

# Immunobiologia komórek NK

ZUZANNA WYSZYŃSKA, LIDIA SZULC, JUSTYNA STRUZIK, MAREK NIEMIAŁTOWSKI

Zakład Immunologii Katedry Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,  
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Wyszyńska Z., Szulc L., Struzik J., Niemiałtowski M.

## Immunobiology of NK cells

### Summary

NK (natural killer) cells are lymphoid, often granular, cells that are an important component of natural immunity, along with the complement system and phagocytic activity. NK cells are defined as cells of the innate immune response. Recent studies, however, demonstrate that specific subsets of mouse NK cells can develop specific immunological “memory” to a variety of antigens. NK cells do not require prior contact with foreign (i.e. viral or tumor) antigens and are not MHC-restricted. NK cells are involved in antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) and are thus able to destroy target cells coated with antibodies. NK cells express strong cytotoxicity against neoplastic and virus-infected cells after the activation of the perforin/granzyme system. They express stimulatory and inhibitory receptors on cell surface that recognize self-MHC proteins and regulate their activation. Mice NK cells express a large number of receptors, such as Ly49 receptors, which can inhibit the activity of MHC class I molecules. This short review shows an important role of NK cells as the effector arms of the immune system.

**Keywords:** NK cells, immunobiology, receptors

*Igni et ferro – ogniem i mieczem* – słowa tej popularnej sentencji łacińskiej w pełni oddają rolę, jaką pełnią efektorowe komórki cytotoksyczne – komórki NK (w odporności nieswoistej) i cytotoksyczne limfocyty T (cytotoxic T lymphocytes, CTL), głównie CTL CD8<sup>+</sup> (w odporności swoistej) – w usuwaniu obcych (zakażenia) lub zmienionych własnych (nowotwory) antygenów. Komórki NK są dużymi (15 µm) komórkami limfoidalnymi rozpoznającymi szerokie spektrum konfiguracji molekularnych występujących na różnych komórkach, w tym własnych, zakażonych wirusem oraz komórkach nowotworowych (2). Aktywacja komórek NK zachodzi wtedy, kiedy komórki docelowe – np. zakażone wirusem komórki dendrytyczne (DC) lub makrofagi (Mφ), a więc klasyczne komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells, APC) – wykazują ekspresję ligandów wiążących się do receptorów komórek NK. Komórki NK wykazują naturalną cytotoksyczność związaną z perforynami (pore-forming proteins) i granzymami (esterazami serynowymi). Wykazują ekspresję różnych receptorów, w tym: (i) NCRs (natural cytotoxicity receptors) – należących do rodziny immunoglobulin receptorów naturalnej cytotoksyczności, (ii) KIRs (killer cell immunoglobulin-like receptors) – podobnych do immunoglobulin receptorów komórek zabójców, które współdziałają z cząsteczkami głównego układu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex, MHC)

klasy I na powierzchni komórek NK podczas transmisji sygnałów aktywujących lub hamujących aktywność tych komórek, (iii) lektyno-podobnych receptorów biorących udział w aktywacji lub hamowaniu aktywności komórek NK (NK cell lectin-like receptors), (iv) receptorów aktywujących komórki NK (m.in.: NCR, KAR, NKG2D, -C i -E oraz Ly49D, -H, -P i -W) oraz (v) receptorów hamujących aktywność komórek NK (Ly49A, -B, -C, -E, -F, -G, Ly49I, NKG2A, -B oraz IL-T2) (10). Tymczasem receptor 2B4 (CD244) komórek NK może funkcjonować jako receptor hamujący, jak i aktywujący w zależności od stopnia jego ekspresji i ligacji oraz zasobu pewnych białek adaptorowych np. SAP (6). Na chromosomie 6. u myszy i na chromosomie 12. u ludzi umiejscowiony jest kompleks genów receptorów aktywujących/hamujących komórki NK, włączając w to cząsteczki: Ly49, CD95, CD69, NKG2 i NKR1 (10, 22).

