, A., Prakash, V., Feng, L., Sher, T., & DuPage, M. (2023). CXCR3 expression in regulatory T cells drives interactions with type I dendritic cells in tumors to restrict CD8+ T cell antitumor immunity. *Immunity*. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2023.06.003>
- Moreno-Nieves, U. Y., Tay, J. K., Saumyaa, S., Horowitz, N. B., Shin, J. H., Mohammad, I. A., Luca, B., Mundy, D. C., Gulati, G. S., Bedi, N., Chang, S., Chen, C., Kaplan, M. J., Rosenthal, E. L., Holsinger, F. C., Divi, V., Baik, F. M., Sirjani, D. B., Gentles, A. J., ... Sunwoo, J. B. (2021). Landscape of innate lymphoid cells in human head and neck cancer reveals divergent NK cell states in the tumor microenvironment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(28), e2101169118. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2101169118/SUPPL\\_FILE/PNAS.2101169118.SD01.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2101169118/SUPPL_FILE/PNAS.2101169118.SD01.PDF)
- Moretta, A. (2002). Natural killer cells and dendritic cells: rendezvous in abused tissues. *Nature Reviews Immunology* 2002 2:12, 2(12), 957–965. <https://doi.org/10.1038/nri956>
- Moretta, A., Biassoni, R., Bottino, C., Pende, D., Vitale, M., Poggi, A., Mingari, M. C., & Moretta, L. (1997). Major histocompatibility complex class I-specific receptors on human natural killer and T lymphocytes. *Immunological Reviews*, 155, 105–117. <https://doi.org/10.1111/J.1600-065X.1997.TB00943.X>
- Moretta, A., Bottino, C., Vitale, M., Pende, D., Biassoni, R., Mingari, M. C., & Moretta, L. (1996). Receptors for HLA class-I molecules in human natural killer cells. *Annual Review of Immunology*, 14, 619–648. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.14.1.619>
- Moretta, A., Bottino, C., Vitale, M., Pende, D., Cantoni, C., Cristina, M., Biassoni, R., & Moretta, L. (2001). Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annual Review of Immunology*, 19, 197–223. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.19.1.197>
- Morgan, H. J., Rees, E., Lanfredini, S., Powell, K. A., Gore, J., Gibbs, A., Lovatt, C., Davies, G. E., Olivero, C., Shorning, B. Y., Tornillo, G., Tonks, A., Darley, R., Wang, E. C. Y., & Patel, G. K. (2022). CD200 ectodomain shedding into the tumor microenvironment leads to NK cell dysfunction and apoptosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 132(21). <https://doi.org/10.1172/JCI150750>
- Morita, H., Arae, K., Unno, H., Miyauchi, K., Toyama, S., Nambu, A., Oboki, K., Ohno, T., Motomura, K., Matsuda, A., Yamaguchi, S., Narushima, S., Kajiwara, N., Iikura, M., Suto, H., McKenzie, A. N. J., Takahashi, T., Karasuyama, H., Okumura, K., ... Nakae, S. (2015). An Interleukin-33-Mast Cell-Interleukin-2 Axis Suppresses Papain-Induced Allergic Inflammation by Promoting Regulatory T Cell Numbers. *Immunity*, 43(1), 175–186. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.06.021>
- Moro, K., Kabata, H., Tanabe, M., Koga, S., Takeno, N., Mochizuki, M., Fukunaga, K., Asano, K., Betsuyaku, T., & Koyasu, S. (2016). Interferon and IL-27 antagonize the function of group 2 innate lymphoid cells and type 2 innate immune responses. *Nature Immunology*, 17(1), 76–86. <https://doi.org/10.1038/NI.3309>
- Morris, S. C., Orekhova, T., Meadows, M. J., Heidorn, S. M., Yang, J., & Finkelman, F. D. (2006). IL-4 induces in vivo production of IFN-gamma by NK and NKT cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 176(9), 5299–5305. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.176.9.5299>
- Morrison, M. H., Keane, C., Quinn, L. M., Kelly, A., O'Farrelly, C., Bergin, C., & Gardiner, C. M. (2014). IFN $\gamma$  cytokines do not modulate human or murine NK cell functions. *Human Immunology*, 75(9), 996–1000. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2014.06.016>
- Mortier, E., Woo, T., Advincula, R., Gozalo, S., & Ma, A. (2008). IL-15 $\alpha$  chaperones IL-15 to stable dendritic cell membrane complexes that activate NK cells via trans presentation. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(5), 1213–1225. <https://doi.org/10.1084/JEM.20071913>
- Motyka, B., Korbitt, G., Pinkoski, M. J., Heibin, J. A., Caputo, A., Hobman, M., Barry, M., Shostak, I., Sawchuk, T., Holmes, C. F. B., Gauldie, J., & Bleackley, R. C. (2000). Mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor is a death receptor for granzyme B during cytotoxic T cell-induced apoptosis. *Cell*, 103(3), 491–500. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00140-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00140-9)

- Moussion, C., Ortega, N., & Girard, J. P. (2008). The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel "alarmin"? *PLoS One*, 3(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0003331>
- Mu, D., Cambier, S., Fjellbirkeland, L., Baron, J. L., Munger, J. S., Kawakatsu, H., Sheppard, D., Courtney Broaddus, V., & Nishimura, S. L. (2002). The integrin  $\alpha$ (v) $\beta$ 8 mediates epithelial homeostasis through MT1-MMP-dependent activation of TGF- $\beta$ 1. *The Journal of Cell Biology*, 157(3), 493–507. <https://doi.org/10.1083/JCB.200109100>
- Muik, A., Garralda, E., Altintas, I., Gieseke, F., Geva, R., Ben-Ami, E., Maurice-Dror, C., Calvo, E., Lorusso, P. M., Alonso, G., Rodriguez-Ruiz, M. E., Schoedel, K. B., Blum, J. M., Sanger, B., Salcedo, T. W., Burm, S. M., Stanganello, E., Verzijl, D., Vascotto, F., ... Melero, I. (2022). Preclinical Characterization and Phase I Trial Results of a Bispecific Antibody Targeting PD-L1 and 4-1BB (GEN1046) in Patients with Advanced Refractory Solid Tumors. *Cancer Discovery*, 12(5), 1248–1265. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1345/681604/AM/PRECLINICAL-CHARACTERIZATION-AND-PHASE-I-TRIAL>
- Mujal, A. M., Delconte, R. B., & Sun, J. C. (2021). Natural Killer Cells: From Innate to Adaptive Features. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-101819-074948>
- Mulder, K., Patel, A. A., Kong, W. T., Piot, C., Halitzki, E., Dunsmore, G., Khalilnezhad, S., Irac, S. E., Dubuisson, A., Chevrier, M., Zhang, X. M., Tam, J. K. C., Lim, T. K. H., Wong, R. M. M., Pai, R., Khalil, A. I. S., Chow, P. K. H., Wu, S. Z., Al-Eryani, G., ... Ginhoux, F. (2021). Cross-tissue single-cell landscape of human monocytes and macrophages in health and disease. *Immunity*, 54(8), 1883–1900.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.07.007>
- Mullins, S. R., Vasilakos, J. P., Deschler, K., Grigsby, I., Gillis, P., John, J., Elder, M. J., Swales, J., Timosenko, E., Cooper, Z., Dovedi, S. J., Leishman, A. J., Luheshi, N., Elvecrog, J., Tilahun, A., Goodwin, R., Herbst, R., Tomai, M. A., & Wilkinson, R. W. (2019). Intratumoral immunotherapy with TLR7/8 agonist MEDI9197 modulates the tumor microenvironment leading to enhanced activity when combined with other immunotherapies. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/S40425-019-0724-8>
- Munn, D. H., & Mellor, A. L. (2016). IDO in the Tumor Microenvironment: Inflammation, Counter-Regulation, and Tolerance. *Trends in Immunology*, 37(3), 193–207. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.01.002>
- Munro, J. M., Pober, J. S., & Cotran, R. S. (1989). Tumor necrosis factor and interferon-gamma induce distinct patterns of endothelial activation and associated leukocyte accumulation in skin of *Papio anubis*. *The American Journal of Pathology*, 135(1), 121. [/pubmed/articles/PMC1880213/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3041133/)
- Muntasell, A., Vilches, C., Angulo, A., & Lopez-Botet, M. (2013). Adaptive reconfiguration of the human NK-cell compartment in response to cytomegalovirus: a different perspective of the host-pathogen interaction. *European Journal of Immunology*, 43(5), 1133–1141. <https://doi.org/10.1002/EJL.201243117>
- Murphy-Ullrich, J. E., & Suto, M. J. (2018). Thrombospondin-1 regulation of latent TGF- $\beta$  activation: a therapeutic target for fibrotic disease. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*, 68–69, 28. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.12.009>
- Mustjoki, S., Ekblom, M., Arstila, T. P., Dybedal, I., Epling-Burnette, P. K., Guilhot, F., Hjorth-Hansen, H., Hoglund, M., Kovanen, P., Laurinolli, T., Liesveld, J., Paquette, R., Pinilla-Ibarz, J., Rauhala, A., Shah, N., Simonsson, B., Sinisalo, M., Steegmann, J. L., Stenke, L., & Porkka, K. (2009). Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia*, 23(8), 1398–1405. <https://doi.org/10.1038/LEU.2009.46>
- Mylod, E., McKenna, E., Davern, M., Barr, M. P., Donlon, N. E., Bibby, B. A. S., Bhardwaj, A., Reynolds, J. V., Lysaght, J., Maher, S. G., & Conroy, M. J. (2023). Investigating the susceptibility of treatment-resistant oesophageal tumours to natural killer cell-mediated responses. *Clinical and Experimental Immunology*, 23(2). <https://doi.org/10.1007/S10238-022-00811-6>
- Nabekura, T., & Lanier, L. L. (2014). Antigen-specific expansion and differentiation of natural killer cells by alloantigen stimulation. *The Journal of Experimental Medicine*, 211(12), 2455. <https://doi.org/10.1084/JEM.20140798>
- Nabekura, T., & Lanier, L. L. (2016). Tracking the fate of antigen-specific versus cytokine-activated natural killer cells after cytomegalovirus infection. *Journal of Experimental Medicine*, 213(12), 2745–2758. <https://doi.org/10.1084/JEM.20160726>
- Nabekura, T., Kanaya, M., Shibuya, A., Fu, G., Gascoigne, N. R. J., & Lanier, L. L. (2014). The costimulatory molecule DNAM-1 is essential for optimal differentiation of memory natural killer cells during mouse cytomegalovirus infection. *Immunity*, 40(2), 225. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.12.011>
- Naeimi Kararoudi, M., Likhite, S., Elmas, E., Yamamoto, K., Schwartz, M., Sorathia, K., de Souza Fernandes Pereira, M., Sezgin, Y., Devine, R. D., Lyberger, J. M., Behbehani, G. K., Chakravarti, N., Moriarity, B. S., Meyer, K., & Lee, D. A. (2022). Optimization and validation of CAR transduction into human primary NK cells using CRISPR and AAV. *Cell Reports Methods*, 2(6), 100236. <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2022.100236>
- Nagler, A., Lanier, L. L., Cwirla, S., & Phillips, J. H. (1989). Comparative studies of human FcR3-positive and negative natural killer cells. *The Journal of Immunology*, 143(10), 3183–3191. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.143.10.3183>
- Nakayama, M., Akiba, H., Takeda, K., Kojima, Y., Hashiguchi, M., Azuma, M., Yagita, H., & Okumura, K. (2009). Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation. *Blood*, 113(16), 3821–3830. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-10-185884>
- Nalin, A. P., Kowalski, J. J., Sprague, A. C., Schumacher, B. K., Gerhardt, A. G., Youssef, Y., Vedantam, K. V., Zhang, X., Siebel, C. W., Mace, E. M., Caligiuri, M. A., Mundy-Bosse, B. L., & Freud, A. G. (2020). Notch Regulates Innate Lymphoid Cell Plasticity during Human NK Cell Development. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 205(10), 2679–2693. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.2000434>
- Narayanan, S., Ahl, P. J., Bijin, V. A., Kaliaperumal, N., Lim, S. G., Wang, C.-I., Fairhurst, A.-M., & Connolly, J. E. (2020). LAG3 is a Central Regulator of NK Cell Cytokine Production. *BioRxiv*, 2020.01.31.928200. <https://doi.org/10.1101/2020.01.31.928200>
- Narni-Mancinelli, E., Gauthier, L., Baratin, M., Guia, S., Fenis, A., Deghmane, A. E., Rossi, B., Fourquet, P., Escaliere, B., Kerdiles, Y. M., Ugolini, S., Taha, M. K., & Vivier, E. (2017). Complement factor P is a ligand for the natural killer cell-activating receptor NKp46. *Science Immunology*, 2(10). <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAM9628>



- Neely, G. G., Epelman, S., Ma, L. L., Colarusso, P., Howlett, C. J., Amankwah, E. K., McIntyre, A. C., Robbins, S. M., & Mody, C. H. (2004). Monocyte Surface-Bound IL-15 Can Function as an Activating Receptor and Participate in Reverse Signaling. *The Journal of Immunology*, 172(7), 4225–4234. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.172.7.4225>
- Neo, S. Y., Yang, Y., Record, J., Ma, R., Chen, X., Chen, Z., Tobin, N. P., Blake, E., Seitz, C., Thomas, R., Wagner, A. K., Andersson, J., De Boniface, J., Bergh, J., Murray, S., Alici, E., Childs, R., Johansson, M., Westerberg, L. S., ... Lundqvist, A. (2020). CD73 immune checkpoint defines regulatory NK cells within the tumor microenvironment. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(3), 1185–1198. <https://doi.org/10.1172/JCI128895>
- Ng, K. W., Boumelha, J., Enfield, K. S. S., Almagro, J., Cha, H., Pich, O., Karasaki, T., Moore, D. A., Salgado, R., Sivakumar, M., Young, G., Molina-Arcas, M., de Carné Trécesson, S., Anastasiou, P., Fendler, A., Au, L., Shepherd, S. T. C., Martínez-Ruiz, C., Puttick, C., ... Kassiotis, G. (2023). Antibodies against endogenous retroviruses promote lung cancer immunotherapy. *Nature* 2023 616:7957, 616(7957), 563–573. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05771-9>
- Nguyen, P. T., Dorman, L. C., Pan, S., Vainchtein, I. D., Han, R. T., Nakao-Inoue, H., Taloma, S. E., Barron, J. J., Molofsky, A. B., Kheirbek, M. A., & Molofsky, A. V. (2020). Microglial Remodeling of the Extracellular Matrix Promotes Synapse Plasticity. *Cell*, 182(2), 388–403.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.050>
- Ni, J., Hölsken, O., Miller, M., Hammer, Q., Luetke-Eversloh, M., Romagnani, C., & Cerwenka, A. (2016). Adoptively transferred natural killer cells maintain long-term antitumor activity by epigenetic imprinting and CD4+ T cell help. *Oncoimmunology*, 5(9). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1219009>
- Ni, J., Wang, X., Stojanovic, A., Zhang, Q., Wincher, M., Bühler, L., Arnold, A., Correia, M. P., Winkler, M., Koch, P. S., Sexl, V., Höfer, T., & Cerwenka, A. (2020). Single-Cell RNA Sequencing of Tumor-Infiltrating NK Cells Reveals that Inhibition of Transcription Factor HIF-1 $\alpha$  Unleashes NK Cell Activity. *Immunity*, 52(6), 1075–1087.e8. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.05.001>
- Ni, X., Fu, B., Zhang, J., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2018). Cytokine-Based Generation of CD49a+Eomes-/+ Natural Killer Cell Subsets. *Frontiers in Immunology*, 9(SEP), 2126. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02126>
- Ni, Y., Tao, L., Chen, C., Song, H., Li, Z., Gao, Y., Nie, J., Piccioni, M., Shi, G., & Li, B. (2015). The Deubiquitinase USP17 Regulates the Stability and Nuclear Function of IL-33. *International Journal of Molecular Sciences* 2015, Vol. 16, Pages 27956–27966, 16(11), 27956–27966. <https://doi.org/10.3390/IJMS161126063>
- Nicholl, M. B., Ledgewood, C. L., Chen, X., Bai, Q., Qin, C., Cook, K. M., Herrick, E. J., Diaz-Arias, A., Moore, B. J., & Fang, Y. (2014). IL-35 promotes pancreas cancer growth through enhancement of proliferation and inhibition of apoptosis: evidence for a role as an autocrine growth factor. *Cytokine*, 70(2), 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.cyt.2014.06.020>
- Nicolai, C. J., Wolf, N., Chang, I. C., Kirn, G., Marcus, A., Ndubaku, C. O., McWhirter, S. M., & Raulet, D. H. (2020). NK cells mediate clearance of CD8+ T cell-resistant tumors in response to STING agonists. *Science Immunology*, 5(45). <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAZ2738>
- Nie, H., Zheng, Y., Li, R., Guo, T. B., He, D., Fang, L., Liu, X., Xiao, L., Chen, X., Wan, B., Chin, Y. E., & Zhang, J. Z. (2013). Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF- $\alpha$  in rheumatoid arthritis. *Nature Medicine* 2013 19:3, 19(3), 322–328. <https://doi.org/10.1038/nm.3085>
- Niedbala, W., Wei, X. Q., Cai, B., Hueber, A. J., Leung, B. P., McInnes, I. B., & Liew, F. Y. (2007). IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells. *European Journal of Immunology*, 37(11), 3021–3029. <https://doi.org/10.1002/EJL.200737810>
- Ninomiya, I., Yamatoya, K., Mashimo, K., Matsuda, A., Usui-Ouchi, A., Araki, Y., & Ebihara, N. (2022). Role of Oncostatin M in the Pathogenesis of Vernal Keratoconjunctivitis: Focus on the Barrier Function of the Epithelium and Interleukin-33 Production by Fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 63(13). <https://doi.org/10.1167/IOVS.63.13.26>
- Nishino, R., Takano, A., Oshita, H., Ishikawa, N., Akiyama, H., Ito, H., Nakayama, H., Miyagi, Y., Tsuchiya, E., Kohno, N., Nakamura, Y., & Daigo, Y. (2011). Identification of Epstein-Barr virus-induced gene 3 as a novel serum and tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(19), 6272–6286. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0060>
- Niu, C., Jin, H., Li, M., Zhu, S., Zhou, L., Jin, F., Zhou, Y., Xu, D., Xu, J., Zhao, L., Hao, S., Li, W., & Cui, J. (2017). Low-dose bortezomib increases the expression of NKG2D and DNAM-1 ligands and enhances induced NK and  $\gamma\delta$  T cell-mediated lysis in multiple myeloma. *Oncotarget*, 8(4), 5954. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.13979>
- Nold-Petry, C. A., Lo, C. Y., Rudloff, I., Elgass, K. D., Li, S., Gantier, M. P., Lotz-Havla, A. S., Gersting, S. W., Cho, S. X., Lao, J. C., Ellisdon, A. M., Rotter, B., Azam, T., Mangan, N. E., Rossello, F. J., Whisstock, J. C., Bufler, P., Garlanda, C., Mantovani, A., ... Nold, M. F. (2015). IL-37 requires the receptors IL-18R $\alpha$  and IL-1R8 (SIGIRR) to carry out its multifaceted anti-inflammatory program upon innate signal transduction. *Nature Immunology*, 16(4), 354–365. <https://doi.org/10.1038/NI.3103>
- Norian, L. A., Rodriguez, P. C., O'Mara, L. A., Zabaleta, J., Ochoa, A. C., Cella, M., & Allen, P. M. (2009). Tumor-infiltrating regulatory dendritic cells inhibit CD8+ T cell function via L-arginine metabolism. *Cancer Research*, 69(7), 3086. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2826>
- O'Donnell, C., Mahmoud, A., Keane, J., Murphy, C., White, D., Carey, S., O'Riordain, M., Bennett, M. W., Brint, E., & Houston, A. (2015). An antitumorigenic role for the IL-33 receptor, ST2L, in colon cancer. *British Journal of Cancer* 2016 114:1, 114(1), 37–43. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.433>
- O'Leary, J. G., Goodarzi, M., Drayton, D. L., & von Andrian, U. H. (2006). T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nature Immunology*, 7(5), 507–516. <https://doi.org/10.1038/NI1332>
- O'Sullivan, T., Saddawi-Konefka, R., Koebel, W. V., Arthur, C., White, J. M., Uppaluri, R., Andrews, D. M., Ngiow, S. F., Teng, M. W. L., Smyth, M. J., Schreiber, R. D., & Bui, J. D. (2012). Cancer immunoeediting by the innate immune system in the absence of adaptive immunity. *The Journal of Experimental Medicine*, 209(10), 1869–1882. <https://doi.org/10.1084/JEM.20112738>

- Obeid, M., Tesniere, A., Ghiringhelli, F., Fimia, G. M., Apetoh, L., Perfettini, J. L., Castedo, M., Mignot, G., Panaretakis, T., Casares, N., Métivier, D., Larochette, N., Van Endert, P., Ciccocanti, F., Piacentini, M., Zitvogel, L., & Kroemer, G. (2006). Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nature Medicine* 13(1), 54–61. <https://doi.org/10.1038/nm1523>
- Oberlies, J., Watzl, C., Giese, T., Luckner, C., Kropf, P., Müller, I., Ho, A. D., & Munder, M. (2009). Regulation of NK Cell Function by Human Granulocyte Arginase. *The Journal of Immunology*, 182(9), 5259–5267. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0803523>
- Ochayon, D. E., Ali, A., Alarcon, P. C., Krishnamurthy, D., Kottyan, L. C., Borchers, M. T., & Waggoner, S. N. (2020). IL-33 promotes type 1 cytokine expression via p38 MAPK in human NK cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 107(4), 663–671. <https://doi.org/10.1002/JLB.3A0120-379RR>
- Ogasawara, K., Yoshinaga, S. K., & Lanier, L. L. (2002). Inducible costimulator costimulates cytotoxic activity and IFN-gamma production in activated murine NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 169(7), 3676–3685. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.169.7.3676>
- Ohmatsu, H., Humme, D., Gonzalez, J., Gulati, N., Möbs, M., Sterry, W., & Krueger, J. G. (2017). IL-32 induces indoleamine 2,3-dioxygenase+CD1c+ dendritic cells and indoleamine 2,3-dioxygenase+CD163+ macrophages: Relevance to mycosis fungoides progression. *OncoImmunology*, 6(2). [https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1181237/SUPPL\\_FILE/KONI\\_1181237\\_SM1031.DOCX](https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1181237/SUPPL_FILE/KONI_1181237_SM1031.DOCX)
- Ohno, T., Oboki, K., Morita, H., Kajiwara, N., Arae, K., Tanaka, S., Ikeda, M., Iikura, M., Akiyama, T., Inoue, J. ichiro, Matsumoto, K., Sudo, K., Azuma, M., Okumura, K., Kamradt, T., Saito, H., & Nakae, S. (2011). Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. *PLoS One*, 6(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0018404>
- Ohs, I., Ducimetière, L., Marinho, J., Kulig, P., Becher, B., & Tugues, S. (2017). Restoration of natural killer cell antimetastatic activity by IL12 and checkpoint blockade. *Cancer Research*, 77(24), 7059–7071. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-1032/652935/AM/RESTORATION-OF-NATURAL-KILLER-CELL-ANTI-METASTATIC>
- Ohta, A. (2016). A Metabolic Immune Checkpoint: Adenosine in Tumor Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 7(MAR). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2016.00109>
- Ohyashiki, K., Katagiri, S. I., Tauchi, T., Ohyashiki, J. H., Maeda, Y., Matsumura, I., & Kyo, T. I. (2012). Increased natural killer cells and decreased CD3(+)/CD8(+)/CD62L(+) T cells in CML patients who sustained complete molecular remission after discontinuation of imatinib. *British Journal of Haematology*, 157(2), 254–256. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2141.2011.08939.X>
- Okada, S., Li, Q., Whitin, J. C., Clayberger, C., & Krensky, A. M. (2003). Intracellular mediators of granulysin-induced cell death. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 171(5), 2556–2562. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.171.5.2556>
- Okamura, H., Kashiwamura, S. I., Tsutsui, H., Yoshimoto, T., & Nakanishi, K. (1998). Regulation of interferon-gamma production by IL-12 and IL-18. *Current Opinion in Immunology*, 10(3), 259–264. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(98\)80163-5](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(98)80163-5)
- Olivo Pimentel, V., Marcus, D., Van Der Wiel, A. M. A., Lieuwes, N. G., Biemans, R., Lieverse, R. I. Y., Neri, D., Theys, J., Yaromina, A., Dubois, L. J., & Lambin, P. (2021). Releasing the brakes of tumor immunity with anti-PD-L1 and pushing its accelerator with L19-IL2 cures poorly immunogenic tumors when combined with radiotherapy. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9(3). <https://doi.org/10.1136/JITC-2020-001764>
- Olson, B. M., Jankowska-Gan, E., Becker, J. T., Vignali, D. A. A., Burlingham, W. J., & McNeel, D. G. (2012). Human Prostate Tumor Antigen-Specific CD8+ Regulatory T Cells are Inhibited by CTLA-4 or IL-35 Blockade. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 189(12), 5590. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1201744>
- Oniki, S., Nagai, H., Horikawa, T., Furukawa, J., Belladonna, M. L., Yoshimoto, T., Hara, I., & Nishigori, C. (2006). Interleukin-23 and Interleukin-27 Exert Quite Different Antitumor and Vaccine Effects on Poorly Immunogenic Melanoma. *Cancer Research*, 66(12), 6395–6404. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4087>
- Orange, J. S. (2008). Formation and function of the lytic NK-cell immunological synapse. *Nature Reviews. Immunology*, 8(9), 713–725. <https://doi.org/10.1038/NRI2381>
- Orbelyan, G. A., Tang, F., Sally, B., Solus, J., Meresse, B., Ciszewski, C., Grenier, J.-C., Barreiro, L. B., Lanier, L. L., & Jabri, B. (2014). Human NKG2E is expressed and forms an intracytoplasmic complex with CD94 and DAP12. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 193(2), 610–616. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1400556>
- Osborn, M., Soares, D. C., Vacca, F., Cohen, E. S., Scott, I. C., Gregory, W. F., Smyth, D. J., Toivakka, M., Kemter, A. M., le Bihan, T., Wear, M., Hoving, D., Filbey, K. J., Hewitson, J. P., Henderson, H., González-Ciscar, A., Errington, C., Vermeren, S., Astier, A. L., ... McSorley, H. J. (2017). HpARI Protein Secreted by a Helminth Parasite Suppresses Interleukin-33. *Immunity*, 47(4), 739. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2017.09.015>
- Osuna-Gómez, R., Castellví, I., Mulet, M., Ortiz, M. À., Brough, D. E., Sabzevari, H., Semnani, R. T., & Vidal, S. (2023). Impaired Regulation by IL-35 in Systemic Sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10567. <https://doi.org/10.3390/IJMS241310567>
- Otegbeye, F., Ojo, E., Moreton, S., Mackowski, N., Lee, D. A., De Lima, M., & Wald, D. N. (2018). Inhibiting TGF-beta signaling preserves the function of highly activated, in vitro expanded natural killer cells in AML and colon cancer models. *PLoS One*, 13(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0191358>
- Paganin, C., Matteucci, C., Cenzuales, S., Mantovani, A., & Allavena, P. (1994). IL-4 inhibits binding and cytotoxicity of NK cells to vascular endothelium. *Cytokine*, 6(2), 135–140. [https://doi.org/10.1016/1043-4666\(94\)90034-5](https://doi.org/10.1016/1043-4666(94)90034-5)
- Pahl, J. H. W., Koch, J., Gotz, J. J., Arnold, A., Reusch, U., Gantke, T., Rajkovic, E., Treder, M., & Cerwenka, A. (2018). CD16A Activation of NK Cells Promotes NK Cell Proliferation and Memory-Like Cytotoxicity against Cancer Cells. *Cancer Immunology Research*, 6(5), 517–527. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-17-0550>
- Pal, M., Schwab, L., Yermakova, A., Mace, E. M., Claus, R., Krahl, A. C., Woiterski, J., Hartwig, U. F., Orange, J. S., Handgretinger, R., & André, M. C. (2017). Tumor-priming converts NK cells to memory-like NK cells. *Oncoimmunology*, 6(6). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1317411>