We krwi człowieka komórki NK stanowią około 10% komórek mononuklearnych i ze względu na poziom ekspresji powierzchniowej cząsteczki CD56 dzielą się na dwie główne subpopulacje: CD56<sup>bright</sup> oraz CD56<sup>dim</sup> (10). Komórki NK CD56<sup>bright</sup> mają wysoką ekspresję CD56, zaś niską CD16 i są mniej cytolityczne niż komórki NK CD56<sup>dim</sup>, aczkolwiek produkują większe ilości cytokin i przypuszczalnie regulują rozwój swoistej odpowiedzi immunologicznej. Tymczasem komórki NK CD56<sup>dim</sup> wykazują wysoką ekspre-

sję CD16 i silną cytotoksyczność w stosunku do komórek nowotworowych (29). Stwierdzono, że podczas przewlekłych zakażeń wirusowych np. HIV-1 (human immunodeficiency virus type 1) czy HCV (hepatitis C virus) dochodzi do powstawania dużych ilości komórek NK o fenotypie CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, wykazujących zaburzenia w aktywności cytolitycznej oraz wytwarzaniu cytokin (4). Komórki NK CD56<sup>+</sup> u osób zakażonych HCV wykazywały poważne upośledzenie produkcji IFN- $\gamma$  oraz obniżoną ekspresję perforyn, czego skutkiem była niezdolność kontrolowania zakażenia wirusowego przez te komórki (14).

### Rola komórek NK w zakażeniu wirusowym

Najlepiej udowodniona jest rola komórek NK w odpowiedzi efektorowej organizmu na zakażenie wirusami należącymi do rodziny *Herpesviridae*, np.: HHV-1/2 (human herpesvirus type 1/2), VZV (varicella zoster virus – HHV-3) oraz CMV (cytomegalovirus – HHV-5). Komórki NK uczestniczą również w eliminowaniu innych licznych wirusów, np.: Coxsackie, grypy, pokswirusów, HIV oraz LCMV (lymphocytic choriomeningitis virus) (35). Wykazano, że za genetyczną niewrażliwość na zakażenie mysim cytomegalowirusem – mouse cytomegalovirus, MCMV (synonim: murid herpesvirus, MuHV-1) – u myszy C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>) odpowiada receptor Ly49H, który jest kodowany, jak wspomniano, w obrębie kompleksu genów dla receptorów komórek NK na chromosomie 6 (7, 47). Ly49H bezpośrednio przylacza się do m157 – glikoproteiny kodowanej przez MCMV, która strukturalnie przypomina cząsteczki MHC klasy I gospodarza. We wczesnej fazie zakażenia ligacja Ly49H–m157 zapoczątkowuje aktywację kaskady sygnałowej, skutkującej klonalną proliferacją komórek NK Ly49H<sup>+</sup>, wytwarzaniem licznych chemokin i cytokin prozapalnych oraz eliminacją zakażonych komórek (35).

Do jednych z najważniejszych zadań komórek NK podczas zakażenia wirusowego należy stymulacja odpowiedzi immunologicznej. Poprzez wydzielane IFN- $\gamma$  umożliwiają organizmowi rozwinięcie w pełni wydajnej odpowiedzi komórkowej (1). Występujące w komórkach NK transkrypty dla IFN- $\gamma$  umożliwiają szybką produkcję IFN- $\gamma$  bezpośrednio po zadziałaniu czynnika aktywującego (26). Ostatnio Mack i wsp. (24) wykazali, że w zakażeniu LCMV myszy C57BL/6 wytwarzanie IFN- $\gamma$  zależne jest od IFN typu 1 (IFN- $\alpha/\beta$ ) oraz od ekspresji czynnika transkrypcyjnego STAT4. Tymczasem od dawna wiadomo, że IFN typu 1 nasila cytotoksyczność komórek NK głównie poprzez aktywację STAT1, który z kolei negatywnie reguluje STAT4 (12).

Komórki NK zdolne są również do wytwarzania TNF- $\alpha$  o bezpośrednim działaniu antywirusowym i immunoregulacyjnym. TNF- $\alpha$  wraz z IL-6 stymuluje wzrost i różnicowanie limfocytów B, a razem z IL-2 i IL-6 aktywuje wzrost i różnicowanie limfocytów T. Zwiększa również cytotoksyczność komórek NK oraz

powstawanie CTL. TNF- $\alpha$  działa ponadto chemotaktycznie na monocyty i neutrofile (PMNs). Wzmacnia też aktywność monocytów i M $\phi$ , będąc mediatorem reakcji zapalnej. Indukuje uwalnianie z limfocytów IFN- $\gamma$ , a z M $\phi$  – IL-1, IL-6, GM-CSF, M-CSF, prostaglandyn i leukotrienów. Wzmacnia również ekspresję na komórkach białek MHC klasy I, a wraz z IFN- $\gamma$  białek MHC klasy II na powierzchni APC. TNF- $\alpha$  wykazuje również bezpośrednie działanie proapoptotyczne i antyproliferacyjne na liczne komórki (32). Wykazano tymczasem, że dym papierosowy hamuje wytwarzanie przez komórki NK zarówno TNF- $\alpha$ , jak i IFN- $\gamma$ , co zwiększa ryzyko występowania u palaczy wirusowego zapalenia płuc oraz nowotworów płuc (27).

Komórki NK wytwarzają prozapalne chemokiny o niskiej masie cząsteczkowej, jak na przykład: MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MIP-1 $\alpha$  (CCL3), MIP-1 $\beta$  (CCL4) i RANTES (CCL5), które silnie pobudzają chemotaksję monocytów, M $\phi$ , limfocytów T i komórek NK lub wykazują bezpośrednie działanie przeciwwirusowe, hamując rozprzestrzenianie się wirusa (32). Wirusy tymczasem mogą modulować chemotaksję komórek NK lub innych leukocytów zaangażowanych w aktywację tych komórek poprzez wytwarzanie licznych białek stanowiących homologi chemokin (31). Przykładowo, białko MCK-2 (homolog m131-129 chemokin CC) MCMV odgrywa rolę w rozprzestrzenianiu się wirusa w organizmie, gdyż zakażenie myszy rekombinowanym MCMV z mutacją genu m131 skutkowało upośledzeniem przedostawania się mutanta do ślinianek, obniżeniem wtórnej wiremii oraz zmniejszeniem miana wirusa w śledzionie i wątrobie (28).

Komórki NK dysponują licznymi mechanizmami efektorowymi służącymi do zabijania komórek zakażonych przez wirusy lub komórek nowotworowych (tab. 1). Mechanizmy cytotoksyczności podzielono na dwie grupy: cytotoksyczność zależna od ziaren cytolitycznych i cytotoksyczność zależna od receptorów dla cząsteczek z rodziny TNF, która odgrywa mniejszą rolę w tym procesie (37, 44).

Pewne subpopulacje komórek NK posiadają także cechę uprzednio przypisywaną wyłącznie komórkom swoistej odpowiedzi immunologicznej, a mianowicie

**Tab. 1. Najważniejsze mechanizmy cytotoksyczności komórek NK (37, 44)**

Czynnik cytotoksyczny	Mechanizmy cytotoksyczności
Perforyna (pore-forming protein)	Tworzenie porów w błonie cytoplazmatycznej, pośrednia indukcja apoptozy
Granzymy (esterazy serynowe)	Proteoliza białek cytoplazmy i jądrowych, indukcja apoptozy
Enzymy lizosomalne	Proteoliza białek cytoplazmy i jądrowych, indukcja apoptozy
Białko p40-TIA-1	Stymulacja degradacji DNA
Granulizyna	Uszkodzenie błon komórkowych, indukcja apoptozy

wykazują zjawisko „pamięci” immunologicznej. Sun i wsp. (42) wykazali, że u myszy zakażonych MCMV komórki NK posiadające wirusowo-swoisty receptor Ly49H migrowały do tkanek limfatycznych oraz nie-limfatycznych i przebywały w nich przez wiele miesięcy. Podczas ponownego kontaktu z MCMV te samoodtworzone komórki NK „pamięci” zdolne były do szybszej degranulacji i produkcji większych ilości cytokin (np. IFN- $\gamma$ ) niż komórki NK myszy niezakażonych. Co więcej, adoptywny transfer tych komórek do zwierząt niezakażonych, którym następnie wprowadzono wirus, skutkował silną wtórną ekspansją komórek NK oraz rozwojem protekcyjnej odpowiedzi immunologicznej (42). Z kolei Gillard i wsp. (13) obserwowali powstawanie subpopulacji komórek NK Thyl<sup>+</sup> „pamięci” podczas pierwotnego zakażenia myszy C57BL/6 wirusem krowianki (vaccinia virus, VACV). Adoptywny transfer wątrobowych komórek NK Thyl<sup>+</sup> pobudzonych wirusem do myszy RAG1<sup>ko</sup> (pozbawionych limfocytów T i B) skutkował ochroną przed rozwojem śmiertelnego zakażenia VACV (13).