- Pallandre, J. R., Krzewski, K., Bedel, R., Ryffel, B., Caignard, A., Rohrlisch, P. S., Pivot, X., Tiberghien, P., Zitvogel, L., Strominger, J. L., & Borg, C. (2008). Dendritic cell and natural killer cell cross-talk: a pivotal role of CX3CL1 in NK cytoskeleton organization and activation. *Blood*, 112(12), 4420–4424. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2007-12-126888>
- Palm, N. W., Rosenstein, R. K., Yu, S., Schenten, D. D., Florsheim, E., & Medzhitov, R. (2013). Bee venom phospholipase A2 induces a primary type 2 response that is dependent on the receptor ST2 and confers protective immunity. *Immunity*, 39(5), 976–985. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.10.006>
- Palmieri, G., Serra, A., De Maria, R., Gismondi, A., Milella, M., Piccoli, M., Frati, L., & Santoni, A. (1995). Cross-linking of alpha 4 beta 1 and alpha 5 beta 1 fibronectin receptors enhances natural killer cell cytotoxic activity. *The Journal of Immunology*, 155(11), 5314–5322. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.155.11.5314>
- Paludan, S. R. (1998). Interleukin-4 and interferon-gamma: the quintessence of a mutual antagonistic relationship. *Scandinavian Journal of Immunology*, 48(5), 459–468. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3083.1998.00435.x>
- Pan, R., Ryan, J., Pan, D., Wucherpfennig, K. W., & Letai, A. (2022). Augmenting NK Cell-Based Immunotherapy by Targeting Mitochondrial Apoptosis. *Cell*, 185(9), 1521. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.03.030>
- Pao, L. I., Sumaria, N., Kelly, J. M., Dommelen, S. van, Cretney, E., Wallace, M. E., Anthony, D. A., Uldrich, A. P., Godfrey, D. I., Papadimitriou, J. M., Mullbacher, A., Degli-Esposti, M. A., & Smyth, M. J. (2005). Functional analysis of granzyme M and its role in immunity to infection. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 175(5), 3235–3243. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.175.5.3235>
- Paolini, R., Bernardini, G., Molfetta, R., & Santoni, A. (2015). NK cells and interferons. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 26(2), 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.11.003>
- Paris, G., Pozharskaya, T., Asempa, T., & Lane, A. P. (2014). Damage-associated molecular patterns stimulate interleukin-33 expression in nasal polyp epithelial cells. *International Forum of Allergy & Rhinology*, 4(1), 15–21. <https://doi.org/10.1002/ALR.21237>
- Park, A. C., Huang, G., Jankowska-Gan, E., Massoudi, D., Kernien, J. F., Vignali, D. A., Sullivan, J. A., Wilkes, D. S., Burlingham, W. J., & Greenspan, D. S. (2016). Mucosal Administration of Collagen V Ameliorates the Atherosclerotic Plaque Burden by Inducing Interleukin 35-dependent Tolerance. *The Journal of Biological Chemistry*, 291(7), 3359. <https://doi.org/10.1074/JBC.M115.681882>
- Park, E., Patel, S., Wang, Q., Andhey, P., Zaitsev, K., Porter, S., Hershey, M., Bern, M., Plougastel-Douglas, B., Collins, P., Colonna, M., Murphy, K. M., Oltz, E., Artyomov, M., Sibley, L. D., & Yokoyama, W. M. (2019). *Toxoplasma gondii* infection drives conversion of NK cells into ILC1-like cells. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.47605>
- Park, J. H., Mortaja, M., Azin, M., Nazarian, R. M., & Demehri, S. (2023). Nuclear IL-33 in Fibroblasts Promotes Skin Fibrosis. *The Journal of Investigative Dermatology*, 143(7), 1302–1306.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2022.12.019>
- Park, M. D., Reyes-Torres, I., LeBerichel, J., Hamon, P., LaMarche, N. M., Hegde, S., Belabed, M., Troncoso, L., Grout, J. A., Magen, A., Humblin, E., Nair, A., Molgora, M., Hou, J., Newman, J. H., Farkas, A. M., Leader, A. M., Dawson, T., D'Souza, D., ... Merad, M. (2023a). TREM2 macrophages drive NK cell paucity and dysfunction in lung cancer. *Nature Immunology*, 24(5), 792–801. <https://doi.org/10.1038/S41590-023-01475-4>
- Park, M. H., Song, M. J., Cho, M. C., Moon, D. C., Yoon, D. Y., Han, S. B., & Hong, J. T. (2012). Interleukin-32 enhances cytotoxic effect of natural killer cells to cancer cells via activation of death receptor 3. *Immunology*, 135(1), 63–72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03513.x>
- Park, S. H., Kim, M. S., Lim, H. X., Cho, D., & Kim, T. S. (2017). IL-33-matured dendritic cells promote Th17 cell responses via IL-1 $\beta$  and IL-6. *Cytokine*, 99, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.07.022>
- Parrish-Novak, J., Dillon, S. R., Nelson, A., Hammond, A., Sprecher, C., Gross, J. A., Johnston, J., Madden, K., Xu, W., West, J., Schrader, S., Burkhead, S., Heipel, M., Brandt, C., Kuijper, J. L., Kramer, J., Conklin, D., Presnell, S. R., Berry, J., ... Foster, D. (2000). Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature*, 408(6808), 57–63. <https://doi.org/10.1038/35040504>
- Pascual-Reguant, A., Bayat Sarmadi, J., Baumann, C., Noster, R., Cirera-Salinas, D., Curato, C., Pelczar, P., Huber, S., Zielinski, C. E., Löhning, M., Hauser, A. E., & Esplugues, E. (2017a). TH17 cells express ST2 and are controlled by the alarmin IL-33 in the small intestine. *Mucosal Immunology*, 10(6), 1431–1442. <https://doi.org/10.1038/MI.2017.5>
- Pastille, E., Wasmer, M. H., Adamczyk, A., Vu, V. P., Mager, L. F., Phuong, N. N. T., Palmieri, V., Simillion, C., Hansen, W., Kasper, S., Schuler, M., Muggli, B., McCoy, K. D., Buer, J., Zlobec, I., Westendorf, A. M., & Krebs, P. (2019). The IL-33/ST2 pathway shapes the regulatory T cell phenotype to promote intestinal cancer. *Mucosal Immunology*, 12(4), 990–1003. <https://doi.org/10.1038/S41385-019-0176-Y>
- Patel, R., Bélanger, S., Tai, L.-H., Troke, A. D., & Makrigiannis, A. P. (2010). Effect of Ly49 haplotype variance on NK cell function and education. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 185(8), 4783–4792. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1001287>
- Paust, S., Gill, H. S., Wang, B. Z., Flynn, M. P., Moseman, E. A., Senman, B., Szczepanik, M., Telenti, A., Askenase, P. W., Compans, R. W., & Von Andrian, U. H. (2010). Critical role for the chemokine receptor CXCR6 in NK cell-mediated antigen-specific memory of haptens and viruses. *Nature Immunology*, 11(12), 1127–1135. <https://doi.org/10.1038/NI.1953>
- Pecaric-Petkovic, T., Didichenko, S. A., Kaempfer, S., Spiegl, N., & Dahinden, C. A. (2009). Human basophils and eosinophils are the direct target leukocytes of the novel IL-1 family member IL-33. *Blood*, 113(7), 1526–1534. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-05-157818>
- Pegram, H. J., Andrews, D. M., Smyth, M. J., Darcy, P. K., & Kershaw, M. H. (2011). Activating and inhibitory receptors of natural killer cells. *Immunology and Cell Biology*, 89(2), 216–224. <https://doi.org/10.1038/ICB.2010.78>
- Pende, D., Castriconi, R., Romagnani, P., Spaggiari, G. M., Marcenaro, S., Dondero, A., Lazzeri, E., Lasagni, L., Martini, S., Rivera, P., Capobianco, A., Moretta, L., Moretta, A., & Bottino, C. (2006). Expression of the DNAM-1 ligands, Nectin-2 (CD112) and poliovirus receptor (CD155), on dendritic cells: relevance for natural killer-dendritic cell interaction. *Blood*, 107(5), 2030–2036. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-07-2696>
- Pende, D., Parolini, S., Pessino, A., Sivori, S., Augugliaro, R., Morelli, L., Marcenaro, E., Accame, L., Malaspina, A., Biassoni, R., Bottino, C., Moretta, L., & Moretta, A. (1999). Identification and molecular characterization of Nkp30, a novel triggering receptor involved in natural cytotoxicity mediated by human natural killer cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 190(10), 1505–1516. <https://doi.org/10.1084/JEM.190.10.1505>

- Peng, H., & Tian, Z. (2014). NK Cell Trafficking in Health and Autoimmunity: A Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 47(2), 119–127. <https://doi.org/10.1007/S12016-013-8400-0/FIGURES/2>
- Peng, H., Jiang, X., Chen, Y., Sojka, D. K., Wei, H., Gao, X., Sun, R., Yokoyama, W. M., & Tian, Z. (2013). Liver-resident NK cells confer adaptive immunity in skin-contact inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(4), 1444–1456. <https://doi.org/10.1172/JCI66381>
- Peng, L. S., Zhang, J. Y., Teng, Y. S., Zhao, Y. L., Wang, T. T., Mao, F. Y., Lv, Y. P., Cheng, P., Li, W. H., Chen, N., Duan, M., Chen, W., Guo, G., Zou, Q. M., & Zhuang, Y. (2017). Tumor-associated monocytes/macrophages impair NK-cell function via TGFβ1 in human gastric cancer. *Cancer Immunology Research*, 5(3), 248–256. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0152/470538/AM/TUMOR-ASSOCIATED-MONOCYTES-MACROPHAGES-IMPAIR-NK>
- Peng, Q., Qiu, X., Zhang, Z., Zhang, S., Zhang, Y., Liang, Y., Guo, J., Peng, H., Chen, M., Fu, Y. X., & Tang, H. (2020). PD-L1 on dendritic cells attenuates T cell activation and regulates response to immune checkpoint blockade. *Nature Communications* 2020 11:1, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18570-x>
- Peng, Y. P., Zhu, Y., Zhang, J. J., Xu, Z. K., Qian, Z. Y., Dai, C. C., Jiang, K. R., Wu, J. L., Gao, W. T., Li, Q., Du, Q., & Miao, Y. (2013). Comprehensive analysis of the percentage of surface receptors and cytotoxic granules positive natural killer cells in patients with pancreatic cancer, gastric cancer, and colorectal cancer. *Journal of Translational Medicine*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/1479-5876-11-262>
- Pepper, M. S. (1997). Transforming growth factor-beta: Vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 8(1), 21–43. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(96\)00048-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(96)00048-2)
- Pérez-Tomás, R., & Pérez-Guillén, I. (2020). Lactate in the Tumor Microenvironment: An Essential Molecule in Cancer Progression and Treatment. *Cancers*, 12(11), 1–29. <https://doi.org/10.3390/CANCERS12113244>
- Peritt, D., Robertson, S., Gri, G., Showe, L., Aste-Amezaga, M., & Trinchieri, G. (1998). Cutting Edge: Differentiation of Human NK Cells into NK1 and NK2 Subsets. *The Journal of Immunology*, 161(11), 5821–5824. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.161.11.5821>
- Perona-Wright, G., Mohrs, K., Szaba, F. M., Kummer, L. W., Madan, R., Karp, C. L., Johnson, L. L., Smiley, S. T., & Mohrs, M. (2009). Systemic but not local infections elicit immunosuppressive IL-10 production by natural killer cells. *Cell Host & Microbe*, 6(6), 503–512. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2009.11.003>
- Perrot, I., Deauvieu, F., Massacrier, C., Hughes, N., Garrone, P., Durand, I., Demaria, O., Viaud, N., Gauthier, L., Blery, M., Bonnefoy-Berard, N., Morel, Y., Tschopp, J., Alexopoulou, L., Trinchieri, G., Patrel, C., & Caux, C. (2010). TLR3 and Rig-Like Receptor on Myeloid Dendritic Cells and Rig-Like Receptor on Human NK Cells Are Both Mandatory for Production of IFN-γ in Response to Double-Stranded RNA. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 185(4), 2080. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1000532>
- Pesce, S., Greppi, M., Tabellini, G., Rampinelli, F., Parolini, S., Olive, D., Moretta, L., Moretta, A., & Marcenaro, E. (2017). Identification of a subset of human natural killer cells expressing high levels of programmed death 1: A phenotypic and functional characterization. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(1), 335–346.e3. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2016.04.025>
- Peterson, E. E., & Barry, K. C. (2021). The Natural Killer–Dendritic Cell Immune Axis in Anti-Cancer Immunity and Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 11, 621254. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2020.621254/BIBTEX>
- Petitdemange, C., Becquart, P., Wauquier, N., Béziat, V., Debré, P., Leroy, E. M., & Vieillard, V. (2011). Unconventional repertoire profile is imprinted during acute chikungunya infection for natural killer cells polarization toward cytotoxicity. *PLoS Pathogens*, 7(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1002268>
- Piao H-L, S-C Wang, Y Tao, Q Fu, M-R Du, & D-J Li. (2015). CXCL12/CXCR4 signal involved in the regulation of trophoblasts on peripheral NK cells leading to Th2 bias at the maternal-fetal interface. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. <https://www.europeanreview.org/article/9080>
- Piccoli, D., Sbrana, S., Melandri, E., & Valiante, N. M. (2002). Contact-dependent stimulation and inhibition of dendritic cells by natural killer cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 195(3), 335–341. <https://doi.org/10.1084/JEM.20010934>
- Pichery, M., Mirey, E., Mercier, P., Lefrançais, E., Dujardin, A., Ortega, N., & Girard, J.-P. (2012). Endogenous IL-33 Is Highly Expressed in Mouse Epithelial Barrier Tissues, Lymphoid Organs, Brain, Embryos, and Inflamed Tissues: In Situ Analysis Using a Novel Il-33–LacZ Gene Trap Reporter Strain. *The Journal of Immunology*, 188(7), 3488–3495. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1101977>
- Pierini, A., Strober, W., Moffett, C., Baker, J., Nishikii, H., Alvarez, M., Pan, Y., Schneidawind, D., Meyer, E., & Negrin, R. S. (2016). TNF-α priming enhances CD4+FoxP3+ regulatory T-cell suppressive function in murine GVHD prevention and treatment. *Blood*, 128(6), 866. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2016-04-711275>
- Pinto, S., Pahl, J., Schottelius, A., Carter, P. J., & Koch, J. (2022). Reimagining antibody-dependent cellular cytotoxicity in cancer: the potential of natural killer cell engagers. *Trends in Immunology*, 43(11), 932–946. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2022.09.007>
- Pipkin, M. E., & Lieberman, J. (2007). Delivering the kiss of death: progress on understanding how perforin works. *Current Opinion in Immunology*, 19(3), 301–308. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2007.04.011>
- Pisegna, S., Pirozzi, G., Piccoli, M., Frati, L., Santoni, A., & Palmieri, G. (2004). p38 MAPK activation controls the TLR3-mediated up-regulation of cytotoxicity and cytokine production in human NK cells. *Blood*, 104(13), 4157–4164. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2004-05-1860>
- Platonova, S., Cherfils-Vicini, J., Damotte, D., Crozet, L., Vieillard, V., Validire, P., André, P., Dieu-Nosjean, M. C., Alifano, M., Régnard, J. F., Fridman, W. H., Sautès-Fridman, C., & Cremer, I. (2011). Profound coordinated alterations of intratumoral NK cell phenotype and function in lung carcinoma. *Cancer Research*, 71(16), 5412–5422. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-4179>
- Poli, A., Michel, T., Thérésine, M., Andrès, E., Hentges, F., & Zimmer, J. (2009). CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology*, 126(4), 458. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2567.2008.03027.X>
- Poli, C., Augusto, J. F., Dauvé, J., Adam, C., Preisser, L., Larochette, V., Pignon, P., Savina, A., Blanchard, S., Subra, J. F., Chevaller, A., Procaccio, V., Croué, A., Créminon, C., Morel, A., Delneste, Y., Fickenscher, H., & Jeannin, P. (2017). IL-26 Confers Proinflammatory Properties to Extracellular DNA. *The Journal of Immunology*, 198(9), 3650–3661. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1600594>

- Poloni, C., Schonhofer, C., Ivison, S., Levings, M. K., Steiner, T. S., & Cook, L. (2023). T-cell activation-induced marker assays in health and disease. *Immunology and Cell Biology*, 1–13. <https://doi.org/10.1111/IMCB.12636>
- Portale, F., & Di Mitri, D. (2023). NK Cells in Cancer: Mechanisms of Dysfunction and Therapeutic Potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS24119521>
- Portevin, D., & Young, D. (2013). Natural Killer Cell Cytokine Response to *M. bovis* BCG Is Associated with Inhibited Proliferation, Increased Apoptosis and Ultimate Depletion of NKp44+CD56bright Cells. *PLOS ONE*, 8(7), e68864. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0068864>
- Poznanski, S. M., Lee, A. J., Nham, T., Lusty, E., Larché, M. J., Lee, D. A., & Ashkar, A. A. (2017). Combined Stimulation with Interleukin-18 and Interleukin-12 Potently Induces Interleukin-8 Production by Natural Killer Cells. *Journal of Innate Immunity*, 9(5), 511–525. <https://doi.org/10.1159/000477172>
- Prager, I., Liesche, C., Van Ooijen, H., Urlaub, D., Verron, Q., Sandström, N., Fasbender, F., Claus, M., Eils, R., Beaudouin, J., Önfelt, B., & Watzl, C. (2019). NK cells switch from granzyme B to death receptor-mediated cytotoxicity during serial killing. *The Journal of Experimental Medicine*, 216(9), 2113–2127. <https://doi.org/10.1084/JEM.20181454>
- Presky, D. H., Yang, H., Minetti, L. J., Chua, A. O., Nabavi, N., Wu, C. Y., Gately, M. K., & Gubler, U. (1996). A functional interleukin 12 receptor complex is composed of two  $\beta$ -type cytokine receptor subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(24), 14002. <https://doi.org/10.1073/PNAS.93.24.14002>
- Pridgeon, C., Lennon, G. P., Pazmany, L., Thompson, R. N., Christmas, S. E., & Moots, R. J. (2003). Natural killer cells in the synovial fluid of rheumatoid arthritis patients exhibit a CD56bright,CD94bright,CD158negative phenotype. *Rheumatology*, 42(7), 870–878. <https://doi.org/10.1093/RHEUMATOLOGY/KEG240>
- Prod'homme, V., Griffin, C., Aicheler, R. J., Wang, E. C. Y., McSharry, B. P., Rickards, C. R., Stanton, R. J., Borysiewicz, L. K., López-Botet, M., Wilkinson, G. W. G., & Tomasec, P. (2007). The human cytomegalovirus MHC class I homolog UL18 inhibits LIR-1+ but activates LIR-1- NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 178(7), 4473–4481. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.178.7.4473>
- Pylyayeva-Gupta, Y., Das, S., Handler, J. S., Hajdu, C. H., Coffre, M., Koralov, S. B., & Bar-Sagi, D. (2016). IL-35 producing B cells promote the development of pancreatic neoplasia. *Cancer Discovery*, 6(3), 247. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0843>
- Qi, L., Zhang, Q., Miao, Y., Kang, W., Tian, Z., Xu, D., Xiao, W., & Fang, F. (2020). Interleukin-33 activates and recruits natural killer cells to inhibit pulmonary metastatic cancer development. *International Journal of Cancer*, 146(5), 1421–1434. <https://doi.org/10.1002/IJC.32779>
- Qian, L., Qian, C., Chen, Y., Bai, Y., Bao, Y., Lu, L., & Cao, X. (2012). Regulatory dendritic cells program B cells to differentiate into CD19hiFcγIIbhi regulatory B cells through IFN- $\beta$  and CD40L. *Blood*, 120(3), 581–591. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-08-377242>
- Qin, L., Dominguez, D., Chen, S., Fan, J., Long, A., Zhang, M., Fang, D., Zhang, Y., Kuzel, T. M., Zhang, B., Qin, L., Dominguez, D., Chen, S., Fan, J., Long, A., Zhang, M., Fang, D., Zhang, Y., Kuzel, T. M., & Zhang, B. (2016). Exogenous IL-33 overcomes T cell tolerance in murine acute myeloid leukemia. *Oncotarget*, 7(38), 61069–61080. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.11179>
- Qin, L., Dominguez, D., Chen, S., Fan, J., Long, A., Zhang, M., Fang, D., Zhang, Y., Kuzel, T. M., & Zhang, B. (2016). Exogenous IL-33 overcomes T cell tolerance in murine acute myeloid leukemia. *Oncotarget*, 7(38), 61069. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.11179>
- Qu, Y., Franchi, L., Nunez, G., & Dubyak, G. R. (2007). Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and correlated with exosome release in murine macrophages. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 179(3), 1913–1925. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.179.3.1913>
- Qu, Y., Wang, X., Bai, S., Niu, L., Zhao, G., Yao, Y., Li, B., & Li, H. (2022). The effects of TNF- $\alpha$ /TNFR2 in regulatory T cells on the microenvironment and progression of gastric cancer. *International Journal of Cancer*, 150(8), 1373–1391. <https://doi.org/10.1002/IJC.33873>
- Queen, D., Ediriweera, C., & Liu, L. (2019). Function and Regulation of IL-36 Signaling in Inflammatory Diseases and Cancer Development. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 317. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2019.00317/BIBTEX>
- Rabinowich, H., Pricop, L., Herberman, R. B., & Whiteside, T. L. (1994). Expression and function of CD7 molecule on human natural killer cells. *The Journal of Immunology*, 152(2), 517–526. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.152.2.517>
- Rabot, M., El Costa, H., Polgar, B., Marie-Cardine, A., Aguerre-Girr, M., Barakonyi, A., Valitutti, S., Bensussan, A., & Le Bouteiller, P. (2007). CD160-activating NK cell effector functions depend on the phosphatidylinositol 3-kinase recruitment. *International Immunology*, 19(4), 401–409. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXM005>
- Ramírez-Ramírez, D., Padilla-Castañeda, S., Galán-Enríquez, C. S., Vadillo, E., Prieto-Chávez, J. L., Jiménez-Hernández, E., Vilchis-Ordóñez, A., Sandoval, A., Baladrán, J. C., Pérez-Tapia, S. M., Ortiz-Navarrete, V., & Pelayo, R. (2019). CRTAM+ NK cells endowed with suppressor properties arise in leukemic bone marrow. *Journal of Leukocyte Biology*, 105(5), 999–1013. <https://doi.org/10.1002/JLB.MA0618-231R>
- Rank, M. A., Kobayashi, T., Kozaki, H., Bartemes, K. R., Squillace, D. L., & Kita, H. (2009). IL-33-activated dendritic cells induce an atypical TH2-type response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123(5), 1047–1054. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2009.02.026>
- Rapp, M., Lau, C. M., Adams, N. M., Weizman, O. E., O'Sullivan, T. E., Geary, C. D., & Sun, J. C. (2017). Core-binding factor and runx transcription factors promote adaptive natural killer cell responses. *Science Immunology*, 2(18), 3796. [https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAN3796/SUPPL\\_FILE/AAN3796\\_TABLE\\_S1.XLSX](https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.AAN3796/SUPPL_FILE/AAN3796_TABLE_S1.XLSX)
- Rasid, O., Chevalier, C., Camarasa, T. M. N., Fitting, C., Cavaillon, J. M., & Hamon, M. A. (2019). H3K4me1 Supports Memory-like NK Cells Induced by Systemic Inflammation. *Cell Reports*, 29(12), 3933–3945.e3. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.11.043>
- Rauber, S., Luber, M., Weber, S., Maul, L., Soare, A., Wohlfahrt, T., Lin, N. Y., Dielert, K., Bozec, A., Herrmann, M., Kaplan, M. H., Weigmann, B., Zaiss, M. M., Fearon, U., Veale, D. J., Cañete, J. D., Distler, O., Rivellese, F., Pitzalis, C., ... Ramming, A. (2017). Resolution of inflammation by interleukin-9-producing type 2 innate lymphoid cells. *Nature Medicine*, 23(8), 938. <https://doi.org/10.1038/NM.4373>
- Raulet, D. H. (2003). Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands. *Nature Reviews. Immunology*, 3(10), 781–790. <https://doi.org/10.1038/NRI1199>