### Receptory komórek NK

**Rodzina receptorów Ly49.** Funkcje komórek NK regulowane są przez szereg receptorów rozpoznających białka MHC klasy I na komórkach gospodarza. Wśród nich przeważają receptory o właściwościach hamujących aktywność cytotoksyczną. Zapewnia to ochronę niezakażonych komórek przed lizą przez komórki NK. Regulacja funkcji komórek NK opiera się

na równowadze między sygnałami molekularnymi płynącymi z receptorów hamujących i aktywujących (3, 25). Pojedyncza komórka NK posiada transkrypty dla co najmniej 1 do 4 receptorów z rodziny Ly49 (39). Zarówno rodzaj, jak i liczba receptorów występujących na komórkach NK jest zależna od poziomu ekspresji białek MHC klasy I obecnych na komórkach gospodarza. Stabilną ekspresję receptorów z rodziny Ly49 zapewnia klonalna proliferacja dojrzałych komórek NK. Receptory z rodziny Ly49, występujące na mysich komórkach NK i na subpopulacjach limfocytów T, są transbłonowymi białkami podobnymi do lektyn zależnych od jonów wapnia (C lectin-like type). Tworzą homodimery połączone wiązaniem dwusiarczkowym. Kodowane są na 6. chromosomie w obrębie kompleksu genów dla receptorów komórek NK. Rodzina receptorów Ly49 wykazuje dużą różnorodność wynikającą z polimorfizmu alleli i alternatywnego składowania genów (10, 18, 22, 23, 36).

Ligandami dla receptorów z tej rodziny są białka MHC klasy I, z którymi wiążą się bezpośrednio. Poszczególne receptory wykazują zmienne powinowactwo w stosunku do białek MHC klasy I o różnych haplotypach. Najlepiej poznano interakcje receptora Ly49A z białkiem MHC klasy I, np. u myszy BALB/c (H-2<sup>d</sup>). Receptor ten rozpoznaje białko MHC klasy I w dwóch miejscach: pomiędzy domeną  $\alpha 1$  i  $\alpha 2$  białek MHC klasy I oraz pomiędzy domeną  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ , a  $\beta 2$ -mikroglobuliną ( $\beta 2$ -m). Wiązanie do molekuł MHC przez receptory Ly49 uwarunkowane jest obecnością białka w rowku cząsteczki MHC klasy I. Specyficzność tego wiązania zależy od interakcji białko-białko (21, 23).

Tab. 2. Funkcje biologiczne niektórych receptorów z rodziny Ly49 (opracowanie własne wg 9, 25, 40)

Receptory z rodziny LY49	Domena cytoplazmatyczna	Funkcje biologiczne
Ly49A	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK przez specyficzne wiązanie się z białkami MHC klasy I o haplociepie: H-2D <sup>d</sup> i H-2D <sup>k</sup>
Ly49C	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK przez specyficzne wiązanie się z białkami MHC klasy I o haplociepie: H-2K <sup>b</sup> , H-2D <sup>d</sup> , H-2K <sup>k</sup> , H-2S <sup>s</sup>
Ly49D	Brak ITIM, interakcja z białkiem DAP12 niosącym w domenie cytoplazmatycznej sekwencję aminokwasów ITAM i aktywującym szeregi kinaz	Aktywacja komórek NK, ma znaczenie podczas odrzucania alloprzeszczepów szpiku, wiązanie się z białkami MHC klasy I o haplociepie H-2D <sup>d</sup>
Ly49E	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK
Ly49F	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK
Ly49G (LGL-1)	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK
Ly49H	Brak ITIM, interakcja z białkiem DAP12 niosącym w domenie cytoplazmatycznej sekwencję aminokwasów ITAM i aktywującym kinazy	Aktywacja komórek NK, znaczenie podczas zakażenia MCMV – rozpoznawanie białka m157
Ly49I	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK, rozpoznawanie białka m157
Ly49J	ITIM	Hamowanie aktywności komórek NK