- Raulet, D. H., & Guerra, N. (2009). Oncogenic stress sensed by the immune system: role of natural killer cell receptors. *Nature Reviews Immunology*, 9(8), 568–580. <https://doi.org/10.1038/NRI2604>
- Rautela, J., Dagley, L. F., De Oliveira, C. C., Schuster, I. S., Hediye-Zadeh, S., Delconte, R. B., Cursons, J., Hennessy, R., Hutchinson, D. S., Harrison, C., Kita, B., Vivier, E., Webb, A. I., Degli-Esposti, M. A., Davis, M. J., Huntington, N. D., & Souza-Fonseca-Guimaraes, F. (2019). Therapeutic blockade of activin-A improves NK cell function and antitumor immunity. *Science Signaling*, 12(596), 7527. [https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAT7527/SUPPL\\_FILE/AAT7527\\_TABLE\\_S1.XLSX](https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAT7527/SUPPL_FILE/AAT7527_TABLE_S1.XLSX)
- Ravet, S., Scott-Algara, D., Bonnet, E., Hung, K. T., Tran, T., Nguyen, N., Lien, X. T., Theodorou, I., Barré-Sinoussi, F., Pancino, G., & Paul, P. (2007). Distinctive NK-cell receptor repertoires sustain high-level constitutive NK-cell activation in HIV-exposed uninfected individuals. *Blood*, 109(10), 4296–4305. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-08-040238>
- Raykova, A., Carrega, P., Lehmann, F. M., Ivanek, R., Landtwing, V., Quast, I., Lunemann, J. D., Finke, D., Ferlazzo, G., Chijioke, O., & Munz, C. (2017). Interleukins 12 and 15 induce cytotoxicity and early NK-cell differentiation in type 3 innate lymphoid cells. *Blood Advances*, 1(27), 2679–2691. <https://doi.org/10.1182/BLOODADVANCES.2017008839>
- Reeves, R. K., Li, H., Jost, S., Blass, E., Li, H., Schafer, J. L., Varner, V., Manickam, C., Eslamizar, L., Altfeld, M., Von Andrian, U. H., & Barouch, D. H. (2015). Antigen-specific NK cell memory in rhesus macaques. *Nature Immunology*, 16(9), 927–932. <https://doi.org/10.1038/NI3227>
- Reichenbach, D. K., Schwarze, V., Matta, B. M., Tkachev, V., Lieberknecht, E., Liu, Q., Koehn, B. H., Pfeifer, D., Taylor, P. A., Prinz, G., Dierbach, H., Stickele, N., Beck, Y., Warncke, M., Junt, T., Schmitt-Graeff, A., Nakae, S., Follo, M., Wertheimer, T., ... Blazar, B. R. (2015). The IL-33/ST2 axis augments effector T-cell responses during acute GVHD. *Blood*, 125(20), 3183–3192. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2014-10-606830>
- Reiners, K. S., Topolar, D., Henke, A., Simhadri, V. R., Kessler, J., Sauer, M., Bessler, M., Hansen, H. P., Tawadros, S., Herling, M., Krönke, M., Hallek, M., & Von Strandmann, E. P. (2013). Soluble ligands for NK cell receptors promote evasion of chronic lymphocytic leukemia cells from NK cell anti-tumor activity. *Blood*, 121(18), 3658. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2013-01-476606>
- Reitberger, S., Haimerl, P., Aschenbrenner, I., Esser-von Bieren, J., & Feige, M. J. (2017). Assembly-induced folding regulates interleukin 12 biogenesis and secretion. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(19), 8073. <https://doi.org/10.1074/JBC.M117.782284>
- Ren, H., Liu, X., Xu, Q., Li, W., & Zhao, N. (2023). Interleukin-35 expression promotes hepatocellular carcinogenesis by inducing  $\gamma\delta$  T-cell exhaustion. *Genomics*, 115(3). <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2023.110639>
- Ricardo-Gonzalez, R. R., Van Dyken, S. J., Schneider, C., Lee, J., Nussbaum, J. C., Liang, H. E., Vaka, D., Eckalbar, W. L., Molofsky, A. B., Erle, D. J., & Locksley, R. M. (2018). Tissue signals imprint ILC2 identity with anticipatory function. *Nature Immunology*, 19(10), 1093. <https://doi.org/10.1038/S41590-018-0201-4>
- Rickard, J. A., O'Donnell, J. A., Evans, J. M., Lalaoui, N., Poh, A. R., Rogers, T., Vince, J. E., Lawlor, K. E., Ninnis, R. L., Anderton, H., Hall, C., Spall, S. K., Pheesse, T. J., Abud, H. E., Cengia, L. H., Corbin, J., Mifsud, S., Di Rago, L., Metcalf, D., ... Silke, J. (2014). RIPK1 regulates RIPK3-MLKL-driven systemic inflammation and emergency hematopoiesis. *Cell*, 157(5), 1175–1188. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.04.019>
- Rivellese, F., Suurmond, J., de Paulis, A., Marone, G., Huizinga, T. W. J., & Toes, R. E. M. (2014). IgE and IL-33–mediated triggering of human basophils inhibits TLR4–induced monocyte activation. *European Journal of Immunology*, 44(10), 3045–3055. <https://doi.org/10.1002/EJL.201444731>
- Robert, C., Thomas, L., Bondarenko, I., O'Day, S., Weber, J., Garbe, C., Lebbe, C., Baurain, J.-F., Testori, A., Grob, J.-J., Davidson, N., Richards, J., Maio, M., Hauschild, A., Miller, W. H., Gascon, P., Lotem, M., Harmankaya, K., Ibrahim, R., ... Wolchok, J. D. (2011). Ipilimumab plus Dacarbazine for Previously Untreated Metastatic Melanoma. *New England Journal of Medicine*, 364(26), 2517–2526. [https://doi.org/10.1056/NEJM0A1104621/SUPPL\\_FILE/NEJM0A1104621\\_DISCLOSURES.PDF](https://doi.org/10.1056/NEJM0A1104621/SUPPL_FILE/NEJM0A1104621_DISCLOSURES.PDF)
- Robinette, M. L., Cella, M., Telliez, J. B., Ulland, T. K., Barrow, A. D., Capuder, K., Gilfillan, S., Lin, L. L., Notarangelo, L. D., & Colonna, M. (2018). Jak3 deficiency blocks innate lymphoid cell development. *Mucosal Immunology*, 11(1), 50. <https://doi.org/10.1038/MI.2017.38>
- Rodriguez, T. V., Moalli, F., Polentarutti, N., Paroni, M., Bonavita, E., Anselmo, A., Nebuloni, M., Mantero, S., Jaillon, S., Bragonzi, A., Mantovani, A., Riva, F., & Garlanda, C. (2012). Role of Toll Interleukin-1 Receptor (IL-1R) 8, a Negative Regulator of IL-1R/Toll-Like Receptor Signaling, in Resistance to Acute Pseudomonas aeruginosa Lung Infection. *Infection and Immunity*, 80(1), 100. <https://doi.org/10.1128/IAI.05695-11>
- Rodriguez-Rodriguez, N., Clark, P. A., Gogoi, M., Ferreira, A. C. F., Kerscher, B., Crisp, A., Jolin, H. E., Murphy, J. E., Sivasubramaniam, M., Pedro, L., Walker, J. A., Heycock, M. W. D., Shields, J. D., Barlow, J. L., & McKenzie, A. N. J. (2022). Identification of aceNKPs, a committed common progenitor population of the ILC1 and NK cell continuum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(49), e2203454119. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2203454119/SUPPL\\_FILE/PNAS.2203454119.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2203454119/SUPPL_FILE/PNAS.2203454119.SAPP.PDF)
- Rölle, A., & Brodin, P. (2016). Immune Adaptation to Environmental Influence: The Case of NK Cells and HCMV. *Trends in Immunology*, 37(3), 233–243. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2016.01.005>
- Rölle, A., Halenius, A., Ewen, E. M., Cerwenka, A., Hengel, H., & Momburg, F. (2016). CD2–CD58 interactions are pivotal for the activation and function of adaptive natural killer cells in human cytomegalovirus infection. *European Journal of Immunology*, 46(10), 2420–2425. <https://doi.org/10.1002/EJL.201646492>
- Rölle, A., Pollmann, J., Ewen, E. M., Le, V. T. K., Halenius, A., Hengel, H., & Cerwenka, A. (2014). IL-12–producing monocytes and HLA-E control HCMV-driven NKG2C+ NK cell expansion. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(12), 5305–5316. <https://doi.org/10.1172/JCI77440>
- Romagné, F., André, P., Spee, P., Zahn, S., Anfossi, N., Gauthier, L., Capanni, M., Ruggeri, L., Benson, D. M., Blaser, B. W., Della Chiesa, M., Moretta, A., Vivier, E., Caligiuri, M. A., Velardi, A., & Wagtmann, N. (2009). Preclinical characterization of 1-7F9, a novel human anti-KIR receptor therapeutic antibody that augments natural killer-mediated killing of tumor cells. *Blood*, 114(13), 2667–2677. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-02-206532>
- Romani, L., Fallarino, F., De Luca, A., Montagnoli, C., D'Angelo, C., Zelante, T., Vacca, C., Bistoni, F., Fioretti, M. C., Grohmann, U., Segal, B. H., & Puccetti, P. (2008). Defective tryptophan catabolism underlies inflammation in mouse chronic granulomatous disease. *Nature* 2008 451:7175, 451(7175), 211–215. <https://doi.org/10.1038/nature06471>

- Romee, R., Foley, B., Lenvik, T., Wang, Y., Zhang, B., Ankarlo, D., Luo, X., Cooley, S., Verneris, M., Walcheck, B., & Miller, J. (2013). NK cell CD16 surface expression and function is regulated by a disintegrin and metalloprotease-17 (ADAM17). *Blood*, 121(18), 3599–3608. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04>
- Romee, R., Rosario, M., Berrien-Elliott, M. M., Wagner, J. A., Jewell, B. A., Schappe, T., Leong, J. W., Abdel-Latif, S., Schneider, S. E., Willey, S., Neal, C. C., Yu, L., Oh, S. T., Lee, Y. S., Mulder, A., Claas, F., Cooper, M. A., & Fehniger, T. A. (2016). Cytokine-induced memory-like natural killer cells exhibit enhanced responses against myeloid leukemia. *Science Translational Medicine*, 8(357), 357ra123. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAF2341>
- Romee, R., Schneider, S. E., Leong, J. W., Chase, J. M., Keppel, C. R., Sullivan, R. P., Cooper, M. A., & Fehniger, T. A. (2012). Cytokine activation induces human memory-like NK cells. *Blood*, 120(24), 4751. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2012-04-419283>
- Romero, V., Fellows, E., Jenne, D. E., & Andrade, F. (2009). Cleavage of La protein by granzyme H induces cytoplasmic translocation and interferes with La-mediated HCV-IRES translational activity. *Cell Death and Differentiation*, 16(2), 340–348. <https://doi.org/10.1038/CDD.2008.165>
- Rose, W. A., Okragly, A. J., Patel, C. N., & Benschop, R. J. (2015). IL-33 released by alum is responsible for early cytokine production and has adjuvant properties. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/SREP13146>
- Rosenberg, S. A. (2014). IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 192(12), 5451–5458. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1490019>
- Rosental, B., Brusilovsky, M., Hadad, U., Oz, D., Appel, M. Y., Afergan, F., Yossef, R., Rosenberg, L. A., Aharoni, A., Cerwenka, A., Campbell, K. S., Braiman, A., & Porgador, A. (2011). Proliferating Cell Nuclear Antigen is a novel inhibitory ligand for the natural cytotoxicity receptor Nkp44. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 187(11), 5693. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1102267>
- Ross, M. E., & Caligiuri, M. A. (1997). Cytokine-Induced Apoptosis of Human Natural Killer Cells Identifies a Novel Mechanism to Regulate the Innate Immune Response. *Blood*, 89(3), 910–918. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V89.3.910>
- Rossari, F., Birocchi, F., Naldini, L., & Coltella, N. (2023). Gene-based delivery of immune-activating cytokines for cancer treatment. *Trends in Molecular Medicine*, 29(4), 329–342. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2023.01.006>
- Rossin, A., Miloro, G., & Hueber, A. O. (2019). TRAIL and FasL Functions in Cancer and Autoimmune Diseases: Towards an Increasing Complexity. *Cancers*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/CANCERS11050639>
- Rössle, M., Cathomas, G., Bonapace, L., Sachs, M., Dehler, S., Storz, M., Huber, G., Moch, H., Junt, T., & Mertz, K. D. (2016). Interleukin-33 Expression Indicates a Favorable Prognosis in Malignant Salivary Gland Tumors. *International Journal of Surgical Pathology*, 24(5), 394–400. <https://doi.org/10.1177/1066896916633856>
- Roth, P., Silgner, M., Goodman, S. L., Hasenbach, K., Thies, S., Maurer, G., Schraml, P., Tabatabai, G., Moch, H., Tritschler, I., & Weller, M. (2013). Integrin control of the transforming growth factor- $\beta$  pathway in glioblastoma. *Brain: A Journal of Neurology*, 136(Pt 2), 564–576. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWS351>
- Rubinstein, M. P., Kovar, M., Purton, J. F., Cho, J. H., Boyman, O., Surh, C. D., & Sprent, J. (2006). Converting IL-15 to a superagonist by binding to soluble IL-15R $\alpha$ . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(24), 9166–9171. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0600240103>
- Rückert, T., Lareau, C. A., Mashreghi, M. F., Ludwig, L. S., & Romagnani, C. (2022). Clonal expansion and epigenetic inheritance of long-lasting NK cell memory. *Nature Immunology* 2022 23:11, 23(11), 1551–1563. <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01327-7>
- Ruggeri, L., Capanni, M., Urbani, E., Perruccio, K., Shlomchik, W. D., Tosti, A., Posati, S., Rogaia, D., Frassoni, F., Aversa, F., Martelli, M. F., & Velardi, A. (2002). Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science (New York, N.Y.)*, 295(5562), 2097–2100. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1068440>
- Rusakiewicz, S., Perier, A., Semeraro, M., Pitt, J. M., von Strandmann, E. P., Reiners, K. S., Aspeslagh, S., Pipérolou, C., Vély, F., Ivagnes, A., Jegou, S., Halama, N., Chaigneau, L., Validire, P., Christidis, C., Perniceni, T., Landi, B., Berger, A., Isambert, N., ... Zitvogel, L. (2016). NKp30 isoforms and NKp30 ligands are predictive biomarkers of response to imatinib mesylate in metastatic GIST patients. *Oncoimmunology*, 6(1). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1137418>
- Saga, K., Park, J., Nimura, K., Kawamura, N., Ishibashi, A., Nonomura, N., & Kaneda, Y. (2019). NANOG helps cancer cells escape NK cell attack by downregulating ICAM1 during tumorigenesis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 38(1). <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1429-Z>
- Sague, S. L., Tato, C., Puré, E., & Hunter, C. A. (2004). The regulation and activation of CD44 by natural killer (NK) cells and its role in the production of IFN- $\gamma$ . *Journal of Interferon & Cytokine Research : The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 24(5), 301–309. <https://doi.org/10.1089/107999004323065093>
- Saied, E. M., & El-Etreby, N. M. (2017). The role and prognostic value of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and interleukin-33 (IL-33) in serous and mucinous epithelial ovarian tumours. *Annals of Diagnostic Pathology*, 27, 62–68. <https://doi.org/10.1016/J.ANNDIAGPATH.2017.01.006>
- Saito, S., Kasahara, T., Sakakura, S., Enomoto, M., Umekage, H., Harada, N., Morii, T., Nishikawa, K., Narita, N., & Ichijo, M. (1994). Interleukin-8 production by CD16-CD56bright natural killer cells in the human early pregnancy decidua. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 200(1), 378–383. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1994.1459>
- Saito, S., Shiozaki, A., Sasaki, Y., Nakashima, A., Shima, T., & Ito, M. (2007). Regulatory T cells and regulatory natural killer (NK) cells play important roles in fetomaternal tolerance. *Seminars in Immunopathology*, 29(2), 115–122. <https://doi.org/10.1007/S00281-007-0067-2/FIGURES/4>
- Salavoura, K., Kolialexi, A., Tsangaris, G., & Mavrou, A. (2008). Development of Cancer in Patients with Primary Immunodeficiencies. *Anticancer Research*, 28(2B), 1263–1269. <https://ar.iiarjournals.org/content/28/2B/1263>

- Salmond, R. J., Mirchandani, A. S., Besnard, A. G., Bain, C. C., Thomson, N. C., & Liew, F. Y. (2012). IL-33 induces innate lymphoid cell-mediated airway inflammation by activating mammalian target of rapamycin. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 130(5). <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2012.05.018>
- Salomé, B., Sfakianos, J. P., Ranti, D., Daza, J., Bieber, C., Charap, A., Hammer, C., Banchereau, R., Farkas, A. M., Ruan, D. F., Izadmehr, S., Geanon, D., Kelly, G., de Real, R. M., Lee, B., Beaumont, K. G., Shroff, S., Wang, Y. A., Wang, Y. chih, ... Horowitz, A. (2022). NKG2A and HLA-E define an alternative immune checkpoint axis in bladder cancer. *Cancer Cell*, 40(9), 1027-1043.e9. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2022.08.005>
- Sanos, S. L., Bui, V. L., Mortha, A., Oberle, K., Heners, C., Johnner, C., & Diefenbach, A. (2009). ROR $\gamma$ t and commensal microflora are required for the differentiation of mucosal interleukin 22-producing NKp46+ cells. *Nature Immunology*, 10(1), 83. <https://doi.org/10.1038/NI.1684>
- Santini, V., Valcarcel, D., Platzbecker, U., Komrokji, R. S., Cleverly, A. L., Lahn, M. M., Janssen, J., Zhao, Y., Chiang, A., Giagounidis, A., Guba, S. C., Gueorguieva, I., Girvan, A. C., Da Silva Ferreira, M., Bhagat, T. D., Pradhan, K., Steidl, U., Sridharan, A., Will, B., & Verma, A. (2019). Phase II Study of the ALK5 Inhibitor Galunisertib in Very Low-, Low-, and Intermediate-Risk Myelodysplastic Syndromes. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(23), 6976-6985. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1338>
- Santoni, G., Amantini, C., Santoni, M., Maggi, F., Morelli, M. B., & Santoni, A. (2021). Mechanosensation and Mechanotransduction in Natural Killer Cells. *Frontiers in Immunology*, 12, 2815. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.688918/BIBTEX>
- Saranchova, I., Han, J., Huang, H., Fenninger, F., Choi, K. B., Munro, L., Pfeifer, C., Welch, I., Wyatt, A. W., Fazli, L., Gleave, M. E., & Jefferies, W. A. (2016). Discovery of a Metastatic Immune Escape Mechanism Initiated by the Loss of Expression of the Tumour Biomarker Interleukin-33. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/SREP30555>
- Saraste, M., Irjala, H., & Airas, L. (2007). Expansion of CD56Bright natural killer cells in the peripheral blood of multiple sclerosis patients treated with interferon-beta. *Neurological Sciences*, 28(3), 121-126. <https://doi.org/10.1007/S10072-007-0803-3/METRICS>
- Sarhan, D., Cichocki, F., Zhang, B., Yingst, A., Spellman, S. R., Cooley, S., Verneris, M. R., Blazar, B. R., & Miller, J. S. (2016). Adaptive NK cells with low TIGIT expression are inherently resistant to myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Research*, 76(19), 5696. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0839>
- Sarhan, D., Hippen, K. L., Lemire, A., Hying, S., Luo, X., Lenvik, T., Curtsinger, J., Davis, Z., Zhang, B., Cooley, S., Cichocki, F., Blazar, B. R., & Miller, J. S. (2018). Adaptive NK Cells Resist Regulatory T-cell Suppression Driven by IL37. *Cancer Immunology Research*, 6(7), 766-775. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-17-0498>
- Sarkar, S., van Gelder, M., Noort, W., Xu, Y., Rouschop, K. M. A., Groen, R., Schouten, H. C., Tilanus, M. G. J., Germeraad, W. T. V., Martens, A. C. M., Bos, G. M. J., & Wieten, L. (2015). Optimal selection of natural killer cells to kill myeloma: the role of HLA-E and NKG2A. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 64(8), 951-963. <https://doi.org/10.1007/S00262-015-1694-4>
- Sartori, A., Ma, X., Gri, G., Showe, L., Benjamin, D., & Trinchieri, G. (1997). Interleukin-12: an immunoregulatory cytokine produced by B cells and antigen-presenting cells. *Methods (San Diego, Calif.)*, 11(1), 116-127. <https://doi.org/10.1006/METH.1996.0395>
- Sarvaria, A., Madrigal, J. A., & Saudemont, A. (2017). B cell regulation in cancer and anti-tumor immunity. *Cellular and Molecular Immunology*, 14(8), 662. <https://doi.org/10.1038/CMI.2017.35>
- Sasse, S., Bröckelmann, P. J., Momotow, J., Plütschow, A., Hüttmann, A., Basara, N., Koenecke, C., Martin, S., Bentz, M., Grosse-Thie, C., Thorspecken, S., de Wit, M., Kobe, C., Dietlein, M., Tresckow, B. von, Fuchs, M., Borchmann, P., & Engert, A. (2022). AFM13 in patients with relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma: final results of an open-label, randomized, multicenter phase II trial. <https://doi.org/10.1080/10428194.2022.2095623>, 63(8), 1871-1878. <https://doi.org/10.1080/10428194.2022.2095623>
- Sasso, M. S., Mitrousis, N., Wang, Y., Briquez, P. S., Hauert, S., Ishihara, J., Hubbell, J. A., & Swartz, M. A. (2021). Lymphangiogenesis-inducing vaccines elicit potent and long-lasting T cell immunity against melanomas. *Science Advances*, 7(13). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABE4362>
- Sathe, P., Delconte, R. B., Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Seillet, C., Chopin, M., Vandenberg, C. J., Rankin, L. C., Mielke, L. A., Vikstrom, I., Kolesnik, T. B., Nicholson, S. E., Vivier, E., Smyth, M. J., Nutt, S. L., Glaser, S. P., Strasser, A., Belz, G. T., Carotta, S., & Huntington, N. D. (2014). Innate immunodeficiency following genetic ablation of Mcl1 in natural killer cells. *Nature Communications*, 5. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS5539>
- Savinko, T., Matikainen, S., Saarialho-Kere, U., Lehto, M., Wang, G., Lehtimäki, S., Karisola, P., Reunala, T., Wolff, H., Lauerma, A., & Alenius, H. (2012). IL-33 and ST2 in atopic dermatitis: expression profiles and modulation by triggering factors. *The Journal of Investigative Dermatology*, 132(5), 1392-1400. <https://doi.org/10.1038/IJD.2011.446>
- Sawant, D. V., Yano, H., Chikina, M., Zhang, Q., Liao, M., Liu, C., Callahan, D. J., Sun, Z., Sun, T., Tabib, T., Pennathur, A., Corry, D. B., Luketich, J. D., Lafyatis, R., Chen, W., Poholek, A. C., Bruno, T. C., Workman, C. J., & Vignali, D. A. A. (2019). Adaptive plasticity of IL-10+ and IL-35+ Treg cells cooperatively promotes tumor T cell exhaustion. *Nature Immunology*, 20(6), 724-735. <https://doi.org/10.1038/S41590-019-0346-9>
- Sayers, T. J., Brooks, A. D., Ward, J. M., Hoshino, T., Bere, W. E., Wiegand, G. W., Kelley, J. M., & Smyth, M. J. (2001). The restricted expression of granzyme M in human lymphocytes. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 166(2), 765-771. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.166.2.765>
- Schiering, C., Krausgruber, T., Chomka, A., Fröhlich, A., Adelmann, K., Wohlfert, E. A., Pott, J., Griseri, T., Bollrath, J., Hegazy, A. N., Harrison, O. J., Owens, B. M. J., Löhning, M., Belkaid, Y., Fallon, P. G., & Powrie, F. (2014). The alarmin IL-33 promotes regulatory T-cell function in the intestine. *Nature*, 513(7519), 564-568. <https://doi.org/10.1038/NATURE13577>
- Schlecker, E., Fiegler, N., Arnold, A., Altevogt, P., Rose-John, S., Moldenhauer, G., Sucker, A., Paschen, A., Von Strandmann, E. P., Textor, S., & Cerwenka, A. (2014). Metalloprotease-mediated tumor cell shedding of B7-H6, the ligand of the natural killer cell-activating receptor NKp30. *Cancer Research*, 74(13), 3429-3440. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3017>
- Schlums, H., Cichocki, F., Tesi, B., Theorell, J., Beziat, V., Holmes, T. D., Han, H., Chiang, S. C. C., Foley, B., Mattsson, K., Larsson, S., Schaffer, M., Malmberg, K. J., Ljunggren, H. G., Miller, J. S., & Bryceson, Y. T. (2015). Cytomegalovirus Infection Drives Adaptive Epigenetic Diversification of NK Cells with Altered Signaling and Effector Function. *Immunity*, 42(3), 443. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2015.02.008>