Objaśnienia: ITIM – motyw immunoreceptorowy hamujący oparty na tyrozynie; MCMV – mysi cytomegalowirus; MHC – główny układ zgodności tkankowej

Funkcje biologiczne receptorów aktywujących z tej rodziny nie są w pełni wyjaśnione. Receptor Ly49D w badaniach *in vitro* odgrywał rolę w rozpoznawaniu białka MHC klasy I (H-2D<sup>d</sup>) oraz w odrzucaniu przeszczepów szpiku kostnego u myszy C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>). Receptor Ly49P u myszy szczepu NOD również rozpoznaje białko MHC klasy I (H-2D<sup>d</sup>). Natomiast receptor Ly49H wykrywa wirusowe białko m157 obecne na powierzchni komórek permissywnych zakażonych MCMV i związany jest z opornością myszy C57BL/6 na zakażenie CMV (19, 22, 25, 43, 46). Ostatnio wykazano, że oporność na zakażenie MCMV jest także warunkowana poprzez angażowanie receptora aktywującego Ly49P przez cząsteczki MHC klasy I H-2D<sup>k</sup>, co doprowadza do aktywacji komórek NK (11). Komórki NK nie były w stanie eliminować wirusa w momencie, gdy komórki docelowe wykazywały do-



datkowo ekspresję cząsteczek MHC klasy I H-2D<sup>a</sup>, które silnie hamowały aktywność komórek NK (11). Z kolei związanie receptora hamującego Ly49-I przez białko m157 MCMV doprowadzało do hamowania aktywności cytotoksycznej subpopulacji komórek NK u wrażliwych myszy szczepu 129/J (20, 31).

U zwierząt heterozygotycznych, posiadających dwa allele genów kodujących receptory Ly49: Ly49A, Ly49C i Ly49G2, ekspresji ulega na ogół tylko jeden wariant, pochodzący od jednego z rodziców. W nielicznych przypadkach ekspresji ulegają obydwa allele. Obliczono, że występuje 120 możliwości ekspresji 3 hamujących receptorów na jednej komórce NK, 210 możliwości ekspresji 4 receptorów i 920 możliwości ekspresji 7 receptorów (10, 15, 25, 36, 41).

**Receptory NKG2.** Drugą rodziną receptorów komórek NK u myszy są cząsteczki CD94/NKG2 należące do C-lektyn o budowie heterodimerów. Receptory NKG2 łączą się w błonie komórkowej z cząsteczką CD94. Kompleksy te nie łączą się z klasycznymi cząsteczkami MHC klasy Ia, a rozpoznają peptydy liderowe Ia. Białka te wiązane są przez rowek nieklasycznych cząsteczek MHC klasy Ib, takich jak Qa-1 u myszy i HLA-E u ludzi. Receptor NKG2D (tworzący homodimer) rozpoznaje u ludzi cząsteczki MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, ULBP3, a u myszy RAE1, H60 i MULT1 (20). Receptory te wykazują właściwości hamujące aktywność komórek NK, a szlak przewodzenia przez nie oraz przez receptory Ly49 sygnałów molekularnych do wnętrza komórki jest zbliżony. Receptory CD94/NKG2 występują na większości komórek NK, limfocytach  $\gamma\delta$  TcR oraz subpopulacji limfocytów T pamięci CD8- $\alpha\beta$  TcR. Podczas rozwoju mysich komórek NK receptory CD94/NKG2 pojawiają się wcześniej niż Ly49. Na zmiany w ekspresji receptorów CD94/NKG2 wpływają, między innymi: IL-12, IL-15 i TGF- $\beta$  w odróżnieniu od ekspresji receptorów Ly49, która jest stabilna i nie ulega zmianom pod wpływem cytokin (9, 10, 22).

Wirusy wykształciły szereg strategii umożliwiających im unikanie zabijania odbywającego się za pośrednictwem receptora NKG2D. Białko Nef HIV-1 przyłącza się do MICA, ULBP-1 i -2, powodując ich degradację (16). Z kolei HCMV koduje białko UL-16, które wiąże ULBP wewnątrz komórki, hamując jego uwalnianie ku powierzchni i oddziaływanie z NKG2D, oraz białko UL142, które wiąże MICA, zapobiegając jego interakcji z NKG2D (16, 20). Białko NS5A HCV oddziałuje na TLR4 monocytów, co stymuluje te komórki do zwiększonej produkcji TGF- $\beta$ , który z kolei zaburza ekspresję NKG2D na powierzchni komórek NK. Komórki NK z obniżoną ekspresją NKG2D wykazują zmniejszoną aktywność cytotoxiczną i produkcję IFN- $\gamma$  (38). MCMV tymczasem blokuje ekspresję ligandów dla NKG2D na powierzchni zakażonych komórek: wirusowe białko m152 hamuje ekspresję RAE1, białka m155 i m138 obniżają ekspresję H60, zaś m145 i m138 – zaburzają ekspresję MULT1 (20).

**Receptory NKR-P1.** Wśród receptorów tej rodziny znajduje się receptor NK1.1, który pozwala na rozpoznanie komórek NK u myszy szczepu C57BL/6 (H-2<sup>b</sup>). Receptor ten wykazuje polimorfizm i kodowany jest na 6. chromosomie przez rodzinę genów nkr-p1 w obrębie kompleksu KKC. Receptory z tej rodziny to transbłonowe białka podobne do lektyn zależnych od jonów wapnia. Receptory te u myszy C57BL/6 kodowane są przez cztery geny: nkr-p1a, nkr-p1c, nkr-p1d i nkr-p1f. Receptory NKR-P1A, -C i -F pozbawione są ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs) i wykazują właściwości aktywujące komórki NK przez białko adaptorowe DAP10 (9, 21-23, 27).

W badaniach przeprowadzonych przez Voigta i wsp. (45) wykazano, że wirusowe białko kodowane przez szczurzego CMV (rat CMV, RCMV) oddziałuje z receptorem hamującym NKR-P1B komórek NK. Wirusowe białko RCTL wykazuje homologię z ligandem C1r receptorów NKR-P1B. W komórkach zakażonych RCMV dochodzi do obniżenia ekspresji szczurzego białka C1r-b, natomiast pojawia się ekspresja wirusowego białka RCTL funkcjonującego jako ligand dla receptorów hamujących NKR-P1B, chroniąc zakażone komórki przed zabiciem przez komórki NK (45).

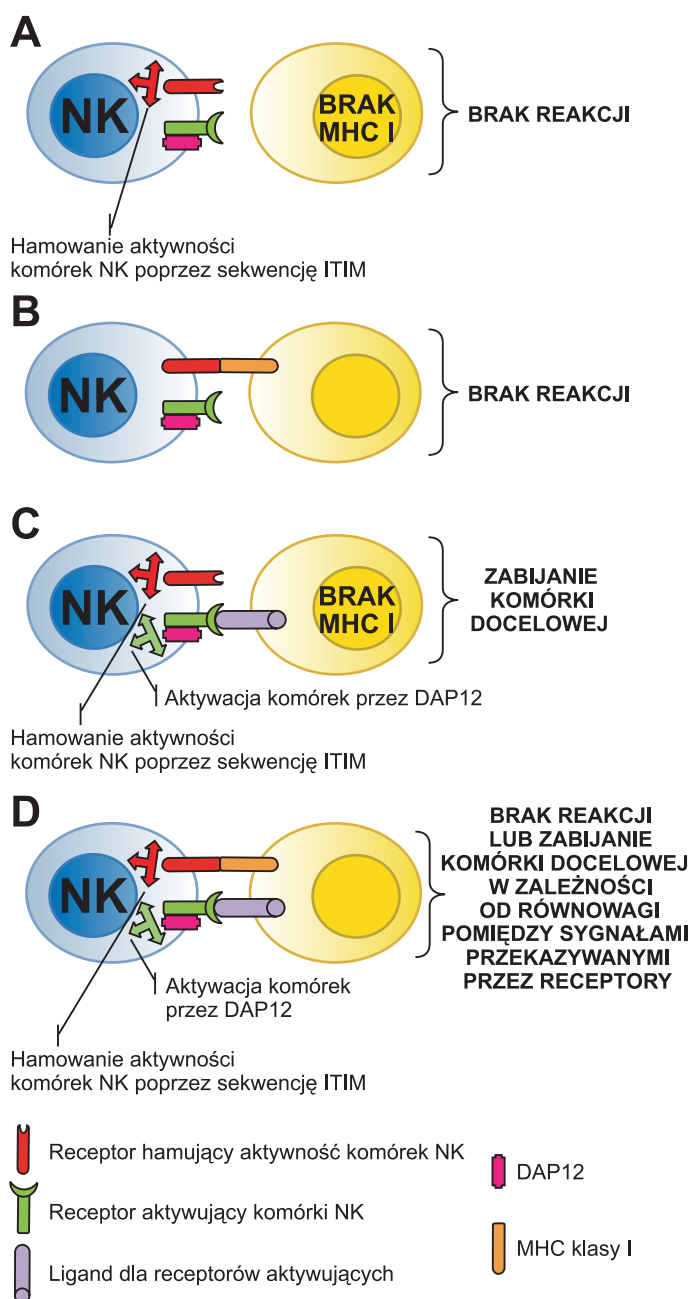
### Mechanizm przekazywania sygnału przez receptory Ly49