- Schmidt, K. N., Leung, B., Kwong, M., Zarembek, K. A., Satyal, S., Navas, T. A., Wang, F., & Godowski, P. J. (2004). APC-Independent Activation of NK Cells by the Toll-Like Receptor 3 Agonist Double-Stranded RNA. *The Journal of Immunology*, 172(1), 138–143. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.172.1.138>
- Schmidt, R. E., Caulfield, J. P., Michon, J., Hein, A., Kamada, M. M., MacDermott, R. P., Stevens, R. L., & Ritz, J. (1988). T11/CD2 activation of cloned human natural killer cells results in increased conjugate formation and exocytosis of cytolytic granules. *The Journal of Immunology*, 140(3), 991–1002. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.140.3.991>
- Schmitt, C. A., Wang, B., & Demaria, M. (2022). Senescence and cancer — role and therapeutic opportunities. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 19(10), 619. <https://doi.org/10.1038/S41571-022-00668-4>
- Schmitz, J., Owyang, A., Oldham, E., Song, Y., Murphy, E., McClanahan, T. K., Zurawski, G., Moshrefi, M., Qin, J., Li, X., Gorman, D. M., Bazan, J. F., & Kastelein, R. A. (2005). IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*, 23(5), 479–490. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2005.09.015>
- Schneider, E., Petit-Bertron, A.-F., Bricard, R., Levasseur, M., Ramadan, A., Girard, J.-P., Herbelin, A., & Dy, M. (2009). IL-33 Activates Unprimed Murine Basophils Directly In Vitro and Induces Their In Vivo Expansion Indirectly by Promoting Hematopoietic Growth Factor Production. *The Journal of Immunology*, 183(6), 3591–3597. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0900328>
- Schuijs, M. J., Png, S., Richard, A. C., Tsyben, A., Hamm, G., Stockis, J., Garcia, C., Pinaud, S., Nicholls, A., Ros, X. R., Su, J., Eldridge, M. D., Riedel, A., Serrao, E. M., Rodewald, H. R., Mack, M., Shields, J. D., Cohen, E. S., McKenzie, A. N. J., ... Halim, T. Y. F. (2020). ILC2-driven innate immune checkpoint mechanism antagonizes NK cell antimetastatic function in the lung. *Nature Immunology* 2020 21:9, 21(9), 998–1009. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0745-y>
- Schulze, J., Bickert, T., Beil, F. T., Zaiss, M. M., Albers, J., Wintges, K., Streichert, T., Klaetschke, K., Keller, J., Hissnauer, T. N., Spiro, A. S., Gessner, A., Schett, G., Amling, M., McKenzie, A. N. J., Horst, A. K., & Schinke, T. (2011). Interleukin-33 is expressed in differentiated osteoblasts and blocks osteoclast formation from bone marrow precursor cells. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 26(4), 704–717. <https://doi.org/10.1002/JBMR.269>
- Schwartz, C., Khan, A. R., Floudas, A., Saunders, S. P., Hams, E., Rodewald, H. R., McKenzie, A. N. J., & Fallon, P. G. (2017). ILC2s regulate adaptive Th2 cell functions via PD-L1 checkpoint control. *The Journal of Experimental Medicine*, 214(9), 2507–2521. <https://doi.org/10.1084/JEM.20170051>
- Sconocchia, G., Titus, J. A., & Segal, D. M. (1997). Signaling Pathways Regulating CD44-Dependent Cytolysis in Natural Killer Cells. *Blood*, 90(2), 716–725. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V90.2.716>
- Scott, E. C., Baines, A. C., Gong, Y., Moore, R., Pamuk, G. E., Saber, H., Subedee, A., Thompson, M. D., Xiao, W., Pazdur, R., Rao, V. A., Schneider, J., & Beaver, J. A. (2023). Trends in the approval of cancer therapies by the FDA in the twenty-first century. *Nature Reviews Drug Discovery* 2023, 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41573-023-00723-4>
- Scott, I. C., Majithiya, J. B., Sanden, C., Thornton, P., Sanders, P. N., Moore, T., Guscott, M., Corkill, D. J., Erjefält, J. S., & Cohen, E. S. (2018). Interleukin-33 is activated by allergen- and necrosis-associated proteolytic activities to regulate its alarmin activity during epithelial damage. *Scientific Reports*, 8(1), 3363. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-21589-2>
- Scoville, S. D., Freud, A. G., & Caligiuri, M. A. (2017). Modeling human natural killer cell development in the era of innate lymphoid cells. *Frontiers in Immunology*, 8(MAR), 360. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.00360/BIBTEX>
- Scoville, S. D., Freud, A. G., & Caligiuri, M. A. (2019). Cellular pathways in the development of human and murine innate lymphoid cells. *Current Opinion in Immunology*, 56, 100–106. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2018.11.003>
- Scoville, S. D., Mundy-Bosse, B. L., Zhang, M. H., Chen, L., Zhang, X., Keller, K. A., Hughes, T., Chen, L., Cheng, S., Bergin, S. M., Mao, H. C., McClory, S., Yu, J., Carson, W. E., Caligiuri, M. A., & Freud, A. G. (2016). A progenitor cell expressing transcription factor RORγt generates all human innate lymphoid cell subsets. *Immunity*, 44(5), 1140. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.04.007>
- Screpanti, V., Wallin, R. P. A., Ljunggren, H.-G., & Grandien, A. (2001). A central role for death receptor-mediated apoptosis in the rejection of tumors by NK cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 167(4), 2068–2073. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.167.4.2068>
- Seeger, P., Bosisio, D., Parolini, S., Badolato, R., Gismondi, A., Santoni, A., & Sozzani, S. (2014). Activin A as a mediator of NK-dendritic cell functional interactions. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 192(3), 1241–1248. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1301487>
- Segura, E., & Segura, E. (2022). Human dendritic cell subsets: An updated view of their ontogeny and functional specialization. *European Journal of Immunology*, 52(11), 1759–1767. <https://doi.org/10.1002/EJL.202149632>
- Seita, J., & Weissman, I. L. (2010). Hematopoietic stem cell: self-renewal versus differentiation. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 2(6), 640–653. <https://doi.org/10.1002/WSBM.86>
- Seltmann, J., Werfel, T., & Wittmann, M. (2013). Evidence for a regulatory loop between IFN-γ and IL-33 in skin inflammation. *Experimental Dermatology*, 22(2), 102–107. <https://doi.org/10.1111/EXD.12076>
- Semeraro, M., Rusakiewicz, S., Minard-Colin, V., Delahaye, N. F., Enot, D., Vély, F., Marabelle, A., Papoular, B., Piperoglou, C., Ponzoni, M., Perri, P., Tchirkov, A., Matta, J., Lapiere, V., Shekarian, T., Valsesia-Wittmann, S., Commo, F., Prada, N., Poirier-Colame, V., ... Zitvogel, L. (2015). Clinical impact of the NKp30/B7-H6 axis in high-risk neuroblastoma patients. *Science Translational Medicine*, 7(283). <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.AAA2327>
- Sen Santara, S., Lee, D.-J., Crespo, Á., Hu, J. J., Walker, C., Ma, X., Zhang, Y., Chowdhury, S., Meza-Sosa, K. F., Lewandrowski, M., Zhang, H., Rowe, M., McClelland, A., Wu, H., Junqueira, C., & Lieberman, J. (2023). The NK cell receptor NKp46 recognizes ecto-calreticulin on ER-stressed cells. *Nature* 2023 616:7956, 616(7956), 348–356. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05912-0>
- Seo, H., Jeon, I., Kim, B. S., Park, M., Bae, E. A., Song, B., Koh, C. H., Shin, K. S., Kim, I. K., Choi, K., Oh, T., Min, J., Min, B. S., Han, Y. D., Kang, S. J., Shin, S. J., Chung, Y., & Kang, C. Y. (2017). IL-21-mediated reversal of NK cell exhaustion facilitates anti-tumour immunity in MHC class I-deficient tumours. *Nature Communications*, 8. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS15776>

- Serafini, N., Jarade, A., Surace, L., Goncalves, P., Sismeiro, O., Varet, H., Legendre, R., Coppee, J. Y., Disson, O., Durum, S. K., Frankel, G., & Di Santo, J. P. (2022). Trained ILC3 responses promote intestinal defense. *Science (New York, N.Y.)*, 375(6583), 859–863. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAZ8777>
- Serrels, B., McGivern, N., Canel, M., Byron, A., Johnson, S. C., McSorley, H. J., Quinn, N., Taggart, D., Von Kreigsheim, A., Anderton, S. M., Serrels, A., & Frame, M. C. (2017). IL-33 and ST2 mediate FAK-dependent antitumor immune evasion through transcriptional networks. *Science Signaling*, 10(508). [https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAN8355/SUPPL\\_FILE/AAN8355\\_SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAN8355/SUPPL_FILE/AAN8355_SM.PDF)
- Shah, U. A., & Mailankody, S. (2020). CAR T and CAR NK cells in multiple myeloma: Expanding the targets. *Best Practice & Research. Clinical Haematology*, 33(1). <https://doi.org/10.1016/J.BEHA.2020.101141>
- Shaim, H., Shanley, M., Basar, R., Daher, M., Gumin, J., Zamler, D. B., Uprety, N., Wang, F., Huang, Y., Gabrusiewicz, K., Miao, Q., Dou, J., Alsuliman, A., Kerbauy, L. N., Acharya, S., Mohanty, V., Mendt, M., Li, S., Lu, J. J., ... Rezvani, K. (2021). Targeting the  $\alpha$  integrin/TGF- $\beta$  axis improves natural killer cell function against glioblastoma stem cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(14). <https://doi.org/10.1172/JCI142116>
- Shankaran, V., Ikeda, H., Bruce, A. T., White, J. M., Swanson, P. E., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2001). IFN $\gamma$  and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature*, 410(6832), 1107–1111. <https://doi.org/10.1038/35074122>
- Shao, D., Perros, F., Caramori, G., Meng, C., Dormuller, P., Chou, P. C., Church, C., Papi, A., Casolari, P., Welsh, D., Peacock, A., Humbert, M., Adcock, I. M., & Wort, S. J. (2014). Nuclear IL-33 regulates soluble ST2 receptor and IL-6 expression in primary human arterial endothelial cells and is decreased in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 451(1), 8–14. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2014.06.111>
- Shao, X., Ma, J., Jia, S., Yang, L., Wang, W., & Jin, Z. (2017). Interleukin-35 Suppresses Antiviral Immune Response in Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(NOV), 472. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00472>
- Shao, Y., Yang, W. Y., Saaoud, F., Drummer, C., Sun, Y., Xu, K., Lu, Y., Shan, H., Shevach, E. M., Jiang, X., Wang, H., & Yang, X. (2021). IL-35 promotes CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs and inhibits atherosclerosis via maintaining CCR5-amplified Treg-suppressive mechanisms. *JCI Insight*, 6(19). <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.152511>
- Shapiro, R. M., Birch, G. C., Hu, G., Cadavid, J. V., Nikiforow, S., Baginska, J., Ali, A. K., Tarannum, M., Sheffer, M., Abdulhamid, Y. Z., Rambaldi, B., Arihara, Y., Reynolds, C., Halpern, M. S., Rodig, S. J., Cullen, N., Wolff, J. O., Pfaff, K. L., Lane, A. A., ... Romee, R. (2022). Expansion, persistence, and efficacy of donor memory-like NK cells infused for posttransplant relapse. *The Journal of Clinical Investigation*, 132(11). <https://doi.org/10.1172/JCI154334>
- Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmaeili, S. A., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J. T., & Sahebkar, A. (2018). Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of Cellular Physiology*, 233(9), 6425–6440. <https://doi.org/10.1002/JCP.26429>
- Shen, P., Roch, T., Lampropoulou, V., O'Connor, R. A., Stervbo, U., Hilgenberg, E., Ries, S., Dang, V. D., Jaimes, Y., Daridon, C., Li, R., Jouneau, L., Boudinot, P., Wilantri, S., Sakwa, I., Miyazaki, Y., Leech, M. D., McPherson, R. C., Wirtz, S., ... Fillatreau, S. (2014). IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases. *Nature*, 507(7492), 366–370. <https://doi.org/10.1038/NATURE12979>
- Sheppard, S., Schuster, I. S., Andoniou, C. E., Cocita, C., Adejumo, T., Kung, S. K. P., Sun, J. C., Degli-Esposti, M. A., & Guerra, N. (2018). The Murine Natural Cytotoxic Receptor NKp46/NCR1 Controls TRAIL Protein Expression in NK Cells and ILC1s. *Cell Reports*, 22(13), 3385. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2018.03.023>
- Shibuya, A., Campbell, D., Hannum, C., Yssel, H., Franz-Bacon, K., McClanashan, T., Kitamura, T., Nicholl, J., Sutherland, G. R., Lanier, L. L., & Phillips, J. H. (1996). DNAM-1, a novel adhesion molecule involved in the cytolytic function of T lymphocytes. *Immunity*, 4(6), 573–581. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)70060-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)70060-4)
- Shibuya, K., Lanier, L. L., Phillips, J. H., Ochs, H. D., Shimizu, K., Nakayama, E., Nakauchi, H., & Shibuya, A. (1999). Physical and functional association of LFA-1 with DNAM-1 adhesion molecule. *Immunity*, 11(5), 615–623. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80136-3](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80136-3)
- Shimizu, K., Ueda, S., Kawamura, M., Aoshima, H., Satoh, M., Nakabayashi, J., & Fujii, S. I. (2023). Combination of cancer vaccine with CD122-biased IL-2/anti-IL-2 Ab complex shapes the stem-like effector NK and CD8<sup>+</sup> T cells against tumor. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 11(7), e006409. <https://doi.org/10.1136/JITC-2022-006409>
- Shin, J. H., Zhang, L., Murillo-Sauca, O., Kim, J., Kohrt, H. E. K., Bui, J. D., & Sunwoo, J. B. (2013). Modulation of natural killer cell antitumor activity by the aryl hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(30), 12391–12396. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1302856110/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Shirakawa, J., Wang, Y., Tahara-Hanaoka, S., Honda, S. I., Shibuya, K., & Shibuya, A. (2006). LFA-1-dependent lipid raft recruitment of DNAM-1 (CD226) in CD4<sup>+</sup> T cell. *International Immunology*, 18(6), 951–957. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXL031>
- Shlomovitz, I., Erlich, Z., Speir, M., Zargarian, S., Baram, N., Engler, M., Edry-Botzer, L., Munitz, A., Croker, B. A., & Gerlic, M. (2019). Necroptosis directly induces the release of full-length biologically active IL-33 in vitro and in an inflammatory disease model. *The FEBS Journal*, 286(3), 507–522. <https://doi.org/10.1111/FEBS.14738>
- Shull, M. M., Ormsby, I., Kier, A. B., Pawlowski, S., Diebold, R. J., Yin, M., Allen, R., Sidman, C., Proetzel, G., Calvin, D., Annunziata, N., & Doetschman, T. (1992). Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*, 359(6397), 693–699. <https://doi.org/10.1038/359693A0>
- Sieve, A. N., Meeks, K. D., Lee, S., & Berg, R. E. (2010). A Novel Immunoregulatory Function for IL-23: Inhibition of IL-12 Dependent IFN- $\gamma$  Production. *European Journal of Immunology*, 40(8), 2236. <https://doi.org/10.1002/EJL.200939759>
- Siew, Y. Y., Neo, S. Y., Yew, H. C., Lim, S. W., Ng, Y. C., Lew, S. M., Seetho, W. G., Seow, S. V., & Koh, H. L. (2015). Oxaliplatin regulates expression of stress ligands in ovarian cancer cells and modulates their susceptibility to natural killer cell-mediated cytotoxicity. *International Immunology*, 27(12), 621–632. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXV041>

- Silver, J. S., Kearley, J., Copenhaver, A. M., Sanden, C., Mori, M., Yu, L., Pritchard, G. H., Berlin, A. A., Hunter, C. A., Bowler, R., Erjefalt, J. S., Kolbeck, R., & Humbles, A. A. (2016). Inflammatory triggers associated with exacerbations of COPD orchestrate plasticity of group 2 innate lymphoid cells in the lungs. *Nature Immunology*, 17(6), 626–635. <https://doi.org/10.1038/NI.3443>
- Simhadri, V. L., Hansen, H. P., Simhadri, V. R., Reiners, K. S., Bessler, M., Engert, A., & Von Strandmann, E. P. (2012). A novel role for reciprocal CD30-CD30L signaling in the cross-talk between natural killer and dendritic cells. *Biological Chemistry*, 393(1–2), 101–106. <https://doi.org/10.1515/BC-2011-213>
- Singh, K., Kadesjö, E., Lindroos, J., Hjort, M., Lundberg, M., Espes, D., Carlsson, P. O., Sandler, S., & Thorvaldson, L. (2015). Interleukin-35 administration counteracts established murine type 1 diabetes – possible involvement of regulatory T cells. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/SREP12633>
- Singh, K., Martinell, M., Luo, Z., Espes, D., Stålhammar, J., Sandler, S., & Carlsson, P. O. (2019). Cellular immunological changes in patients with LADA are a mixture of those seen in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Clinical and Experimental Immunology*, 197(1), 64. <https://doi.org/10.1111/CEI.13289>
- Sivori, S., Falco, M., Carlomagno, S., Romeo, E., Moretta, L., & Moretta, A. (2007). Heterogeneity of TLR3 mRNA transcripts and responsiveness to poly (I:C) in human NK cells derived from different donors. *International Immunology*, 19(12), 1341–1348. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXM105>
- Sivori, S., Falco, M., Della Chiesa, M., Carlomagno, S., Vitale, M., Moretta, L., & Moretta, A. (2004). CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: Induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(27), 10116. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0403744101>
- Sivori, S., Vitale, M., Morelli, L., Sanseverino, L., Augugliaro, R., Bottino, C., Moretta, L., & Moretta, A. (1997). p46, a Novel Natural Killer Cell-specific Surface Molecule That Mediates Cell Activation. *The Journal of Experimental Medicine*, 186(7), 1129. <https://doi.org/10.1084/JEM.186.7.1129>
- Skak, K., Frederiksen, K. S., & Lundsgaard, D. (2008). Interleukin-21 activates human natural killer cells and modulates their surface receptor expression. *Immunology*, 123(4), 575. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2567.2007.02730.X>
- Sköld, A. E., Mathan, T. S. M., van Beek, J. J. P., Flórez-Grau, G., van den Beukel, M. D., Sittig, S. P., Wimmers, F., Bakdash, G., Schreiber, G., & de Vries, I. J. M. (2018). Naturally produced type I IFNs enhance human myeloid dendritic cell maturation and IL-12p70 production and mediate elevated effector functions in innate and adaptive immune cells. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 67(9), 1425–1436. <https://doi.org/10.1007/S00262-018-2204-2>
- Slattery, K., Woods, E., Zaiatz-Bittencourt, V., Marks, S., Chew, S., Conroy, M., Goggin, C., Maceochagain, C., Kennedy, J., Lucas, S., Finlay, D. K., & Gardiner, C. M. (2021). Original research: TGFβ drives NK cell metabolic dysfunction in human metastatic breast cancer. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9(2), 2044. <https://doi.org/10.1136/JITC-2020-002044>
- Slawek, A., Lorek, D., Kedzierska, A. E., & Chelmonska-Soyta, A. (2020). Regulatory B cells with IL-35 and IL-10 expression in a normal and abortion-prone murine pregnancy model. *American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y.: 1989)*, 83(3). <https://doi.org/10.1111/AJRI.13217>
- Smith, S. L., Kennedy, P. R., Stacey, K. B., Worboys, J. D., Yarwood, A., Seo, S., Solloa, E. H., Mistretta, B., Chatterjee, S. S., Gunaratne, P., Allette, K., Wang, Y. C., Smith, M. L., Sebra, R., Mace, E. M., Horowitz, A., Thomson, W., Martin, P., Eyre, S., & Davis, D. M. (2020). Diversity of peripheral blood human NK cells identified by single-cell RNA sequencing. *Blood Advances*, 4(7), 1388–1406. <https://doi.org/10.1182/BLOODADVANCES.2019000699>
- Smithgall, M. D., Comeau, M. R., Park Yoon, B. R., Kaufman, D., Armitage, R., & Smith, D. E. (2008). IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. *International Immunology*, 20(8), 1019–1030. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXN060>
- Smyth, M. J., Cretney, E., Takeda, K., Wiltrout, R. H., Sedger, L. M., Kayagaki, N., Yagita, H., & Okumura, K. (2001). Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) contributes to interferon gamma-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. *The Journal of Experimental Medicine*, 193(6), 661–670. <https://doi.org/10.1084/JEM.193.6.661>
- Smyth, M. J., Crowe, N. Y., & Godfrey, D. I. (2001). NK cells and NKT cells collaborate in host protection from methylcholanthrene-induced fibrosarcoma. *International Immunology*, 13(4), 459–463. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/13.4.459>
- Smyth, M. J., O'Connor, M. D., Kelly, J. M., Ganesvaran, P., Thia, K. Y. T., & Trapani, J. A. (1995). Expression of recombinant human Met-ase-1: A NK cell-specific granzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 217(2), 675–683. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2827>
- Smyth, M. J., Street, S. E. A., & Trapani, J. A. (2003). Cutting Edge: Granzymes A and B Are Not Essential for Perforin-Mediated Tumor Rejection. *The Journal of Immunology*, 171(2), 515–518. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.171.2.515>
- Snapper, C. M., & Paul, W. E. (1987). Interferon-γ and B Cell Stimulatory Factor-1 Reciprocally Regulate Ig Isotype Production. *Science*, 236(4804), 944–947. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.3107127>
- Snelgrove, R. J., Gregory, L. G., Peiró, T., Akthar, S., Campbell, G. A., Walker, S. A., & Lloyd, C. M. (2014). *Alternaria*-derived serine protease activity drives IL-33-mediated asthma exacerbations. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(3), 583. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2014.02.002>
- Söderströma, K., Stein, E., Colmenero, P., Purath, U., Müller-Ladner, U., De Matos, C. T., Tarner, I. H., Robinson, W. H., & Engleman, E. G. (2010). Natural killer cells trigger osteoclastogenesis and bone destruction in arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(29), 13028–13033. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1000546107/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Sojka, D. K., Yang, L., & Yokoyama, W. M. (2018). Uterine Natural Killer Cells: To Protect and to Nurture. *Birth Defects Research*, 110(20), 1531. <https://doi.org/10.1002/BDR2.1419>

- Son, J., Cho, J. W., Park, H. J., Moon, J., Park, S., Lee, H., Lee, J., Kim, G., Park, S. M., Lira, S. A., McKenzie, A. N., Kim, H. Y., Choi, C. Y., Lim, Y. T., Park, S. Y., Kim, H. R., Park, S. H., Shin, E. C., Lee, I., & Ha, S. J. (2020). Tumor-Infiltrating Regulatory T-cell Accumulation in the Tumor Microenvironment Is Mediated by IL33/ST2 Signaling. *Cancer Immunology Research*, 8(11), 1393–1406. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-19-0828>
- Song, M., Yang, J., Di, M., Hong, Y., Pan, Q., Du, Y., Xiang, T., Liu, J., Tang, Y., Wang, Q., Li, Y., He, J., Chen, H., Zhao, J., Weng, D., Zhang, Y., & Xia, J. C. (2023). Alarmin IL-33 orchestrates antitumoral T cell responses to enhance sensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Theranostics*, 13(5), 1649–1668. <https://doi.org/10.7150/THNO.80483>
- Sordo-bahamonde, C., Lorenzo-herrero, S., González-rodríguez, A. P., Payer, Á. R., González-garcía, E., López-soto, A., & Gonzalez, S. (2021). LAG-3 Blockade with Relatlimab (BMS-986016) Restores Anti-Leukemic Responses in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancers*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/CANCERS13092112>
- Sordo-Bahamonde, C., Lorenzo-Herrero, S., Payer, Á. R., Gonzalez, S., & López-Soto, A. (2020). Mechanisms of Apoptosis Resistance to NK Cell-Mediated Cytotoxicity in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10). <https://doi.org/10.3390/IJMS21103726>
- Soriani, A., Iannitto, M. L., Ricci, B., Fionda, C., Malgarini, G., Morrone, S., Peruzzi, G., Ricciardi, M. R., Petrucci, M. T., Cipitelli, M., & Santoni, A. (2014). Reactive oxygen species- and DNA damage response-dependent NK cell activating ligand upregulation occurs at transcriptional levels and requires the transcriptional factor E2F1. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 193(2), 950–960. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1400271>
- Soudja, S. M. H., Ruiz, A. L., Marie, J. C., & Lauvau, G. (2012). Inflammatory monocytes activate memory CD8+ T and innate NK lymphocytes independent of cognate antigen during microbial pathogen invasion. *Immunity*, 37(3), 549. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.05.029>
- Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Krasnova, Y., Putoczki, T., Miles, K., Macdonald, K. P., Town, L., Shi, W., Gobe, G. C., McDade, L., Mielke, L. A., Tye, H., Masters, S. L., Belz, G. T., Huntington, N. D., Radford-Smith, G., & Smyth, M. J. (2016). Granzyme M has a critical role in providing innate immune protection in ulcerative colitis. *Cell Death & Disease*, 7(7). <https://doi.org/10.1038/CDDIS.2016.215>
- Souza-Fonseca-Guimaraes, F., Young, A., Mittal, D., Martinet, L., Bruedigam, C., Takeda, K., Andoniu, C. E., Degli-Esposti, M. A., Hill, G. R., & Smyth, M. J. (2015). NK cells require IL-28R for optimal in vivo activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), E2376–E2384. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1424241112/SUPPL\\_FILE/PNAS.1424241112.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1424241112/SUPPL_FILE/PNAS.1424241112.SAPP.PDF)
- Spiegel, A., Brooks, M. W., Houshyar, S., Reinhardt, F., Ardolino, M., Fessler, E., Chen, M. B., Krall, J. A., Decock, J., Zervantonakis, I. K., Iannello, A., Iwamoto, Y., Cortez-Retamozo, V., Kamm, R. D., Pittet, M. J., Raulet, D. H., & Weinberg, R. A. (2016). Neutrophils Suppress Intraluminal NK Cell-Mediated Tumor Cell Clearance and Enhance Extravasation of Disseminated Carcinoma Cells. *Cancer Discovery*, 6(6), 630–649. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1157>
- Spits, H., & Di Santo, J. P. (2011). The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nature Immunology*, 12(1), 21–27. <https://doi.org/10.1038/NI.1962>
- Spits, H., Artis, D., Colonna, M., Dieffenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., Koyasu, S., Locksley, R. M., McKenzie, A. N. J., Mebius, R. E., Powrie, F., & Vivier, E. (2013). Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature. *Nature Reviews. Immunology*, 13(2), 145–149. <https://doi.org/10.1038/NRI3365>
- Sponheim, J., Pollheimer, J., Olsen, T., Balogh, J., Hammarström, C., Loos, T., Kasprzycka, M., Sørensen, D. R., Nilsen, H. R., Küchler, A. M., Vatn, M. H., & Haraldsen, G. (2010). Inflammatory Bowel Disease-Associated Interleukin-33 Is Preferentially Expressed in Ulceration-Associated Myofibroblasts. *The American Journal of Pathology*, 177(6), 2804. <https://doi.org/10.2353/AJPATH.2010.100378>
- Spreu, J., Kuttruff, S., Stejfova, V., Dennehy, K. M., Schitteck, B., & Steinle, A. (2010). Interaction of C-type lectin-like receptors NKp65 and KACL facilitates dedicated immune recognition of human keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(11), 5100–5105. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0913108107>
- Stegmann, K. A., Björkström, N. K., Veber, H., Ciesek, S., Riese, P., Wiegand, J., Hadem, J., Suneetha, P. V., Jaroszewicz, J., Wang, C., Schlaphoff, V., Fytli, P., Cornberg, M., Manns, M. P., Geffers, R., Pietschmann, T., Guzmán, C. A., Ljunggren, H. G., & Wedemeyer, H. (2010). Interferon-alpha-induced TRAIL on natural killer cells is associated with control of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*, 138(5). <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2010.01.051>
- Stellas, D., Karaliota, S., Stravokefalou, V., Angel, M., Nagy, B. A., Goldfarbmuren, K. C., Bergamaschi, C., Felber, B. K., & Pavlakis, G. N. (2023). Tumor eradication by hetIL-15 locoregional therapy correlates with an induced intratumoral CD103intCD11b+ dendritic cell population. *Cell Reports*, 42(5). <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2023.112501>
- Stewart, C. A., Laugier-Anfossi, F., Vély, F., Saulquin, X., Riedmuller, J., Tisserant, A., Gauthiers, L., Romagné, F., Ferracci, G., Arosa, F. A., Moretta, A., Sun, P. D., Ugolini, S., & Vivier, E. (2005). Recognition of peptide-MHC class I complexes by activating killer immunoglobulin-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(37), 13224–13229. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0503594102>
- Strengell, M., Matikainen, S., Sirén, J., Lehtonen, A., Foster, D., Julkunen, I., & Sareneva, T. (2003). IL-21 in synergy with IL-15 or IL-18 enhances IFN-gamma production in human NK and T cells. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 170(11), 5464–5469. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.170.11.5464>
- Stringaris, K., Sekine, T., Khoder, A., Alsuliman, A., Razzaghi, B., Sargeant, R., Pavlu, J., Brisley, G., de Lavallade, H., Sarvaria, A., Marin, D., Mielke, S., Apperley, J. F., Shpall, E. J., John Barrett, A., & Rezvani, K. (2014). Leukemia-induced phenotypic and functional defects in natural killer cells predict failure to achieve remission in acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 99(5), 836–847. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2013.087536>
- Stumhofer, J. S., Laurence, A., Wilson, E. H., Huang, E., Tato, C. M., Johnson, L. M., Villarino, A. V., Huang, Q., Yoshimura, A., Sehy, D., Saris, C. J. M., O’Shea, J. J., Hennighausen, L., Ernst, M., & Hunter, C. A. (2006). Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17–producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system. *Nature Immunology* 2006 7:9, 7(9), 937–945. <https://doi.org/10.1038/ni1376>

- Stumhofer, J. S., Silver, J. S., Laurence, A., Porrett, P. M., Harris, T. H., Turka, L. A., Ernst, M., Saris, C. J. M., O'Shea, J. J., & Hunter, C. A. (2007). Interleukins 27 and 6 induce STAT3-mediated T cell production of interleukin 10. *Nature Immunology* 2007 8:12, 8(12), 1363–1371. <https://doi.org/10.1038/ni1537>
- Suffee, N., Le Visage, C., Hlawaty, H., Aid-Launais, R., Vanneaux, V., Larghero, J., Haddad, O., Oudar, O., Charnaux, N., & Sutton, A. (2017). Pro-angiogenic effect of RANTES-loaded polysaccharide-based microparticles for a mouse ischemia therapy. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13444-7>
- Suliman, S., Geldenhuys, H., Johnson, J. L., Hughes, J. E., Smit, E., Murphy, M., Toefy, A., Lerumo, L., Hopley, C., Pienaar, B., Chheng, P., Nemes, E., Hoft, D. F., Hanekom, W. A., Boom, W. H., Hatherill, M., & Scriba, T. J. (2016). Bacillus Calmette–Guérin (BCG) Revaccination of Adults with Latent Mycobacterium tuberculosis Infection Induces Long-Lived BCG-Reactive NK Cell Responses. *The Journal of Immunology*, 197(4), 1100–1110. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1501996>
- Sullivan, J. A., Tomita, Y., Jankowska-Gan, E., Lema, D. A., Arvedson, M. P., Nair, A., Bracamonte-Baran, W., Zhou, Y., Meyer, K. K., Zhong, W., Sawant, D. V., Szymczak-Workman, A. L., Zhang, Q., Workman, C. J., Hong, S., Vignali, D. A. A., & Burlingham, W. J. (2020). Treg-Cell-Derived IL-35-Coated Extracellular Vesicles Promote Infectious Tolerance. *Cell Reports*, 30(4), 1039. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2019.12.081>
- Sun, C., Xu, J., Huang, Q., Huang, M., Wen, H., Zhang, C., Wang, J., Song, J., Zheng, M., Sun, H., Wei, H., Xiao, W., Sun, R., & Tian, Z. (2017). High NKG2A expression contributes to NK cell exhaustion and predicts a poor prognosis of patients with liver cancer. *Oncoimmunology*, 6(1). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1264562>
- Sun, H., Huang, Q., Huang, M., Wen, H., Lin, R., Zheng, M., Qu, K., Li, K., Wei, H., Xiao, W., Sun, R., Tian, Z., & Sun, C. (2019). Human CD96 Correlates to Natural Killer Cell Exhaustion and Predicts the Prognosis of Human Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 70(1), 168–183. <https://doi.org/10.1002/HEP.30347>
- Sun, H., Xu, J., Huang, Q., Huang, M., Li, K., Qu, K., Wen, H., Lin, R., Zheng, M., Wei, H., Xiao, W., Sun, R., Tian, Z., & Sun, C. (2018). Reduced CD160 expression contributes to impaired NK-cell function and poor clinical outcomes in patients with HCC. *Cancer Research*, 78(23), 6581–6593. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1049/653374/AM/REDUCED-CD160-EXPRESSION-CONTRIBUTES-TO-IMPAIRED>
- Sun, J. C., & Lanier, L. L. (2008). Tolerance of NK cells encountering their viral ligand during development. *The Journal of Experimental Medicine*, 205(8), 1819. <https://doi.org/10.1084/JEM.20072448>
- Sun, J. C., Beilke, J. N., & Lanier, L. L. (2009). Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature*, 457(7229), 557–561. <https://doi.org/10.1038/NATURE07665>
- Sun, J. C., Madera, S., Bezman, N. A., Beilke, J. N., Kaplan, M. H., & Lanier, L. L. (2012). Proinflammatory cytokine signaling required for the generation of natural killer cell memory. *The Journal of Experimental Medicine*, 209(5), 947. <https://doi.org/10.1084/JEM.20111760>
- Sun, J., Dodd, H., Moser, E. K., Sharma, R., & Braciale, T. J. (2011). CD4+ T cell help and innate-derived IL-27 induce Blimp-1-dependent IL-10 production by antiviral CTLs. *Nature Immunology* 2011 12:4, 12(4), 327–334. <https://doi.org/10.1038/ni.1996>
- Sun, P., Ben, Q., Tu, S., Dong, W., Qi, X., & Wu, Y. (2011). Serum interleukin-33 levels in patients with gastric cancer. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(12), 3596–3601. <https://doi.org/10.1007/S10620-011-1760-5>
- Sun, T., Yang, Y., Luo, X., Cheng, Y., Zhang, M., Wang, K., & Ge, C. (2014). Inhibition of tumor angiogenesis by interferon- $\gamma$  by suppression of tumor-associated macrophage differentiation. *Oncology Research*, 21(5), 227–235. <https://doi.org/10.3727/096504014X13890370410285>
- Sun, X., He, X., Zhang, Y., Hosaka, K., Andersson, P., Wu, J., Wu, J., Jing, X., Du, Q., Hui, X., Ding, B., Guo, Z., Hong, A., Liu, X., Wang, Y., Ji, Q., Beyaert, R., Yang, Y., Li, Q., & Cao, Y. (2022). Inflammatory cell-derived CXCL3 promotes pancreatic cancer metastasis through a novel myofibroblast-hijacked cancer escape mechanism. *Gut*, 71(1), 129–147. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2020-322744>
- Sundararaman, S. K., & Barbie, D. A. (2018). Tumor cGAMP awakens the natural killers. *Immunity*, 49(4), 585. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2018.10.001>
- Sundnes, O., Pietka, W., Loos, T., Sponheim, J., Rankin, A. L., Pflanz, S., Bertelsen, V., Sitek, J. C., Hol, J., Haraldsen, G., & Khnykin, D. (2015). Epidermal Expression and Regulation of Interleukin-33 during Homeostasis and Inflammation: Strong Species Differences. *The Journal of Investigative Dermatology*, 135(7), 1771–1780. <https://doi.org/10.1038/JID.2015.85>
- Sutton, V. R., Davis, J. E., Cancilla, M., Johnstone, R. W., Ruefli, A. A., Sedelies, K., Browne, K. A., & Trapani, J. A. (2000). Initiation of Apoptosis by Granzyme B Requires Direct Cleavage of Bid, but Not Direct Granzyme B–Mediated Caspase Activation. *The Journal of Experimental Medicine*, 192(10), 1403. <https://doi.org/10.1084/JEM.192.10.1403>
- Sutton, V. R., Vaux, D. L., & Trapani, J. A. (1997). Bcl-2 prevents apoptosis induced by perforin and granzyme B, but not that mediated by whole cytotoxic lymphocytes. *The Journal of Immunology*, 158(12), 5783–5790. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.158.12.5783>
- Suzukawa, M., Iikura, M., Koketsu, R., Nagase, H., Tamura, C., Komiya, A., Nakae, S., Matsushima, K., Ohta, K., Yamamoto, K., & Yamaguchi, M. (2008). An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 181(9), 5981–5989. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.9.5981>
- Suzukawa, M., Koketsu, R., Iikura, M., Nakae, S., Matsumoto, K., Nagase, H., Saito, H., Matsushima, K., Ohta, K., Yamamoto, K., & Yamaguchi, M. (2008). Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 88(11), 1245–1253. <https://doi.org/10.1038/LABINVEST.2008.82>
- Swanson, L., Katkar, G. D., Tam, J., Pranadinata, R. F., Chareddy, Y., Coates, J., Anandachar, M. S., Castillo, V., Olson, J., Nizet, V., Kufareva, I., Das, S., & Ghosh, P. (2020). TLR4 signaling and macrophage inflammatory responses are dampened by GIV/Girdin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(43), 26895–26906. [https://doi.org/10.1073/PNAS.2011667117/SUPPL\\_FILE/PNAS.2011667117.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.2011667117/SUPPL_FILE/PNAS.2011667117.SAPP.PDF)
- Szabo, S. J., Dighe, A. S., Gubler, U., & Murphy, K. M. (1997). Regulation of the Interleukin (IL)-12R  $\beta$ 2 Subunit Expression in Developing T Helper 1 (Th1) and Th2 Cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 185(5), 817. <https://doi.org/10.1084/JEM.185.5.817>

- Szczepanski, M. J., Szajnik, M., Welsh, A., Whiteside, T. L., & Boyiadzis, M. (2011). Blast-derived microvesicles in sera from patients with acute myeloid leukemia suppress natural killer cell function via membrane-associated transforming growth factor- $\beta$ 1. *Haematologica*, 96(9), 1302–1309. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2010.039743>
- Taghinejad, A., Barani, S., Gholijani, N., Ghandehari, F., Khansalar, S., Asadipour, M., Davarpanah, M., Fattahi, M., & Kalantar, K. (2020). Variations in IL-22, IL-27 and IL-35 serum levels in untreated and treated hepatitis C patients. *European Cytokine Network*, 31(4), 134–139. <https://doi.org/10.1684/ECN.2020.0455>
- Tait Wojno, E. D., Hunter, C. A., & Stumhofer, J. S. (2019). The Immunobiology of the Interleukin-12 Family: Room for Discovery. *Immunity*, 50(4), 851–870. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2019.03.011>
- Takatsu, K. (2011). Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 87(8), 463. <https://doi.org/10.2183/PJAB.87.463>
- Takeda, K., Hayakawa, Y., Smyth, M. J., Kayagaki, N., Yamaguchi, N., Kakuta, S., Iwakura, Y., Yagita, H., & Okumura, K. (2001). Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nature Medicine*, 7(1), 94–100. <https://doi.org/10.1038/83416>
- Takeda, K., Kaisho, T., & Akira, S. (2003). Toll-like receptors. *Annual Review of Immunology*, 21, 335–376. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.21.120601.141126>
- Takeda, K., Nakayama, M., Hayakawa, Y., Kojima, Y., Ikeda, H., Imai, N., Ogasawara, K., Okumura, K., Thomas, D. M., & Smyth, M. J. (2017). IFN- $\gamma$  is required for cytotoxic T cell-dependent cancer genome immunoeediting. *Nature Communications* 2017 8:1, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms14607>
- Takeda, K., Oshima, H., Hayakawa, Y., Akiba, H., Atsuta, M., Kobata, T., Kobayashi, K., Ito, M., Yagita, H., & Okumura, K. (2000). CD27-mediated activation of murine NK cells. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 164(4), 1741–1745. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.164.4.1741>
- Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern Recognition Receptors and Inflammation. *Cell*, 140(6), 805–820. <https://doi.org/10.1016/j.CELL.2010.01.022>
- Tang, H., Li, C., Wang, L., Zhang, H., & Fan, Z. (2012). Granzyme H of cytotoxic lymphocytes is required for clearance of the hepatitis B virus through cleavage of the hepatitis B virus X protein. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 188(2), 824–831. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1102205>
- Tang, M., Diao, J., Gu, H., Khatri, I., Zhao, J., & Catral, M. S. (2015). Toll-like Receptor 2 Activation Promotes Tumor Dendritic Cell Dysfunction by Regulating IL-6 and IL-10 Receptor Signaling. *Cell Reports*, 13(12), 2851–2864. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.11.053>
- Tang, P. M. K., Zhou, S., Meng, X. M., Wang, Q. M., Li, C. J., Lian, G. Y., Huang, X. R., Tang, Y. J., Guan, X. Y., Yan, B. P. Y., To, K. F., & Lan, H. Y. (2017). Smad3 promotes cancer progression by inhibiting E4BP4-mediated NK cell development. *Nature Communications* 2017 8:1, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/ncomms14677>
- Taniguchi, S., Elhance, A., van Duzer, A., Kumar, S., Leitenberger, J. J., & Oshimori, N. (2020). Tumor-initiating cells establish an IL-33-TGF- $\beta$  niche signaling loop to promote cancer progression. *Science*, 369(6501). [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAY1813/SUPPL\\_FILE/AAY1813-TANIGUCHI-SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAY1813/SUPPL_FILE/AAY1813-TANIGUCHI-SM.PDF)
- Tao, L., Zhu, J., Chen, Y., Wang, Q., Pan, Y., Yu, Q., Zhou, B., & Zhu, H. (2016). IL-35 improves Treg-mediated immune suppression in atherosclerotic mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(4), 2469. <https://doi.org/10.3892/ETM.2016.3649>
- Tao, N. N., Gong, R., Chen, X., He, L., Ren, F., Yu, H. B., Chen, J., & Ren, J. H. (2018). Interleukin-35 stimulates hepatitis B virus transcription and replication by targeting transcription factor HNF4 $\alpha$ . *The Journal of General Virology*, 99(5), 645–654. <https://doi.org/10.1099/JGV.0.001050>
- Tao, Q., Pan, Y., Wang, Y., Wang, H., Xiong, S., Li, Q., Wang, J., Tao, L., Wang, Z., Wu, F., Zhang, R., & Zhai, Z. (2015). Regulatory T cells-derived IL-35 promotes the growth of adult acute myeloid leukemia blasts. *International Journal of Cancer*, 137(10), 2384–2393. <https://doi.org/10.1002/IJC.29563>
- Tao, Y., Li, Y. H., Piao, H. L., Zhou, W. J., Zhang, D., Fu, Q., Wang, S. C., Li, D. J., & Du, M. R. (2015). CD56brightCD25+ NK cells are preferentially recruited to the maternal/fetal interface in early human pregnancy. *Cellular and Molecular Immunology*, 12(1), 77. <https://doi.org/10.1038/CMI.2014.26>
- Tao, Y., Li, Y., Zhang, D., Xu, L., Chen, J., Sang, Y., Piao, H., Jing, X., Yu, M., Fu, Q., Zhou, S., Li, D., & Du, M. (2021). Decidual CXCR4+ CD56bright NK cells as a novel NK subset in maternal-foetal immune tolerance to alleviate early pregnancy failure. *Clinical and Translational Medicine*, 11(10). <https://doi.org/10.1002/CTM2.540>
- Tarannum, M., & Romee, R. (2021). Cytokine-induced memory-like natural killer cells for cancer immunotherapy. *Stem Cell Research and Therapy*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S13287-021-02655-5/FIGURES/3>
- Teng, M. W. L., Andrews, D. M., McLaughlin, N., Von Scheidt, B., Ngiow, S. F., Möller, A., Hill, G. R., Iwakura, Y., Oft, M., & Smyth, M. J. (2010). IL-23 suppresses innate immune response independently of IL-17A during carcinogenesis and metastasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(18), 8328–8333. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1003251107/SUPPL\\_FILE/PNAS.201003251SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1003251107/SUPPL_FILE/PNAS.201003251SI.PDF)
- Terme, M., Pernot, S., Marcheteau, E., Sandoval, F., Benhamouda, N., Colussi, O., Dubreuil, O., Carpentier, A. F., Tartour, E., & Taieb, J. (2013). VEGFA-VEGFR pathway blockade inhibits tumor-induced regulatory T-cell proliferation in colorectal cancer. *Cancer Research*, 73(2), 539–549. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2325>
- Terra, M., Oberkamp, M., Fayolle, C., Rosenbaum, P., Guillerey, C., Dadaglio, G., & Leclerc, C. (2018). Tumor-derived TGF $\beta$  alters the ability of plasmacytoid dendritic cells to respond to innate immune signaling. *Cancer Research*, 78(11), 3014–3026. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2719/653133/AM/TUMOR-DERIVED-TGF-ALTERS-THE-ABILITY-OF>

- Terrén, I., Orrantia, A., Astarloa-Pando, G., Amarilla-Irusta, A., Zenarruzabeitia, O., & Borrego, F. (2022). Cytokine-Induced Memory-Like NK Cells: From the Basics to Clinical Applications. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.884648>
- Terrén, I., Orrantia, A., Mosteiro, A., Vitallé, J., Zenarruzabeitia, O., & Borrego, F. (2021). Metabolic changes of Interleukin-12/15/18-stimulated human NK cells. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85960-6>
- Terrén, I., Orrantia, A., Vitallé, J., Zenarruzabeitia, O., & Borrego, F. (2019). NK Cell Metabolism and Tumor Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 10(SEP). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.02278>
- Thomas, D. A., Scorrano, L., Putcha, G. V., Korsmeyer, S. J., & Ley, T. J. (2001). Granzyme B can cause mitochondrial depolarization and cell death in the absence of BID, BAX, and BAK. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(26), 14985–14990. <https://doi.org/10.1073/PNAS.261581498>
- Thomas, M., Boname, J. M., Field, S., Nejentsev, S., Salio, M., Cerundolo, V., Wills, M., & Lehner, P. J. (2008). Down-regulation of NKG2D and NKp80 ligands by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K5 protects against NK cell cytotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(5), 1656–1661. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0707883105/ASSET/ADD5E395-E3BE-4537-ABD5-4758FD939884/ASSETS/GRAPHIC/ZPQ0050890200005.JPG>
- Thomas, R., & Yang, X. (2016). NK-DC Crosstalk in Immunity to Microbial Infection. *Journal of Immunology Research*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6374379>
- Tichet, M., Wullschleger, S., Chryplewicz, A., Fournier, N., Marcone, R., Kauzlaric, A., Homicsko, K., Deak, L. C., Umaña, P., Klein, C., & Hanahan, D. (2023). Bispecific PD1-IL2v and anti-PD-L1 break tumor immunity resistance by enhancing stem-like tumor-reactive CD8+ T cells and reprogramming macrophages. *Immunity*, 56(1), 162–179.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2022.12.006>
- Tinker, A. V., Hirte, H. W., Provencher, D., Butler, M., Ritter, H., Tu, D., Azim, H. A., Paralejas, P., Grenier, N., Hahn, S. A., Ramsahai, J., & Seymour, L. (2019). 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. *Clinical Cancer Research*, 25(20), 6052–6060. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-0298/75121/AM/DOSE-RANGING-AND-COHORT-EXPANSION-STUDY-OF>
- Tong, L., Jiménez-Cortegana, C., Tay, A. H. M., Wickström, S., Galluzzi, L., & Lundqvist, A. (2022). NK cells and solid tumors: therapeutic potential and persisting obstacles. *Molecular Cancer*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/S12943-022-01672-Z>
- Tong, X., Barbour, M., Hou, K., Gao, C., Cao, S., Zheng, J., Zhao, Y., Mu, R., & Jiang, H. R. (2016). Interleukin-33 predicts poor prognosis and promotes ovarian cancer cell growth and metastasis through regulating ERK and JNK signaling pathways. *Molecular Oncology*, 10(1), 113. <https://doi.org/10.1016/J.MOLONC.2015.06.004>
- Topham, N. J., & Hewitt, E. W. (2009). Natural killer cell cytotoxicity: how do they pull the trigger? *Immunology*, 128(1), 7. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2567.2009.03123.X>
- Towne, J. E., Renshaw, B. R., Douangpanya, J., Lipsky, B. P., Shen, M., Gabel, C. A., & Sims, J. E. (2011). Interleukin-36 (IL-36) Ligands Require Processing for Full Agonist (IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , and IL-36 $\gamma$ ) or Antagonist (IL-36Ra) Activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(49), 42594. <https://doi.org/10.1074/JBC.M111.267922>
- Townsend, M. J., Weinmann, A. S., Matsuda, J. L., Salomon, R., Farnham, P. J., Biron, C. A., Gapin, L., & Glimcher, L. H. (2004). T-bet regulates the terminal maturation and homeostasis of NK and Valpha14i NKT cells. *Immunity*, 20(4), 477–494. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(04\)00076-7](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(04)00076-7)
- Trapani, J. A. (2001). Granzymes: a family of lymphocyte granule serine proteases. *Genome Biology* 2001 2:12, 2(12), 1–7. <https://doi.org/10.1186/GB-2001-2-12-REVIEWS3014>
- Travers, J., Rochman, M., Miracle, C. E., Habel, J. E., Brusilovsky, M., Caldwell, J. M., Rymer, J. K., & Rothenberg, M. E. (2018). Chromatin regulates IL-33 release and extracellular cytokine activity. *Nature Communications* 2018 9:1, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/S41467-018-05485-X>
- Travis, M. A., & Sheppard, D. (2014). TGF- $\beta$  activation and function in immunity. *Annual Review of Immunology*, 32, 51–82. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-032713-120257>
- Trefny, M. P., Kaiser, M., Stanczak, M. A., Herzig, P., Savic, S., Wiese, M., Lardinois, D., Läubli, H., Uhlenbrock, F., & Zippelius, A. (2020). PD-1+ natural killer cells in human non-small cell lung cancer can be activated by PD-1/PD-L1 blockade. *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII*, 69(8), 1505–1517. <https://doi.org/10.1007/S00262-020-02558-Z>
- Triebel, F., Jitsukawa, S., Baixeras, E., Roman-Roman, S., Genevee, C., Viegas-Pequignot, E., & Hercend, T. (1990). LAG-3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4. *The Journal of Experimental Medicine*, 171(5), 1393–1405. <https://doi.org/10.1084/JEM.171.5.1393>
- Trinchieri, G. (2003). Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology* 2003 3:2, 3(2), 133–146. <https://doi.org/10.1038/nri1001>
- Tripp, C. S., Gately, M. K., Hakimi, J., Ling, P., & Unanue, E. R. (1994). Neutralization of IL-12 decreases resistance to *Listeria* in SCID and C.B-17 mice. Reversal by IFN- $\gamma$ . *The Journal of Immunology*, 152(4), 1883–1887. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.152.4.1883>
- Trotta, R., Col, J. D., Yu, J., Ciarlariello, D., Thomas, B., Zhang, X., Jeffrey Allard, I., Wei, M., Mao, H., Byrd, J. C., Perrotti, D., & Caligiuri, M. A. (2008). TGF- $\beta$  Utilizes SMAD3 to Inhibit CD16-Mediated IFN- $\gamma$  Production and Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Human NK Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 181(6), 3784. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.6.3784>
- Truxova, I., Kasikova, L., Salek, C., Hensler, M., Lysak, D., Holicek, P., Bilkova, P., Holubova, M., Chen, X., Mikyskova, R., Reinis, M., Kovar, M., Tomalova, B., Kline, J. P., Galluzzi, L., Spisek, R., & Fucikova, J. (2020). Calreticulin exposure on malignant blasts correlates with improved natural killer cell-mediated cytotoxicity in acute myeloid leukemia patients. *Haematologica*, 105(7), 1868–1878. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2019.223933>

- Tshering, L. F., Luo, F., Russ, S., Szenk, M., Rubel, D., Tutuska, K., Rail, J. G., Balázs, G., Shen, M. M., & Talos, F. (2023). Immune mechanisms shape the clonal landscape during early progression of prostate cancer. *Developmental Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.DEVCEL.2023.04.010>
- Tsuda, H., Komine, M., Tominaga, S. ichi, & Ohtsuki, M. (2017). Identification of the promoter region of human IL-33 responsive to induction by IFN $\gamma$ . *Journal of Dermatological Science*, 85(2), 137–140. <https://doi.org/10.1016/j.JDERMSCI.2016.11.002>
- Tung, S. L., Boardman, D. A., Sen, M., Letizia, M., Peng, Q., Cianci, N., Dioni, L., Carlin, L. M., Lechler, R., Bollati, V., Lombardi, G., & Smyth, L. A. (2018). Regulatory T cell-derived extracellular vesicles modify dendritic cell function. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24531-8>
- Turchinovich, G., Ganter, S., Bärenwaldt, A., & Finke, D. (2018). NKp46 Calibrates Tumoricidal Potential of Type 1 Innate Lymphocytes by Regulating TRAIL Expression. *The Journal of Immunology*, 200(11), 3762–3768. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1701333>
- Turnis, M. E., Sawant, D. V., Szymczak-Workman, A. L., Andrews, L. P., Delgoffe, G. M., Yano, H., Beres, A. J., Vogel, P., Workman, C. J., & Vignali, D. A. A. (2016). Interleukin-35 limits anti-tumor immunity. *Immunity*, 44(2), 316. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2016.01.013>
- Turnquist, H. R., Sumpter, T. L., Tsung, A., Zahorchak, A. F., Nakao, A., Nau, G. J., Liew, F. Y., Geller, D. A., & Thomson, A. W. (2008). IL-1 $\beta$ -Driven ST2L Expression Promotes Maturation Resistance in Rapamycin-Conditioned Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*, 181(1), 62–72. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.181.1.62>
- Uppendahl, L. D., Felices, M., Bendzick, L., Ryan, C., Kodala, B., Hinderlie, P., Boylan, K. L. M., Skubitz, A. P. N., Miller, J. S., & Geller, M. A. (2019). Cytokine-induced memory-like natural killer cells have enhanced function, proliferation, and in vivo expansion against ovarian cancer cells. *Gynecologic Oncology*, 153(1), 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.YGYNO.2019.01.006>
- Urlaub, D., Höfer, K., Müller, M.-L., & Watzl, C. (2017). LFA-1 Activation in NK Cells and Their Subsets: Influence of Receptors, Maturation, and Cytokine Stimulation. *The Journal of Immunology*, 198(5), 1944–1951. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1601004>
- Ushach, I., & Zlotnik, A. (2016). Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage. *Journal of Leukocyte Biology*, 100(3), 481–489. <https://doi.org/10.1189/JLB.3RU0316-144R>
- Vacca, P., Cantoni, C., Prato, C., Fulcheri, E., Moretta, A., Moretta, L., & Mingari, M. C. (2008). Regulatory role of NKp44, NKp46, DNAM-1 and NKG2D receptors in the interaction between NK cells and trophoblast cells. Evidence for divergent functional profiles of decidual versus peripheral NK cells. *International Immunology*, 20(11), 1395–1405. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXN105>
- Vacca, P., Vitale, C., Montaldo, E., Conte, R., Cantoni, C., Fulcheri, E., Darretta, V., Moretta, L., & Mingari, M. C. (2011). CD34<sup>+</sup> hematopoietic precursors are present in human decidua and differentiate into natural killer cells upon interaction with stromal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(6), 2402–2407. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1016257108/SUPPL\\_FILE/PNAS.201016257SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1016257108/SUPPL_FILE/PNAS.201016257SI.PDF)
- Vainchtein, I. D., Chin, G., Cho, F. S., Kelley, K. W., Miller, J. G., Chien, E. C., Liddelov, S. A., Nguyen, P. T., Nakao-Inoue, H., Dorman, L. C., Akil, O., Joshita, S., Barres, B. A., Paz, J. T., Molofsky, A. B., & Molofsky, A. V. (2018). Astrocyte-derived interleukin-33 promotes microglial synapse engulfment and neural circuit development. *Science*, 359(6381), 1269–1273. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAL3589/SUPPL\\_FILE/AAL3589\\_VAINCHTEIN\\_SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAL3589/SUPPL_FILE/AAL3589_VAINCHTEIN_SM.PDF)
- Vallera, D. A., Felices, M., McElmurry, R., McCullar, V., Zhou, X., Schmohl, J. U., Zhang, B., Lenvik, A. J., Panoskaltis-Mortari, A., Verneris, M. R., Tolar, J., Cooley, S., Weisdorf, D. J., Blazar, B. R., & Miller, J. S. (2016). IL15 Trispecific Killer Engagers (TriKE) Make Natural Killer Cells Specific to CD33<sup>+</sup> Targets While Also Inducing Persistence, In Vivo Expansion, and Enhanced Function. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 22(14), 3440–3450. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-2710>
- van de Veerdonk, F. L., & Netea, M. G. (2013). New Insights in the Immunobiology of IL-1 Family Members. *Frontiers in Immunology*, 4(JUL). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2013.00167>
- van de Wetering, D., de Paus, R. A., van Dissel, J. T., & van de Vosse, E. (2009). IL-23 modulates CD56<sup>+</sup>/CD3<sup>-</sup> NK Cell and CD56<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> NK-like T Cell function differentially from IL-12. *International Immunology*, 21(2), 145–153. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXN132>
- van den Boorn, J. G., Jakobs, C., Hagen, C., Renn, M., Luiten, R. M., Melief, C. J. M., Tüting, T., Garbi, N., Hartmann, G., & Hornung, V. (2016). Inflammasome-Dependent Induction of Adaptive NK Cell Memory. *Immunity*, 44(6), 1406–1421. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.008>
- Van Domselaar, R., De Poot, S. A. H., Remmerswaal, E. B. M., Lai, K. W., Ten Berge, I. J. M., & Bovenschen, N. (2013). Granzyme M targets host cell hnRNP K that is essential for human cytomegalovirus replication. *Cell Death and Differentiation*, 20(3), 419–429. <https://doi.org/10.1038/CDD.2012.132>
- Van Hove, H., Martens, L., Scheyltjens, I., De Vlaminck, K., Pombo Antunes, A. R., De Prijk, S., Vandamme, N., De Schepper, S., Van Isterdael, G., Scott, C. L., Aerts, J., Berx, G., Boeckxstaens, G. E., Vandenbroucke, R. E., Vereecke, L., Moechars, D., Guillailliams, M., Van Ginderachter, J. A., Saeys, Y., & Movahedi, K. (2019). A single-cell atlas of mouse brain macrophages reveals unique transcriptional identities shaped by ontogeny and tissue environment. *Nature Neuroscience* 2019 22:6, 22(6), 1021–1035. <https://doi.org/10.1038/S41593-019-0393-4>
- Vance, R. E., Jamieson, A. M., & Raulet, D. H. (1999). Recognition of the Class Ib Molecule Qa-1b by Putative Activating Receptors Cd94/Nkg2c and Cd94/Nkg2e on Mouse Natural Killer Cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 190(12), 1801. <https://doi.org/10.1084/JEM.190.12.1801>
- Vance, R. E., Kraft, J. R., Altman, J. D., Jensen, P. E., & Raulet, D. H. (1998). Mouse CD94/NKG2A Is a Natural Killer Cell Receptor for the Nonclassical Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I Molecule Qa-1b. *The Journal of Experimental Medicine*, 188(10), 1841. <https://doi.org/10.1084/JEM.188.10.1841>
- Vari, F., Arpon, D., Keane, C., Hertzberg, M. S., Talaulikar, D., Jain, S., Cui, Q., Han, E., Tobin, J., Bird, R., Cross, D., Hernandez, A., Gould, C., Birch, S., & Gandhi, M. K. (2018). Immune evasion via PD-1/PD-L1 on NK cells and monocyte/macrophages is more prominent in Hodgkin lymphoma than DLBCL. *Blood*, 131(16), 1809–1819. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2017-07-796342>



- Vasanthakumar, A., Moro, K., Xin, A., Liao, Y., Gloury, R., Kawamoto, S., Fagarasan, S., Mielke, L. A., Afshar-Sterle, S., Masters, S. L., Nakae, S., Saito, H., Wentworth, J. M., Li, P., Liao, W., Leonard, W. J., Smyth, G. K., Shi, W., Nutt, S. L., ... Kallies, A. (2015). The transcriptional regulators IRF4, BATF and IL-33 orchestrate development and maintenance of adipose tissue-resident regulatory T cells. *Nature Immunology*, 16(3), 276–285. <https://doi.org/10.1038/NI.3085>
- Veneziani, I., Alicata, C., Pelosi, A., Landolina, N., Ricci, B., D’Oria, V., Fagotti, A., Scambia, G., Moretta, L., & Maggi, E. (2022). Toll-like receptor 8 agonists improve NK-cell function primarily targeting CD56brightCD16- subset. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 10(1). <https://doi.org/10.1136/JITC-2021-003385>
- Venstrom, J. M., Pittari, G., Gooley, T. A., Chewning, J. H., Spellman, S., Haagenson, M., Gallagher, M. M., Malkki, M., Petersdorf, E., Dupont, B., & Hsu, K. C. (2012). HLA-C-Dependent Prevention of Leukemia Relapse by Donor Activating KIR2DS1. *The New England Journal of Medicine*, 367(9), 805. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA1200503>
- Vento-Tormo, R., Efremova, M., Botting, R. A., Turco, M. Y., Vento-Tormo, M., Meyer, K. B., Park, J. E., Stephenson, E., Polański, K., Goncalves, A., Gardner, L., Holmqvist, S., Henriksson, J., Zou, A., Sharkey, A. M., Millar, B., Innes, B., Wood, L., Wilbrey-Clark, A., ... Teichmann, S. A. (2018). Single-cell reconstruction of the early maternal–fetal interface in humans. *Nature*, 563(7731), 347. <https://doi.org/10.1038/S41586-018-0698-6>
- Verkleij, C. P. M., Frerichs, K. A., Broekmans, M. E. C., Duetz, C., O’Neill, C. A., Bruins, W. S. C., Homan-Weert, P. M., Minnema, M. C., Levin, M.-D., Broijl, A., Bos, G. M. J., Kersten, M. J., Klein, S. K., Shikhagaie, M. M., Casneuf, T., Abraham, Y., Smets, T., Vanhoof, G., Cortes-Selva, D., ... van de Donk, N. W. C. J. (2023). NK Cell Phenotype Is Associated With Response and Resistance to Daratumumab in Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. *HemaSphere*, 7(5), e881. <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000881>
- Verma, M., Michalec, L., Sripada, A., McKay, J., Sirohi, K., Verma, D., Sheth, D., Martin, R., Dyjack, N., Seibold, M. A., Knapp, J. R., Tu, T. H., O’Connor, B. P., Gorska, M. M., & Alam, R. (2021). The molecular and epigenetic mechanisms of innate lymphoid cell (ILC) memory and its relevance for asthma. *The Journal of Experimental Medicine*, 218(7). <https://doi.org/10.1084/JEM.20201354>
- Verreck, F. A. W., De Boer, T., Langenberg, D. M. L., Hoeve, M. A., Kramer, M., Vaisberg, E., Kastelein, R., Kolk, A., De Waal-Malefyt, R., & Ottenhoff, T. H. M. (2004). Human IL-23-producing type 1 macrophages promote but IL-10-producing type 2 macrophages subvert immunity to (myco)bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(13), 4560–4565. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0400983101/ASSET/A98A6FCD-CCCE-4BB5-B200-AB354BD75132/ASSETS/GRAPHIC/ZPQ0130443580006.JPG>
- Vesely, M. D., & Schreiber, R. D. (2013). Cancer immunoediting: antigens, mechanisms, and implications to cancer immunotherapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1284(1), 1–5. <https://doi.org/10.1111/NYAS.12105>
- Vey, N., Dumas, P.-Y., Recher, C., Gastaud, L., Lioure, B., Bulabois, C.-E., Pautas, C., Marolleau, J.-P., Leprêtre, S., Raffoux, E., Thomas, X., Hicheri, Y., Bonmati, C., Quesnel, B., Rousselot, P., Castaigne, S., Jourdan, E., Malfuson, J. V., Guillerme, G., ... Dombret, H. (2017). Randomized Phase 2 Trial of Lirilumab (anti-KIR monoclonal antibody, mAb) As Maintenance Treatment in Elderly Patients (pts) with Acute Myeloid Leukemia (AML): Results of the Effikir Trial. *Blood*, 130(Supplement 1), 889–889. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V130.SUPPL.1.889.889>
- Viaud, S., Terme, M., Flament, C., Taieb, J., André, F., Novault, S., Escudier, B., Robert, C., Caillat-Zucman, S., Tursz, T., Zitvogel, L., & Chaput, N. (2009). Dendritic cell-derived exosomes promote natural killer cell activation and proliferation: a role for NKG2D ligands and IL-15Ralpha. *PLoS One*, 4(3). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0004942>
- Viel, S., Marçais, A., Guimaraes, F. S. F., Loftus, R., Rabilloud, J., Grau, M., Degouve, S., Djebali, S., Sanlaville, A., Charrier, E., Bienvenu, J., Marie, J. C., Caux, C., Marvel, J., Town, L., Huntington, N. D., Bartholin, L., Finlay, D., Smyth, M. J., & Walzer, T. (2016). TGF-β inhibits the activation and functions of NK cells by repressing the mTOR pathway. *Science Signaling*, 9(415). <https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAD1884>
- Vietzen, H., Zoufaly, A., Traugott, M., Aberle, J., Aberle, S. W., & Puchhammer-Stöckl, E. (2021). Deletion of the NKG2C receptor encoding KLRC2 gene and HLA-E variants are risk factors for severe COVID-19. *Genetics in Medicine* 2021 23:5, 23(5), 963–967. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-01077-7>
- Vignali, D. A. A., & Kuchroo, V. K. (2012). IL-12 family cytokines: immunological playmakers. *Nature Immunology*, 13(8), 722–728. <https://doi.org/10.1038/NI.2366>
- Villani, A. C., Satija, R., Reynolds, G., Sarkizova, S., Shekhar, K., Fletcher, J., Griesbeck, M., Butler, A., Zheng, S., Lazo, S., Jardine, L., Dixon, D., Stephenson, E., Nilsson, E., Grundberg, I., McDonald, D., Filby, A., Li, W., De Jager, P. L., ... Hacohen, N. (2017). Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors. *Science*, 356(6335). [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAH4573/SUPPL\\_FILE/AAH4573\\_VILLANI\\_SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAH4573/SUPPL_FILE/AAH4573_VILLANI_SM.PDF)
- Villarino, A., Hibbert, L., Lieberman, L., Wilson, E., Mak, T., Yoshida, H., Kastelein, R. A., Saris, C., & Hunter, C. A. (2003). The IL-27R (WSX-1) Is Required to Suppress T Cell Hyperactivity during Infection. *Immunity*, 19(5), 645–655. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00300-5)
- Villarreal, D. O., Wise, M. C., Walters, J. N., Reuschel, E. L., Choi, M. J., Obeng-Adjei, N., Yan, J., Morrow, M. P., & Weiner, D. B. (2014). Alarmin IL-33 Acts as an immunoadjuvant to enhance antigen-specific tumor immunity. *Cancer Research*, 74(6), 1789–1800. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2729/651332/AM/ALARMIN-IL-33-ACTS-AS-AN-IMMUNOADJUVANT-TO-ENHANCE>
- Vitale, M., Bottino, C., Sivori, S., Sanseverino, L., Castriconi, R., Marcenaro, E., Augugliaro, R., Moretta, L., & Moretta, A. (1998). NKp44, a novel triggering surface molecule specifically expressed by activated natural killer cells, is involved in non-major histocompatibility complex-restricted tumor cell lysis. *The Journal of Experimental Medicine*, 187(12), 2065–2072. <https://doi.org/10.1084/JEM.187.12.2065>
- Vitale, M., Della Chiesa, M., Carlomagno, S., Pende, D., Aricò, M., Moretta, L., & Moretta, A. (2005). NK-dependent DC maturation is mediated by TNFalpha and IFNgamma released upon engagement of the NKp30 triggering receptor. *Blood*, 106(2), 566–571. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2004-10-4035>
- Vivier, E., Artis, D., Colonna, M., Diefenbach, A., Di Santo, J. P., Eberl, G., Koyasu, S., Locksley, R. M., McKenzie, A. N. J., Mebius, R. E., Powrie, F., & Spits, H. (2018). Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*, 174(5), 1054–1066. <https://doi.org/10.1016/j.CELL.2018.07.017>

- Vivier, E., Morin, P., O'Brien, C., Druker, B., Schlossman, S. F., & Anderson, P. (1991). Tyrosine phosphorylation of the Fc gamma RIII(CD16): zeta complex in human natural killer cells. Induction by antibody-dependent cytotoxicity but not by natural killing. *The Journal of Immunology*, 146(1), 206–210. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.146.1.206>
- Vivier, E., Nunès, J. A., & Vély, F. (2004). Natural Killer Cell Signaling Pathways. *Science*, 306(5701), 1517–1519. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1103478>
- Vivier, E., Raulet, D. H., Moretta, A., Caligiuri, M. A., Zitvogel, L., Lanier, L. L., Yokoyama, W. M., & Ugolini, S. (2011). Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science (New York, N.Y.)*, 331(6013), 44–49. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1198687>
- Vivier, E., Tomasello, E., Baratin, M., Walzer, T., & Ugolini, S. (2008). Functions of natural killer cells. In *Nature Immunology* (Vol. 9, Issue 5). <https://doi.org/10.1038/ni1582>
- Voehringer, D., Koschella, M., & Pircher, H. (2002). Lack of proliferative capacity of human effector and memory T cells expressing killer cell lectinlike receptor G1 (KLRG1). *Blood*, 100(10), 3698–3702. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2002-02-0657>
- von Moltke, J., O'Leary, C. E., Barrett, N. A., Kanaoka, Y., Austen, K. F., & Locksley, R. M. (2017). Leukotrienes provide an NFAT-dependent signal that synergizes with IL-33 to activate ILC2s. *The Journal of Experimental Medicine*, 214(1), 27–37. <https://doi.org/10.1084/JEM.20161274>
- Vonarbourg, C., Mortha, A., Bui, V. L., Hernandez, P. P., Kiss, E. A., Hoyler, T., Flach, M., Bengsch, B., Thimme, R., Hölscher, C., Hönig, M., Pannicke, U., Schwarz, K., Ware, C. F., Finke, D., & Dieffenbach, A. (2010). Regulated expression of nuclear receptor RORγt confers distinct functional fates to NK cell receptor-expressing RORγt(+) innate lymphocytes. *Immunity*, 33(5), 736–751. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2010.10.017>
- Voskoboinik, I., Smyth, M. J., & Trapani, J. A. (2006). Perforin-mediated target-cell death and immune homeostasis. *Nature Reviews Immunology* 2006 6:12, 6(12), 940–952. <https://doi.org/10.1038/nri1983>
- Voss, S. D., Sondel, P. M., & Robb, R. J. (1992). Characterization of the interleukin 2 receptors (IL-2R) expressed on human natural killer cells activated in vivo by IL-2: association of the p64 IL-2R gamma chain with the IL-2R beta chain in functional intermediate-affinity IL-2R. *The Journal of Experimental Medicine*, 176(2), 531–541. <https://doi.org/10.1084/JEM.176.2.531>
- Vosshenrich, C. A. J., Ranson, T., Samson, S. I., Corcuff, E., Colucci, F., Rosmaraki, E. E., & Di Santo, J. P. (2005). Roles for common cytokine receptor gamma-chain-dependent cytokines in the generation, differentiation, and maturation of NK cell precursors and peripheral NK cells in vivo. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 174(3), 1213–1221. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.174.3.1213>
- Vuletić, A. M., Konjević, G. M., Larsen, A. K., Babović, N. L., Jurišić, V. B., Krivokuća, A., & Martinović, K. M. M. (2020). Interleukin-4-induced natural killer cell antitumor activity in metastatic melanoma patients. *European Cytokine Network*, 31(3), 104–112. <https://doi.org/10.1684/ECN.2020.0449/METRICS>
- Vyas, M., Requesens, M., Nguyen, T. H., Peigney, D., Azin, M., & Demehri, S. (2023). Natural killer cells suppress cancer metastasis by eliminating circulating cancer cells. *Frontiers in Immunology*, 13, 1098445. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.1098445/BIBTEX>
- Waddell, A., Vallance, J. E., Fox, S., & Rosen, M. J. (2021). IL-33 is produced by colon fibroblasts and differentially regulated in acute and chronic murine colitis. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89119-1>
- Wagner, J. A., Rosario, M., Romee, R., Berrien-Elliott, M. M., Schneider, S. E., Leong, J. W., Sullivan, R. P., Jewell, B. A., Becker-Hapak, M., Schappe, T., Abdel-Latif, S., Ireland, A. R., Jaishankar, D., King, J. A., Vij, R., Clement, D., Goodridge, J., Malmberg, K. J., Wong, H. C., & Fehniger, T. A. (2017). CD56bright NK cells exhibit potent antitumor responses following IL-15 priming. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(11), 4042. <https://doi.org/10.1172/JCI90387>
- Wagner, J. A., Wong, P., Schappe, T., Berrien-Elliott, M. M., Cubitt, C., Jaeger, N., Lee, M., Keppel, C. R., Marin, N. D., Foltz, J. A., Marsala, L., Neal, C. C., Sullivan, R. P., Schneider, S. E., Keppel, M. P., Saucier, N., Cooper, M. A., & Fehniger, T. A. (2020). Stage-Specific Requirement for Eomes in Mature NK Cell Homeostasis and Cytotoxicity. *Cell Reports*, 31(9). <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.107720>
- Wagner, M., Ealey, K. N., Tetsu, H., Kuniwa, T., Motomura, Y., Moro, K., & Koyasu, S. (2020). Tumor-Derived Lactic Acid Contributes to the Paucity of Intratumoral ILC2s. *Cell Reports*, 30(8), 2743-2757.e5. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.01.103>
- Wagtman, N., Rajagopalan, S., Winter, C. C., Peruui, M., & Long, E. O. (1995). Killer cell inhibitory receptors specific for HLA-C and HLA-B identified by direct binding and by functional transfer. *Immunity*, 3(6), 801–809. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90069-1](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90069-1)
- Walch, M., Dotiwala, F., Mulik, S., Thiery, J., Kirchhausen, T., Clayberger, C., Krensky, A. M., Martinvalet, D., & Lieberman, J. (2014). Cytotoxic cells kill intracellular bacteria through Granulysin-mediated delivery of Granzymes. *Cell*, 157(6), 1309. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.03.062>
- Waldhauer, I., Goehlsdorf, D., Gieseke, F., Weinschenk, T., Wittenbrink, M., Ludwig, A., Stevanovic, S., Rammensee, H. G., & Steinle, A. (2008). Tumor-associated MICA is shed by ADAM proteases. *Cancer Research*, 68(15), 6368–6376. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-6768>
- Walker, C., Checkel, J., Cammisuli, S., Leibson, P. J., & Gleich, G. J. (1998). IL-5 Production by NK Cells Contributes to Eosinophil Infiltration in a Mouse Model of Allergic Inflammation. *The Journal of Immunology*, 161(4), 1962–1969. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.161.4.1962>
- Walzer, T., Bléry, M., Chaix, J., Fuseri, N., Chasson, L., Robbins, S. H., Jaeger, S., André, P., Gauthier, L., Daniel, L., Chemin, K., Morel, Y., Dalod, M., Imbert, J., Pierres, M., Moretta, A., Romagné, F., & Vivier, E. (2007). Identification, activation, and selective in vivo ablation of mouse NK cells via NKp46. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(9), 3384–3389. [https://doi.org/10.1073/PNAS.0609692104/SUPPL\\_FILE/09692FIG12.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.0609692104/SUPPL_FILE/09692FIG12.PDF)
- Walzer, T., Dalod, M., Robbins, S. H., Zitvogel, L., & Vivier, E. (2005). Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force." *Blood*, 106(7), 2252–2258. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-03-1154>
- Wan, H., Versnel, M. A., Leijten, L. M. E., van Helden-Meeuwse, C. G., Fekkes, D., Leenen, P. J. M., Khan, N. A., Benner, R., & Kiekens, R. C. M. (2008). Chorionic gonadotropin induces dendritic cells to express a tolerogenic phenotype. *Journal of Leukocyte Biology*, 83(4), 894–901. <https://doi.org/10.1189/JLB.0407258>

- Wan, J., Wu, Y., Huang, L., Tian, Y., Ji, X., Abdelaziz, M. H., Cai, W., Dineshkumar, K., Lei, Y., Yao, S., Sun, C., Su, Z., Wang, S., & Xu, H. (2021). ILC2-derived IL-9 inhibits colorectal cancer progression by activating CD8<sup>+</sup> T cells. *Cancer Letters*, 502, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.01.002>
- Wang, C., Chen, Z., Bu, X., Han, Y., Shan, S., Ren, T., & Song, W. (2016). IL-33 signaling fuels outgrowth and metastasis of human lung cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 479(3), 461–468. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.09.081>
- Wang, D., Sun, Z., Zhu, X., Zheng, X., Zhou, Y., Lu, Y., Yan, P., Wang, H., Liu, H., Jin, J., Zhu, H., Sun, R., Wang, Y., Fu, B., Tian, Z., & Wei, H. (2022). GARP-mediated active TGF- $\beta$ 1 induces bone marrow NK cell dysfunction in AML patients with early relapse post-allo-HSCT. *Blood*, 140(26), 2788–2804. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2022015474>
- Wang, H., Wu, T., Hua, F., Sun, J., Bai, Y., Wang, W., Liu, J., & Zhang, M. (2022). IL-33 Promotes ST2-Dependent Fibroblast Maturation via P38 and TGF- $\beta$  in a Mouse Model of Epidural Fibrosis. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 19(3), 577–588. <https://doi.org/10.1007/S13770-021-00425-1/FIGURES/6>
- Wang, H., Zheng, X., Wei, H., Tian, Z., & Sun, R. (2012). Important role for NKp30 in synapse formation and activation of NK cells. *Immunological Investigations*, 41(4), 367–381. <https://doi.org/10.3109/08820139.2011.632799>
- Wang, J., Sanmamed, M. F., Datar, I., Su, T. T., Ji, L., Sun, J., Chen, L., Chen, Y., Zhu, G., Yin, W., Zheng, L., Zhou, T., Badri, T., Yao, S., Zhu, S., Boto, A., Sznol, M., Melero, I., Vignali, D. A. A., ... Chen, L. (2019). Fibrinogen-like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3. *Cell*, 176(1–2), 334–347.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.11.010>
- Wang, J., Tian, M., Li, W., & Hao, F. (2019). Preventative delivery of IL-35 by *Lactococcus lactis* ameliorates DSS-induced colitis in mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(19), 7931–7941. <https://doi.org/10.1007/S00253-019-10094-9>
- Wang, K., Liu, J., & Li, J. (2018). IL-35-producing B cells in gastric cancer patients. *Medicine*, 97(19). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010710>
- Wang, L., Li, H., Liang, F., Hong, Y., Jiang, S., & Xiao, L. (2014). Examining IL-33 expression in the cervix of HPV-infected patients: a preliminary study comparing IL-33 levels in different stages of disease and analyzing its potential association with IFN- $\gamma$ . *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 31(9), 1–8. <https://doi.org/10.1007/S12032-014-0143-0>
- Wang, L., Zhu, S., Xu, G., Feng, J., Han, T., Zhao, F., She, Y. L., Liu, S., Ye, L., & Zhu, Y. (2016). Gene Expression and Antiviral Activity of Interleukin-35 in Response to Influenza A Virus Infection. *The Journal of Biological Chemistry*, 291(32), 16863. <https://doi.org/10.1074/JBC.M115.693101>
- Wang, M., Wang, T., Liu, S., Yoshida, D., & Teramoto, A. (2003). The expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human gliomas of different pathological grades. *Brain Tumor Pathology*, 20(2), 65–72. <https://doi.org/10.1007/BF02483449/METRICS>
- Wang, R. X., Yu, C. R., Dambuza, I. M., Mahdi, R. M., Dolinska, M. B., Sergeev, Y. V., Wingfield, P. T., Kim, S. H., & Egwuagu, C. E. (2014). Interleukin-35 Induces Regulatory B Cells that Suppress CNS Autoimmune Disease. *Nature Medicine*, 20(6), 633. <https://doi.org/10.1038/NM.3554>
- Wang, R., Jaw, J. J., Stutzman, N. C., Zou, Z., & Sun, P. D. (2012). Natural killer cell-produced IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  induce target cell cytolysis through up-regulation of ICAM-1. *Journal of Leukocyte Biology*, 91(2), 299–309. <https://doi.org/10.1189/JLB.0611308>
- Wang, S. W., Liu, S. C., Sun, H. L., Huang, T. Y., Chan, C. H., Yang, C. Y., Yeh, H. I., Huang, Y. L., Chou, W. Y., Lin, Y. M., & Tang, C. H. (2015). CCL5/CCR5 axis induces vascular endothelial growth factor-mediated tumor angiogenesis in human osteosarcoma microenvironment. *Carcinogenesis*, 36(1), 104–114. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGU218>
- Wang, S., Wu, Q., Chen, T., Su, R., Pan, C., Qian, J., Huang, H., Yin, S., Xie, H., Zhou, L., & Zheng, S. (2022). Blocking CD47 promotes antitumor immunity through CD103<sup>+</sup> dendritic cell–NK cell axis in murine hepatocellular carcinoma model. *Journal of Hepatology*, 77(2), 467–478. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.03.011>
- Wang, T., Li, P., Wan, T., Tu, B., Li, J., & Huang, F. (2021). TIGIT/PVR and LncRNA ANRIL dual-targetable PAMAM polymeric nanoparticles efficiently inhibited the hepatoma carcinoma by combination of immunotherapy and gene therapy. *Journal of Drug Targeting*, 29(7), 783–791. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2021.1879088>
- Wang, W., Guo, H., Geng, J., Zheng, X., Wei, H., Sun, R., & Tian, Z. (2014). Tumor-released Galectin-3, a Soluble Inhibitory Ligand of Human NKp30, Plays an Important Role in Tumor Escape from NK Cell Attack. *The Journal of Biological Chemistry*, 289(48), 33311. <https://doi.org/10.1074/JBC.M114.603464>
- Wang, X., Peng, H., Cong, J., Wang, X., Lian, Z., Wei, H., Sun, R., & Tian, Z. (2018). Memory formation and long-term maintenance of IL-7R $\alpha$ <sup>+</sup> ILC1s via a lymph node–liver axis. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-07405-5>
- Wang, X., Zhao, X., Feng, C., Weinstein, A., Xia, R., Wen, W., Lv, Q., Zuo, S., Tang, P., Yang, X., Chen, X., Wang, H., Zang, S., Stollings, L., Denning, T. L., Jiang, J., Fan, J., Zhang, G., Zhang, X., ... Lu, B. (2015). IL-36 $\gamma$  Transforms the Tumor Microenvironment and Promotes Type 1 Lymphocyte-Mediated Antitumor Immune Responses. *Cancer Cell*, 28(3), 296–306. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.07.014>
- Wang, Y., Chaudhri, G., Jackson, R. J., & Karupiah, G. (2009). IL-12p40 and IL-18 play pivotal roles in orchestrating the cell-mediated immune response to a poxvirus infection. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 183(5), 3324–3331. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.0803985>
- Wang, Y., Chu, J., Yi, P., Dong, W., Saultz, J., Wang, Y., Wang, H., Scoville, S., Zhang, J., Wu, L. C., Deng, Y., He, X., Mundy-Bosse, B., Freud, A. G., Wang, L. S., Caligiuri, M. A., & Yu, J. (2018). SMAD4 promotes TGF- $\beta$ -independent NK cell homeostasis and maturation and antitumor immunity. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(11), 5123. <https://doi.org/10.1172/JCI121227>
- Wang, Y., Li, T., Chen, Y., Wei, H., Sun, R., & Tian, Z. (2017). Involvement of NK Cells in IL-28B-Mediated Immunity against Influenza Virus Infection. *The Journal of Immunology*, 199, 1012–1020. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601430>
- Wang, Z., Guan, D., Huo, J., Biswas, S. K., Huang, Y., Yang, Y., Xu, S., & Lam, K. P. (2021). IL-10 Enhances Human Natural Killer Cell Effector Functions via Metabolic Reprogramming Regulated by mTORC1 Signaling. *Frontiers in Immunology*, 12, 619195. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.619195/FULL>

- Wang, Z., Hong, J., Sun, W., Xu, G., Li, N., Chen, X., Liu, A., Xu, L., Sun, B., & Zhang, J. Z. (2006). Role of IFN- $\gamma$  in induction of Foxp3 and conversion of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T cells to CD4<sup>+</sup> Tregs. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(9), 2434–2441. <https://doi.org/10.1172/JCI25826>
- Wang, Z., Jiang, R., Li, Q., Wang, H., Tao, Q., & Zhai, Z. (2021). Elevated M-MDSCs in Circulation Are Indicative of Poor Prognosis in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients. *Journal of Clinical Medicine*, 10(8), 1768. <https://doi.org/10.3390/JCM10081768>
- Wang, Z., Liu, J.-Q., Liu, Z., Shen, R., Zhang, G., Xu, J., Basu, S., Feng, Y., & Bai, X.-F. (2013). Tumor-derived IL-35 promotes tumor growth by enhancing myeloid cell accumulation and angiogenesis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 190(5), 2415. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1202535>
- Wang, Z., Pan, B., Qiu, J., Zhang, X., Ke, X., Shen, S., Wu, X., Yao, Y., & Tang, N. (2023a). SUMOylated IL-33 in the nucleus stabilizes the transcription factor IRF1 in hepatocellular carcinoma cells to promote immune escape. *Science Signaling*, 16(776). <https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.ABQ3362>
- Warren, H. S., Kinnear, B. F., Phillips, J. H., & Lanier, L. L. (1995). Production of IL-5 by human NK cells and regulation of IL-5 secretion by IL-4, IL-10, and IL-12. *The Journal of Immunology*, 154(10), 5144–5152. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.154.10.5144>
- Wei, X., Leung, B. P., Niedbala, W., Piedrafita, D., Feng, G., Sweet, M., Dobbie, L., Smith, A. J. H., & Liew, F. Y. (1999). Altered Immune Responses and Susceptibility to *Leishmania major* and *Staphylococcus aureus* Infection in IL-18-Deficient Mice. *The Journal of Immunology*, 163(5), 2821–2828. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.163.5.2821>
- Wei, X., Zhang, J., Gu, Q., Huang, M., Zhang, W., Guo, J., & Zhou, X. (2017). Reciprocal Expression of IL-35 and IL-10 Defines Two Distinct Effector Treg Subsets that Are Required for Maintenance of Immune Tolerance. *Cell Reports*, 21(7), 1853–1869. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.10.090>
- Wei, Y., Ren, X., Galbo, P. M., Moerdler, S., Wang, H., Alejandro Sica, R., Etemad-Gilbertson, B., Shi, L., Zhu, L., Tang, X., Lin, Q., Peng, M., Guan, F., Zheng, D., Chinai, J. M., & Zang, X. (2021). KIR3DL3-HHLA2 is a human immunosuppressive pathway and a therapeutic target. *Science Immunology*, 6(61). <https://doi.org/10.1126/SCIIMMUNOL.ABF9792>
- Weizman, O. El, Adams, N. M., Schuster, I. S., Krishna, C., Pritykin, Y., Lau, C., Degli-Esposti, M. A., Leslie, C. S., Sun, J. C., & O'Sullivan, T. E. (2017). ILC1 confer early host protection at initial sites of viral infection. *Cell*, 171(4), 795. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.052>
- Weizman, O. El, Song, E., Adams, N. M., Hildreth, A. D., Riggan, L., Krishna, C., Aguilar, O. A., Leslie, C. S., Carlyle, J. R., Sun, J. C., & O'Sullivan, T. E. (2019). Mouse cytomegalovirus-experienced ILC1s acquire a memory response dependent on the viral glycoprotein m12. *Nature Immunology*, 20(8), 1004–1011. <https://doi.org/10.1038/S41590-019-0430-1>
- Welte, S., Kuttruff, S., Waldhauer, I., & Steinle, A. (2006). Mutual activation of natural killer cells and monocytes mediated by NKp80-AICL interaction. *Nature Immunology*, 7(12), 1334–1342. <https://doi.org/10.1038/NI1402>
- Wendel, M., Galani, I. E., Suri-Payer, E., & Cerwenka, A. (2008). Natural killer cell accumulation in tumors is dependent on IFN-gamma and CXCR3 ligands. *Cancer Research*, 68(20), 8437–8445. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1440>
- Wendt, K., Wilk, E., Buyny, S., Schmidt, R. E., & Jacobs, R. (2007). Interleukin-21 differentially affects human natural killer cell subsets. *Immunology*, 122(4), 486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02675.x>
- Wiggins, K. A., Parry, A. J., Cassidy, L. D., Humphry, M., Webster, S. J., Goodall, J. C., Narita, M., & Clarke, M. C. H. (2019). IL-1 $\alpha$  cleavage by inflammatory caspases of the noncanonical inflammasome controls the senescence-associated secretory phenotype. *Aging Cell*, 18(3), e12946. <https://doi.org/10.1111/ACEL.12946>
- Wijaya, R. S., Read, S. A., Truong, N. R., Han, S., Chen, D., Shahidipour, H., Fewings, N. L., Schibeci, S., Azardaryany, M. K., Parnell, G. P., Booth, D., Van Der Poorten, D., Lin, R., George, J., Douglas, M. W., & Ahlenstiel, G. (2021). HBV vaccination and HBV infection induces HBV-specific natural killer cell memory. *Gut*, 70(2), 357–369. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2019-319252>
- Wilson, E. B., El-Jawhari, J. J., Neilson, A. L., Hall, G. D., Melcher, A. A., Meade, J. L., & Cook, G. P. (2011). Human tumour immune evasion via TGF- $\beta$  blocks NK cell activation but not survival allowing therapeutic restoration of anti-tumour activity. *PLoS One*, 6(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0022842>
- Wingert, S., Reusch, U., Knackmuss, S., Kluge, M., Damrat, M., Pahl, J., Schniegler-Mattox, U., Mueller, T., Fucek, I., Ellwanger, K., Tesar, M., Haneke, T., Koch, J., Treder, M., Fischer, W., & Rajkovic, E. (2021). Preclinical evaluation of AFM24, a novel CD16A-specific innate immune cell engager targeting EGFR-positive tumors. <https://doi.org/10.1080/19420862.2021.1950264>
- Wirtz, S., Billmeier, U., McHedlidze, T., Blumberg, R. S., & Neurath, M. F. (2011). Interleukin-35 Mediates Mucosal Immune Responses That Protect Against T-Cell-Dependent Colitis. *Gastroenterology*, 141(5), 1875. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2011.07.040>
- Wolf, N. K., Kissiov, D. U., & Raulat, D. H. (2022). Roles of natural killer cells in immunity to cancer, and applications to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology* 2022 23:2, 23(2), 90–105. <https://doi.org/10.1038/S41577-022-00732-1>
- Wong, P., Foltz, J. A., Chang, L., Neal, C. C., Yao, T., Cubitt, C. C., Tran, J., Kersting-Schadek, S., Palakurty, S., Jaeger, N., Russler-Germain, D. A., Marin, N. D., Gang, M., Wagner, J. A., Zhou, A. Y., Jacobs, M. T., Foster, M., Schappe, T., Marsala, L., ... Fehniger, T. A. (2023). T-BET and EOMES sustain mature human NK cell identity and antitumor function. *The Journal of Clinical Investigation*, 133(13). <https://doi.org/10.1172/JCI162530>
- Wood, I. S., Wang, B., & Trayhurn, P. (2009). IL-33, a recently identified interleukin-1 gene family member, is expressed in human adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 384(1), 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.04.081>
- Worthington, J. J., Kelly, A., Smedley, C., Bauché, D., Campbell, S., Marie, J. C., & Travis, M. A. (2015). Integrin  $\alpha\beta 8$ -Mediated TGF- $\beta$  Activation by Effector Regulatory T Cells Is Essential for Suppression of T-Cell-Mediated Inflammation. *Immunity*, 42(5), 903–915. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.04.012>
- Woznicki, J. A., Saini, N., Flood, P., Rajaram, S., Lee, C. M., Stamou, P., Skowyra, A., Bustamante-Garrido, M., Regazzoni, K., Crawford, N., McDade, S. S., Longley, D. B., Aza-Blanc, P., Shanahan, F., Zulquernain, S. A., McCarthy, J., Melgar, S., McRae, B. L., & Nally, K. (2021). TNF- $\alpha$  synergises with

- IFN- $\gamma$  to induce caspase-8/JAK1/2-STAT1-dependent death of intestinal epithelial cells. *Cell Death & Disease* 2021 12:10, 12(10), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04151-3>
- Wrangle, J. M., Velcheti, V., Patel, M. R., Garrett-Mayer, E., Hill, E. G., Ravenel, J. G., Miller, J. S., Farhad, M., Anderton, K., Lindsey, K., Taffaro-Neskey, M., Sherman, C., Suriano, S., Swiderska-Syn, M., Sion, A., Harris, J., Edwards, A. R., Rytlewski, J. A., Sanders, C. M., ... Rubinstein, M. P. (2018). ALT-803, an IL-15 superagonist, in combination with nivolumab in patients with metastatic non-small cell lung cancer: a non-randomised, open-label, phase 1b trial. *The Lancet Oncology*, 19(5), 694–704. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30148-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30148-7)
- Wu, C.-Y., Gadina, M., Wang, K., O'shea, J., & Seder, R. A. (n.d.). Cytokine regulation of IL-12 receptor 1 $\alpha$  expression: differential effects on human T and NK cells. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(200005\)30:5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(200005)30:5)
- Wu, D., Sanin, D. E., Everts, B., Chen, Q., Qiu, J., Buck, M. D., Patterson, A., Smith, A. M., Chang, C. H., Liu, Z., Artyomov, M. N., Pearce, E. L., Cella, M., & Pearce, E. J. (2016). Type 1 Interferons Induce Changes in Core Metabolism that Are Critical for Immune Function. *Immunity*, 44(6), 1325–1336. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.06.006>
- Wu, J., Gao, F. X., Wang, C., Qin, M., Han, F., Xu, T., Hu, Z., Long, Y., He, X. M., Deng, X., Ren, D. L., & Dai, T. Y. (2019). IL-6 and IL-8 secreted by tumour cells impair the function of NK cells via the STAT3 pathway in oesophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 38(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1310-0/FIGURES/7>
- Wu, J., Gao, F. X., Wang, C., Qin, M., Han, F., Xu, T., Hu, Z., Long, Y., He, X. M., Deng, X., Ren, D. L., & Dai, T. Y. (2019a). IL-6 and IL-8 secreted by tumour cells impair the function of NK cells via the STAT3 pathway in oesophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 38(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S13046-019-1310-0/FIGURES/7>
- Wu, X., Jin, L.-P., Yuan, M.-M., Zhu, Y., Wang, M.-Y., & Li, D.-J. (2005). Human first-trimester trophoblast cells recruit CD56brightCD16- NK cells into decidua by way of expressing and secreting of CXCL12/stromal cell-derived factor 1. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 175(1), 61–68. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.175.1.61>
- Wu, Z., & Xu, Y. (2010). IL-15R alpha-IgG1-Fc enhances IL-2 and IL-15 anti-tumor action through NK and CD8+ T cells proliferation and activation. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2(4), 217–222. <https://doi.org/10.1093/JMCB/MJQ012>
- Wu, Z., & Zhang, H. (2016). Prognostic value of interleukin-33 in cervical cancer patients who underwent radical hysterectomy. *Int J Clin Exp Pathol*, 9(5), 5466–5472. [www.ijcep.com/](http://www.ijcep.com/)
- Xi, H., Katschke, K. J., Li, Y., Truong, T., Lee, W. P., Diehl, L., Rangell, L., Tao, J., Arceo, R., Eastham-Anderson, J., Hackney, J. A., Iglesias, A., Cote-Sierra, J., Elstrott, J., Weimer, R. M., & Van Lookeren Campagne, M. (2016). IL-33 amplifies an innate immune response in the degenerating retina. *The Journal of Experimental Medicine*, 213(2), 189–207. <https://doi.org/10.1084/JEM.20150894>
- Xia, J., Zhao, J., Shang, J., Li, M., Zeng, Z., Zhao, J., Wang, J., Xu, Y., & Xie, J. (2015). Increased IL-33 expression in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*, 308(7), L619–L627. <https://doi.org/10.1152/AJPLUNG.00305.2014>
- Xia, Y., Ohno, T., Nishii, N., Bhingare, A., Tachinami, H., Kashima, Y., Nagai, S., Saito, H., Nakae, S., & Azuma, M. (2019). Endogenous IL-33 exerts CD8+ T cell antitumor responses overcoming pro-tumor effects by regulatory T cells in a colon carcinoma model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 518(2), 331–336. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.058>
- Xiao, H., Gulen, M. F., Qin, J., Yao, J., Bulek, K., Kish, D., Altuntas, C. Z., Wald, D., Ma, C., Zhou, H., Tuohy, V. K., Fairchild, R. L., de la Motte, C., Cua, D., Vallance, B. A., & Li, X. (2007). The Toll-Interleukin-1 Receptor Member SIGIRR Regulates Colonic Epithelial Homeostasis, Inflammation, and Tumorigenesis. *Immunity*, 26(4), 461–475. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.02.012>
- Xiao, L., Cen, D., Gan, H., Sun, Y., Huang, N., Xiong, H., Jin, Q., Su, L., Liu, X., Wang, K., Yan, G., Dong, T., Wu, S., Zhou, P., Zhang, J., Liang, W., Ren, J., Teng, Y., Chen, C., & Xu, X. H. (2019). Adoptive Transfer of NKG2D CAR mRNA-Engineered Natural Killer Cells in Colorectal Cancer Patients. *Molecular Therapy*, 27(6), 1114. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.03.011>
- Xu, F., Liu, J., Liu, D., Liu, B., Wang, M., Hu, Z., Du, X., Tang, L., & He, F. (2014). LSECTin expressed on melanoma cells promotes tumor progression by inhibiting antitumor T-cell responses. *Cancer Research*, 74(13), 3418–3428. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2690>
- Xu, J., Chakrabarti, A. K., Tan, J. L., Ge, L., Gambotto, A., & Vujanovic, N. L. (2007). Essential role of the TNF-TNFR2 cognate interaction in mouse dendritic cell-natural killer cell crosstalk. *Blood*, 109(8), 3333–3341. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-06-026385>
- Xu, J., Guardado, J., Hoffman, R., Xu, H., Namas, R., Vodovotz, Y., Xu, L., Ramadan, M., Brown, J., Turnquist, H. R., & Billiar, T. R. (2017). IL33-mediated ILC2 activation and neutrophil IL5 production in the lung response after severe trauma: A reverse translation study from a human cohort to a mouse trauma model. *PLoS Medicine*, 14(7), e1002365. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PMED.1002365>
- Xu, J., Lamouille, S., & Derynck, R. (2009). TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Research* 2009 19:2, 19(2), 156–172. <https://doi.org/10.1038/cr.2009.5>
- Xu, L., Huang, Y., Tan, L., Yu, W., Chen, D., Lu, C., He, J., Wu, G., Liu, X., & Zhang, Y. (2015). Increased Tim-3 expression in peripheral NK cells predicts a poorer prognosis and Tim-3 blockade improves NK cell-mediated cytotoxicity in human lung adenocarcinoma. *International Immunopharmacology*, 29(2), 635–641. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.09.017>
- Xu, L., Zheng, Y., Wang, J., Xu, Y., Xie, Y., & Yang, Z. P. (2020). IL33 activates CD8+T and NK cells through MyD88 pathway to suppress the lung cancer cell growth in mice. *Biotechnology Letters*, 42(7), 1113–1121. <https://doi.org/10.1007/S10529-020-02815-2/FIGURES/5>
- Xu, W., Cherrier, D. E., Chea, S., Vosshenrich, C., Serafini, N., Petit, M., Liu, P., Golub, R., & Di Santo, J. P. (2019). An Id2RFP-Reporter Mouse Redefines Innate Lymphoid Cell Precursor Potentials. *Immunity*, 50(4), 1054–1068.e3. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.02.022>
- Xu, Y., He, H., Li, C., Shi, Y., Wang, Q., Li, W., & Song, W. (2011). Immunosuppressive effect of progesterone on dendritic cells in mice. *Journal of Reproductive Immunology*, 91(1–2), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2011.06.101>
- Y, O., JS, S., L, T.-S., MA, C., JP, B., BL, C., AM, C., AA, H., & YJ, L. (2016). Erratum: IL-1 is a critical regulator of group 2 innate lymphoid cell function and plasticity. *Nature Immunology*, 17(8), 1005. <https://doi.org/10.1038/NI0816-1005A>

- Yamada, D., Rizvi, S., Razumilava, N., Bronk, S. F., Davila, J. I., Champion, M. D., Borad, M. J., Bezerra, J. A., Chen, X., & Gores, G. J. (2015). IL-33 facilitates oncogene-induced cholangiocarcinoma in mice by an interleukin-6-sensitive mechanism. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 61(5), 1627–1642. <https://doi.org/10.1002/HEP.27687>
- Yamamoto, K., Shibata, F., Miyasaka, N., & Miura, O. (2002). The human perforin gene is a direct target of STAT4 activated by IL-12 in NK cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 297(5), 1245–1252. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)02378-1](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02378-1)
- Yan, A., Zhang, Y., Wang, X., Cui, Y., & Tan, W. (2022). Interleukin 35 regulates interleukin 17 expression and T helper 17 in patients with proliferative diabetic retinopathy. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2080367>, 13(5), 13293–13299.
- Yan, X., Chen, D., Ma, X., Wang, Y., Guo, Y., Wei, J., Tong, C., Zhu, Q., Lu, Y., Yu, Y., Wu, Z., & Han, W. (2022). CD58 loss in tumor cells confers functional impairment of CAR T cells. *Blood Advances*, 6(22), 5844–5856. <https://doi.org/10.1182/BLOODADVANCES.2022007891>
- Yanamandra, A. K., Zhang, J., Montalvo, G., Biedenweg, D., Hoth, M., Lautenschläger, F., Otto, O., Campo, A. del, & Qu, B. (2023). PIEZO1-mediated mechanosensing governs NK cell killing efficiency in 3D. *BioRxiv*, 2023.03.27.534435. <https://doi.org/10.1101/2023.03.27.534435>
- Yang, C., Siebert, J. R., Burns, R., Zheng, Y., Mei, A., Bonacci, B., Wang, D., Urrutia, R. A., Riese, M. J., Rao, S., Carlson, K. S., Thakar, M. S., & Malarkannan, S. (2020). Single-cell transcriptome reveals the novel role of t-bet in suppressing the immature NK gene signature. *ELife*, 9, 1–23. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.51339>
- Yang, J., Eresen, A., Scotti, A., Cai, K., & Zhang, Z. (2021). Combination of NK-based immunotherapy and sorafenib against hepatocellular carcinoma. *American Journal of Cancer Research*, 11(2), 337. <https://doi.org/10.12690/AJCR.11.2.337>
- Yang, L., Liu, S., Zhang, Q., Jia, S., Qiu, C., & Jin, Z. (2022). Overexpression of ascitic interleukin-35 induces CD8+ T cell exhaustion in liver cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *International Immunopharmacology*, 108, 108729. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108729>
- Yang, Q., Li, G., Zhu, Y., Liu, L., Chen, E., Turnquist, H., Zhang, X., Finn, O. J., Chen, X., & Lu, B. (2011). IL-33 synergizes with TCR and IL-12 signaling to promote the effector function of CD8+ T cells. *European Journal of Immunology*, 41(11), 3351–3360. <https://doi.org/10.1002/EJL.201141629>
- Yang, Y., Andersson, P., Hosaka, K., Zhang, Y., Cao, R., Iwamoto, H., Yang, X., Nakamura, M., Wang, J., Zhuang, R., Morikawa, H., Xue, Y., Braun, H., Beyaert, R., Samani, N., Nakae, S., Hams, E., Dissing, S., Fallon, P. G., ... Cao, Y. (2016). The PDGF-BB-SOX7 axis-modulated IL-33 in pericytes and stromal cells promotes metastasis through tumour-associated macrophages. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS11385>
- Yang, Y., Wang, J., Bin, Li, Y. M., Zhao, Y., Wang, R., Wu, Q., Zheng, R. S., & Ou, Y. R. (2016). Role of IL-33 expression in oncogenesis and development of human hepatocellular carcinoma. *Oncology Letters*, 12(1), 429. <https://doi.org/10.3892/OL.2016.4622>
- Yang, Z., Mu, Z., Dabovic, B., Jurukovski, V., Yu, D., Sung, J., Xiong, X., & Munger, J. S. (2007). Absence of integrin-mediated TGFβ1 activation in vivo recapitulates the phenotype of TGFβ1-null mice. *The Journal of Cell Biology*, 176(6), 787. <https://doi.org/10.1083/JCB.200611044>
- Yasuda, K., Muto, T., Kawagoe, T., Matsumoto, M., Sasaki, Y., Matsushita, K., Taki, Y., Futatsugi-Yumikura, S., Tsutsui, H., Ishii, K. J., Yoshimoto, T., Akira, S., & Nakanishi, K. (2012). Contribution of IL-33-activated type II innate lymphoid cells to pulmonary eosinophilia in intestinal nematode-infected mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(9), 3451–3456. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1201042109/-/DCSUPPLEMENTAL/PNAS.201201042SI.PDF>
- Ye, C., Yano, H., Workman, C. J., & Vignali, D. A. A. (2021). Interleukin-35: Structure, Function and Its Impact on Immune-Related Diseases. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 41(11), 391–406. <https://doi.org/10.1089/JIR.2021.0147>
- Yin, X., Liu, T., Wang, Z., Ma, M., Lei, J., Zhang, Z., Fu, S., Fu, Y., Hu, Q., Ding, H., Han, X., Xu, J., Shang, H., & Jiang, Y. (2018). Expression of the inhibitory receptor tigit is up-regulated specifically on nk cells with cd226 activating receptor from HIV-infected individuals. *Frontiers in Immunology*, 9(OCT), 2341. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02341/BIBTEX>
- Yoon, H., Tang, C. M., Banerjee, S., Delgado, A. L., Yebra, M., Davis, J., & Sicklick, J. K. (2021). TGF-β1-mediated transition of resident fibroblasts to cancer-associated fibroblasts promotes cancer metastasis in gastrointestinal stromal tumor. *Oncogenesis* 2021 10:2, 10(2), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41389-021-00302-5>
- Yoshida, A., Koide, Y., Uchijima, M., & Yoshida, T. O. (1994). IFN-γ Induces IL-12 mRNA Expression by a Murine Macrophage Cell Line, J774. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 198(3), 857–861. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1994.1122>
- Yoshimoto, T., Takeda, K., Tanaka, T., Ohkusu, K., Kashiwamura, S., Okamura, H., Akira, S., & Nakanishi, K. (1998). IL-12 Up-Regulates IL-18 Receptor Expression on T Cells, Th1 Cells, and B Cells: Synergism with IL-18 for IFN-γ Production. *The Journal of Immunology*, 161(7), 3400–3407. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.161.7.3400>
- Yu, J., Freud, A. G., & Caligiuri, M. A. (2013). Location and cellular stages of natural killer cell development. *Trends in Immunology*, 34(12), 573–582. <https://doi.org/10.1016/j.it.2013.07.005>
- Yu, J., Heller, G., Chewning, J., Kim, S., Yokoyama, W. M., & Hsu, K. C. (2007). Hierarchy of the human natural killer cell response is determined by class and quantity of inhibitory receptors for self-HLA-B and HLA-C ligands. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 179(9), 5977–5989. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.179.9.5977>
- Yu, J., Mao, H. C., Wei, M., Hughes, T., Zhang, J., Park, I. K., Liu, S., McClory, S., Marcucci, G., Trotta, R., & Caligiuri, M. A. (2010). CD94 surface density identifies a functional intermediary between the CD56bright and CD56dim human NK-cell subsets. *Blood*, 115(2), 274–281. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-04-215491>
- Yu, J., Wei, M., Becknell, B., Trotta, R., Liu, S., Boyd, Z., Jaung, M. S., Blaser, B. W., Sun, J., Benson, D. M., Mao, H., Yokohama, A., Bhatt, D., Shen, L., Davuluri, R., Weinstein, M., Marcucci, G., & Caligiuri, M. A. (2006). Pro- and antiinflammatory cytokine signaling: reciprocal antagonism regulates interferon-gamma production by human natural killer cells. *Immunity*, 24(5), 575–590. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.03.016>

- Yu, Q., & Stamenkovic, I. (2000). Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- $\beta$  and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes & Development*, 14(2), 163. <https://doi.org/10.1101/gad.14.2.163>
- Yu, Y., Tsang, J. C. H., Wang, C., Clare, S., Wang, J., Chen, X., Brandt, C., Kane, L., Campos, L. S., Lu, L., Belz, G. T., McKenzie, A. N. J., Teichmann, S. A., Dougan, G., & Liu, P. (2016). Single-cell RNA-seq identifies a PD-1hi ILC progenitor and defines its development pathway. *Nature*, 539(7627), 102–106. <https://doi.org/10.1038/NATURE20105>
- Yuan, M., Wang, L., Huang, H. H., Li, Y., Zheng, X., Shao, Q., & Jiang, J. (2021). IL-1R2 expression in human gastric cancer and its clinical significance. *Bioscience Reports*, 41(3), 20204425. <https://doi.org/10.1042/BSR20204425>
- Yukawa, M., Jagannathan, S., Vallabh, S., Kartashov, A. V., Chen, X., Weirauch, M. T., & Barski, A. (2020). AP-1 activity induced by co-stimulation is required for chromatin opening during T cell activation. *The Journal of Experimental Medicine*, 217(1). <https://doi.org/10.1084/JEM.20182009>
- Zaidi, M. R., & Merlino, G. (2011). The Two Faces of Interferon- $\gamma$  in cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(19), 6118. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0482>
- Zamai, L., Del Zotto, G., Buccella, F., Gabrielli, S., Canonico, B., Artico, M., Ortolani, C., & Papa, S. (2020). Understanding the Synergy of NKp46 and Co-Activating Signals in Various NK Cell Subpopulations: Paving the Way for More Successful NK-Cell-Based Immunotherapy. *Cells*, 9(3), 753. <https://doi.org/10.3390/CELLS9030753>
- Zanoni, I., Spreafico, R., Bodio, C., DiGioia, M., Cigni, C., Broggi, A., Gorletta, T., Caccia, M., Chirico, G., Sironi, L., Collini, M., Colombo, M. P., Garbi, N., & Granucci, F. (2013). IL-15 cis presentation is required for optimal NK cell activation in lipopolysaccharide-mediated inflammatory conditions. *Cell Reports*, 4(6), 1235–1249. <https://doi.org/10.1016/j.CELREP.2013.08.021>
- Zaragoza, B., Chen, X., Oppenheim, J. J., Baeyens, A., Gregoire, S., Chader, D., Gorochoy, G., Miyara, M., & Salomon, B. L. (2016). Suppressive activity of human regulatory T cells is maintained in the presence of TNF. *Nature Medicine* 22:1, 22(1), 16–17. <https://doi.org/10.1038/nm.4019>
- Zecca, A., Barili, V., Rizzo, D., Olivani, A., Biasini, E., Laccabue, D., Valle, R. D., Ferrari, C., Cariani, E., & Missale, G. (2021). Intratumor Regulatory Noncytotoxic NK Cells in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Cells*, 10(3), 1–19. <https://doi.org/10.3390/CELLS10030614>
- Zeis, P., Lian, M., Fan, X., Herman, J. S., Hernandez, D. C., Gentek, R., Elias, S., Symowski, C., Knöpper, K., Peltokangas, N., Friedrich, C., Doucet-Ladeveze, R., Kabat, A. M., Locksley, R. M., Voehringer, D., Bajenoff, M., Rudenski, A. Y., Romagnani, C., Grün, D., & Gasteiger, G. (2020). In Situ Maturation and Tissue Adaptation of Type 2 Innate Lymphoid Cell Progenitors. *Immunity*, 53(4), 775–792.e9. <https://doi.org/10.1016/j.IMMUNI.2020.09.002>
- Zemek, R. M., De Jong, E., Chin, W. L., Schuster, I. S., Fear, V. S., Casey, T. H., Forbes, C., Dart, S. J., Leslie, C., Zaitouny, A., Small, M., Boon, L., Forrest, A. R. R., Muir, D. O., Degli-Esposti, M. A., Millward, M. J., Nowak, A. K., Lassmann, T., Bosco, A., ... Lesterhuis, W. J. (2019). Sensitization to immune checkpoint blockade through activation of a STAT1/NK axis in the tumor microenvironment. *Science Translational Medicine*, 11(501). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav7816>
- Zeng, X., Zhang, Z., Gao, Q. Q., Wang, Y. Y., Yu, X. Z., Zhou, B., & Xi, M. R. (2016). Clinical Significance of Serum Interleukin-31 and Interleukin-33 Levels in Patients of Endometrial Cancer: A Case Control Study. *Disease Markers*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9262919>
- Zhang, B., Liu, Y., Lan, X., Xu, X., Zhang, X., Li, X., Zhao, Y., Li, G., Du, C., Lu, S., & Wang, H. (2018). Oral *Escherichia coli* expressing IL-35 ameliorates experimental colitis in mice. *Journal of Translational Medicine*, 16(1), 71. <https://doi.org/10.1186/S12967-018-1441-7>
- Zhang, H., Vijayan, D., Li, X. Y., Robson, S. C., Geetha, N., Teng, M. W. L., & Smyth, M. J. (2019). The role of NK cells and CD39 in the immunological control of tumor metastases. *Oncoimmunology*, 8(6). <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1593809>
- Zhang, J. F., Wang, P., Yan, Y. J., Li, Y., Guan, M. W., Yu, J. J., & Wang, X. D. (2017). IL 33 enhances glioma cell migration and invasion by upregulation of MMP2 and MMP9 via the ST2-NF- $\kappa$ B pathway. *Oncology Reports*, 38(4), 2033–2042. <https://doi.org/10.3892/OR.2017.5926>
- Zhang, J. Y., Hamey, F., Trzupke, D., Mickunas, M., Lee, M., Godfrey, L., Yang, J. H. M., Pekalski, M. L., Kennet, J., Waldron-Lynch, F., Evans, M. L., Tree, T. I. M., Wicker, L. S., Todd, J. A., & Ferreira, R. C. (2022). Low-dose IL-2 reduces IL-21+ T cell frequency and induces anti-inflammatory gene expression in type 1 diabetes. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34162-3>
- Zhang, J., Scordi, I., Smyth, M. J., & Lichtenheld, M. G. (1999). Interleukin 2 receptor signaling regulates the perforin gene through signal transducer and activator of transcription (Stat)5 activation of two enhancers. *The Journal of Experimental Medicine*, 190(9), 1297–1307. <https://doi.org/10.1084/JEM.190.9.1297>
- Zhang, K., Xu, X., Pasha, M. A., Siebel, C. W., Costello, A., Haczku, A., MacNamara, K., Liang, T., Zhu, J., Bhandoola, A., Maillard, I., & Yang, Q. (2017). Cutting Edge: Notch Signaling Promotes the Plasticity of Group-2 Innate Lymphoid Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 198(5), 1798–1803. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1601421>
- Zhang, L., Lu, R., Zhao, G., Pflugfelder, S. C., & Li, D. Q. (2011). TLR-mediated induction of pro-allergic cytokine IL-33 in ocular mucosal epithelium. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 43(9), 1383–1391. <https://doi.org/10.1016/j.BIOCEL.2011.06.003>
- Zhang, L., Qiang, J., Yang, X., Wang, D., Rehman, A. ur, He, X., Chen, W., Sheng, D., Zhou, L., Jiang, Y. zhou, Li, T., Du, Y., Feng, J., Hu, X., Zhang, J., Hu, X. chun, Shao, Z. ming, & Liu, S. (2020). IL1R2 Blockade Suppresses Breast Tumorigenesis and Progression by Impairing USP15-Dependent BMI1 Stability. *Advanced Science*, 7(1). <https://doi.org/10.1002/ADVS.201901728>
- Zhang, P., Liu, X. K., Chu, Z., Ye, J. C., Li, K. L., Zhuang, W. L., Jiang, Y. F., & Jiang, Y. F. (2012). Detection of interleukin-33 in serum and carcinoma tissue from patients with hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *The Journal of International Medical Research*, 40(5), 1654–1661. <https://doi.org/10.1177/030006051204000504>
- Zhang, Q., Bi, J., Zheng, X., Chen, Y., Wang, H., Wu, W., Wang, Z., Wu, Q., Peng, H., Wei, H., Sun, R., & Tian, Z. (2018). Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity. *Nature Immunology*. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0132-0>

- Zhang, T., Nie, J., Liu, X., Han, Z., Ding, N., Gai, K., Liu, Y., Chen, L., & Guo, C. (2021). Correlation Analysis Among the Level of IL-35, Microvessel Density, Lymphatic Vessel Density, and Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical and Translational Science*, 14(1), 389–394. <https://doi.org/10.1111/CTS.12891>
- Zhang, X., Bi, K., Tu, X., Zhang, Q., Cao, Q., Liang, Y., Zeng, P., Wang, L., Liu, T., Fang, W., & Diao, H. (2021). Interleukin-33 as an early predictor of cetuximab treatment efficacy in patients with colorectal cancer. *Cancer Medicine*, 10(23), 8338–8351. <https://doi.org/10.1002/CAM4.4331>
- Zhang, Y. E. (2017). Non-Smad Signaling Pathways of the TGF- $\beta$  Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(2). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A022129>
- Zhang, Y., Davis, C., Shah, S., Hughes, D., Ryan, J. C., Altomare, D., & Peña, M. M. O. (2017). IL-33 promotes growth and liver metastasis of colorectal cancer in mice by remodeling the tumor microenvironment and inducing angiogenesis. *Molecular Carcinogenesis*, 56(1), 272–287. <https://doi.org/10.1002/MC.22491>
- Zhang, Z., Wu, N., Lu, Y., Davidson, D., Colonna, M., & Veillette, A. (2015). DNAM-1 controls NK cell activation via an ITT-like motif. *The Journal of Experimental Medicine*, 212(12), 2165. <https://doi.org/10.1084/JEM.20150792>
- Zhao, J., Li, Y., Jin, L., Zhang, S., Fan, R., Sun, Y., Zhou, C., Shang, Q., Li, W., Zhang, Z., & Wang, F. S. (2012). Natural Killer Cells Are Characterized by the Concomitantly Increased Interferon- $\gamma$  and Cytotoxicity in Acute Resolved Hepatitis B Patients. *PLoS ONE*, 7(11), 49135. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0049135>
- Zhao, M., Gu, J., & Wang, Z. (2020). B cells in Crohn's patients presented reduced IL-35 expression capacity. *Molecular Immunology*, 118, 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.12.005>
- Zhao, T., Zhang, H., Guo, Y., Zhang, Q., Hua, G., Lu, H., Hou, Q., Liu, H., & Fan, Z. (2006). Granzyme K cleaves the nucleosome assembly protein SET to induce single-stranded DNA nicks of target cells. *Cell Death & Differentiation* 2007 14:3, 14(3), 489–499. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402040>
- Zhao, X., Rong, L., Zhao, X., Li, X., Liu, X., Deng, J., Wu, H., Xu, X., Erben, U., Wu, P., Syrbe, U., Sieper, J., & Qin, Z. (2012). TNF signaling drives myeloid-derived suppressor cell accumulation. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(11), 4094. <https://doi.org/10.1172/JCI64115>
- Zhao, Z., Chen, X., Hao, S., Jia, R., Wang, N., Chen, S., Li, M., Wang, C., & Mao, H. (2017). Increased interleukin-35 expression in tumor-infiltrating lymphocytes correlates with poor prognosis in patients with breast cancer. *Cytokine*, 89, 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.09.012>
- Zheng, X., Qian, Y., Fu, B., Jiao, D., Jiang, Y., Chen, P., Shen, Y., Zhang, H., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2019). Mitochondrial fragmentation limits NK cell-based tumor immunosurveillance. *Nature Immunology*, 20(12), 1656–1667. <https://doi.org/10.1038/s41590-019-0511-1>
- Zheng, Y., Chen, Z., Han, Y., Han, L., Zou, X., Zhou, B., Hu, R., Hao, J., Bai, S., Xiao, H., Li, W. V., Bueker, A., Ma, Y., Xie, G., Yang, J., Chen, S., Li, H., Cao, J., & Shen, L. (2020). Immune suppressive landscape in the human esophageal squamous cell carcinoma microenvironment. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-020-20019-0>
- Zheng, Y., Li, Y., Tang, B., Zhao, Q., Wang, D., Liu, Y., Guo, M., Zhao, S., Qi, Y., Zhang, Y., & Huang, L. (2020). IL-6-induced CD39 expression on tumor-infiltrating NK cells predicts poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 69(11), 2371–2380. <https://doi.org/10.1007/S00262-020-02629-1/FIGURES/6>
- Zhong, C., Li, C., Wang, X., Toyoda, T., Gao, G., & Fan, Z. (2011). Granzyme K inhibits replication of influenza virus through cleaving the nuclear transport complex importin  $\alpha$ 1/ $\beta$  dimer of infected host cells. *Cell Death & Differentiation* 2012 19:5, 19(5), 882–890. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.178>
- Zhong, C., Zheng, M., & Zhu, J. (2018). Lymphoid tissue inducer — a divergent member of the ILC family. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 42, 5. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2018.02.004>
- Zhong, C., Zheng, M., Cui, K., Martins, A. J., Hu, G., Li, D., Tessarollo, L., Kozlov, S., Keller, J. R., Tsang, J. S., Zhao, K., & Zhu, J. (2020). Differential Expression of the Transcription Factor GATA3 Specifies Lineage and Functions of Innate Lymphoid Cells. *Immunity*, 52(1), 83–95.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.12.001>
- Zhou, C., Zhang, J., Chen, Y., Wang, H., & Hou, J. (2017). Interleukin-35 as a predictor of prostate cancer in patients undergoing initial prostate biopsy. *OncoTargets and Therapy*, 10, 3485–3491. <https://doi.org/10.2147/OTT.S135873>
- Zhou, J., Peng, H., Li, K., Qu, K., Wang, B., Wu, Y., Ye, L., Dong, Z., Wei, H., Sun, R., & Tian, Z. (2019). Liver-Resident NK Cells Control Antiviral Activity of Hepatic T Cells via the PD-1-PD-L1 Axis. *Immunity*, 50(2), 403–417.e4. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.12.024>
- Zhou, L., Chu, C., Teng, F., Bessman, N. J., Goc, J., Santosa, E. K., Putzel, G. G., Kabata, H., Kelsen, J. R., Baldassano, R. N., Shah, M. A., Sockolow, R. E., Vivier, E., Eberl, G., Smith, K. A., & Sonnenberg, G. F. (2019). Innate lymphoid cells support regulatory T cells in the intestine through interleukin-2. *Nature* 2019 568:7752, 568(7752), 405–409. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1082-x>
- Zhou, W. J., Chang, K. K., Wu, K., Yang, H. L., Mei, J., Xie, F., Li, D. J., & Li, M. Q. (2018). Rapamycin Synergizes with Cisplatin in Antiendometrial Cancer Activation by Improving IL-27-Stimulated Cytotoxicity of NK Cells. *Neoplasia*, 20(1), 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2017.11.003>
- Zhou, W., & Sonnenberg, G. F. (2020). Activation and Suppression of Group 3 Innate Lymphoid Cells in the Gut. *Trends in Immunology*, 41(8), 721–733. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.06.009>
- Zhou, X., Friedmann, K. S., Lyrmann, H., Zhou, Y., Schoppmeyer, R., Knörck, A., Mang, S., Hoxha, C., Angenendt, A., Backes, C. S., Mangerich, C., Zhao, R., Cappello, S., Schwär, G., Hässig, C., Neef, M., Bufe, B., Zufall, F., Kruse, K., ... Hoth, M. (2018). A calcium optimum for cytotoxic T lymphocyte and natural killer cell cytotoxicity. *The Journal of Physiology*, 596(14), 2681–2698. <https://doi.org/10.1113/JP274964>
- Zhou, Y., Zhang, H., & Li, Y. (2015). IL-35 expression in peripheral blood CD4(+) T cells from chronic hepatitis B virus-infected patients directly correlates with virus load. *Cytokine*, 73(1), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.02.003>



- Zhou, Z., He, H., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Su, Y., Wang, Y., Li, D., Liu, W., Zhang, Y., Shen, L., Han, W., Shen, L., Ding, J., & Shao, F. (2020). Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells. *Science*, 368(6494). [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAZ7548/SUPPL\\_FILE/AAZ7548S2.MP4](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAZ7548/SUPPL_FILE/AAZ7548S2.MP4)
- Zhu, C., Anderson, A. C., Schubart, A., Xiong, H., Imitola, J., Khoury, S. J., Zheng, X. X., Strom, T. B., & Kuchroo, V. K. (2005). The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nature Immunology*, 6(12), 1245-1252. <https://doi.org/10.1038/NI1271>
- Zhu, H., Blum, R. H., Bernareggi, D., Ask, E. H., Wu, Z., Hoel, H. J., Meng, Z., Wu, C., Guan, K. L., Malmberg, K. J., & Kaufman, D. S. (2020). Metabolic Reprogramming via Deletion of CISH in Human iPSC-Derived NK Cells Promotes In Vivo Persistence and Enhances Anti-tumor Activity. *Cell Stem Cell*, 27(2), 224-237.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.05.008>
- Zhu, J., Wang, Y., Li, D., Zhang, H., Guo, Z., & Yang, X. (2020). Interleukin-35 promotes progression of prostate cancer and inhibits anti-tumour immunity. *Cancer Cell International*, 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/S12935-020-01583-3/FIGURES/6>
- Zhuang, L., Fulton, R. J., Rettman, P., Sayan, A. E., Coad, J., Al-Shamkhani, A., & Khakoo, S. I. (2019). Activity of IL-12/15/18 primed natural killer cells against hepatocellular carcinoma. *Hepatology International*, 13(1), 75-83. <https://doi.org/10.1007/S12072-018-9909-3/FIGURES/3>
- Zhuang, X., & Long, E. O. (2017). Complement factor P: promoting the antibacterial activity of natural killer cells. *Cellular and Molecular Immunology*, 14(10), 797. <https://doi.org/10.1038/CMI.2017.60>
- Ziblat, A., Domaica, C. I., Spallanzani, R. G., Iraolagoitia, X. L. R., Rossi, L. E., Avila, D. E., Torres, N. I., Fuertes, M. B., & Zwirner, N. W. (2015). IL-27 stimulates human NK-cell effector functions and primes NK cells for IL-18 responsiveness. *European Journal of Immunology*, 45(1), 192-202. <https://doi.org/10.1002/EJI.201444699>
- Ziblat, A., Nuñez, S. Y., Iraolagoitia, X. L. R., Spallanzani, R. G., Torres, N. I., Sierra, J. M., Secchiari, F., Domaica, C. I., Fuertes, M. B., & Zwirner, N. W. (2018). Interleukin (IL)-23 Stimulates IFN- $\gamma$  Secretion by CD56bright Natural Killer Cells and Enhances IL-18-Driven Dendritic Cells Activation. *Frontiers in Immunology*, 8(JAN). <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2017.01959>
- Zilka, A., Landau, G., Hershkovitz, O., Bloushtain, N., Bar-Ilan, A., Benchetrit, F., Fima, E., Van Kuppevelt, T. H., Gallagher, J. T., Elgavish, S., & Porgador, A. (2005). Characterization of the heparin/heparan sulfate binding site of the natural cytotoxicity receptor NKp46. *Biochemistry*, 44(44), 14477-14485. <https://doi.org/10.1021/BI051241S>
- Zingoni, A., Molfetta, R., Fionda, C., Soriani, A., Paolini, R., Cippitelli, M., Cerboni, C., & Santoni, A. (2018). NKG2D and its ligands: "One for all, all for one." *Frontiers in Immunology*, 9(MAR), 358323. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.00476/BIBTEX>
- Zocchi, M. R., Catellani, S., Canevali, P., Tavella, S., Garuti, A., Villaggio, B., Zunino, A., Gobbi, M., Fraternali-Orcioni, G., Kunkl, A., Ravetti, J. L., Boero, S., Musso, A., & Poggi, A. (2012). High ERp5/ADAM10 expression in lymph node microenvironment and impaired NKG2D ligands recognition in Hodgkin lymphomas. *Blood*, 119(6), 1479-1489. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2011-07-370841>
- Zou, J.-M., Qin, J., Li, Y.-C., Wang, Y., Li, D., Shu, Y., Luo, C., Wang, S.-S., Chi, G., Guo, F., Zhang, G.-M., Feng, Z.-H., Zou, J.-M., Qin, J., Li, Y.-C., Wang, Y., Li, D., Shu, Y., Luo, C., ... Feng, Z.-H. (2017). IL-35 induces N2 phenotype of neutrophils to promote tumor growth. *Oncotarget*, 8(20), 33501-33514. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.16819>
- Zucchini, N., Bessou, G., Robbins, S. H., Chasson, L., Raper, A., Crocker, P. R., & Dalod, M. (2008). Individual plasmacytoid dendritic cells are major contributors to the production of multiple innate cytokines in an organ-specific manner during viral infection. *International Immunology*, 20(1), 45. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXM119>
- Zumaquero, E., Stone, S. L., Scharer, C. D., Jenks, S. A., Nellore, A., Mousseau, B., Vela, A. R., Botta, D., Bradley, J. E., Wojciechowski, W., Ptacek, T., Danila, M. I., Edberg, J. C., Bridges, S. L., Kimberly, R. P., Chatham, W. W., Schoeb, T. R., Rosenberg, A. F., Boss, J. M., ... Lund, F. E. (2019). Ifn $\gamma$  induces epigenetic programming of human t-bet<sup>hi</sup> b cells and promotes tlr7/8 and il-21 induced differentiation. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.41641>