Wewnątrz domeny cytoplazmatycznej receptorów hamujących znajduje się sekwencja aminokwasów ITIM, Ile/Val/Leu/Ser-x-Tyr-x-x-Leu/Val, gdzie x wyraża dowolne aminokwasy. Podczas wiązania receptora odbywa się fosforylacja przez fosfatazy tyrozynowe SHP-1 i SHP-2, które następnie hamują uwalnianie wewnątrzkomórkowego wapnia i dalszą aktywację komórek NK. Jednakże dwa receptory z tej rodziny (Ly49H i Ly49D) pozbawione są domeny ITIM. Przewodzenie sygnału do wnętrza komórki zachodzi przez błonowe białko adaptorowe DAP12, które po połączeniu z receptorami Ly49H lub D przekazuje do wnętrza komórki sygnał aktywujący. Prowadzi to do uwolnienia wewnątrzkomórkowego wapnia i degranulacji granulosomów oraz wytworzenia IFN- $\gamma$  (5, 8, 22, 33, 34).

### Hipoteza „braku siebie” („missing self” hypothesis – MSH)

Pod pojęciem MSH Kärre’a rozumie się interakcje i eliminowanie przez komórki NK komórek docelowych, które nie wykazują na swojej powierzchni ekspresji normalnych własnych antygenów MHC klasy I, co umożliwiałoby „ucieczkę” tym komórkom spod nadzoru limfocytów T (17). Przykładami takich komórek są komórki zakażone wirusem i komórki nowotworowe, jak również komórki allogeniczne (21, 22) (ryc. 1).

Tak więc wykazano, że połączenie receptorów hamujących na komórkach NK z białkami MHC klasy I



**Ryc. 1. Hipoteza „braku siebie”:** (A) brak ligandów na komórce docelowej, (B) na komórce docelowej występuje ekspresja białek MHC klasy I, (C) na komórce docelowej występują tylko ligandy odmienne od cząsteczek MHC klasy I, (D) komórka docelowa prezentuje białka MHC klasy I i inne ligandy

Objaśnienia: DAP12 – białko o masie 12 kDa aktywujące DNAX; ITIM – motyw immunoreceptorowy hamujący oparty na tyrozinie; MHC – główny układ zgodności tkankowej (opracowanie własne wg 10, 21, 22)

nie powoduje nieodwracalnego zahamowania aktywności cytotoksycznej. Liczba receptorów hamujących dla białek MHC klasy I i cząsteczek MHC zaangażowanych w to wiązanie decyduje o sile hamującego sygnału molekularnego przekazywanego do wnętrza komórki. Przy jednoczesnym połączeniu receptorów hamujących z białkami MHC klasy I i receptorów aktywujących z ligandami na powierzchni komórki docelowej możliwe jest jej zabicie. Przykładem takiego

sposobu regulacji może być tolerowanie przez komórki NK erytrocytów pozbawionych białek MHC klasy I lub neuronów o niskiej ekspresji MHC klasy I. Rozwijają się wówczas tolerancja ze względu na brak zarówno sygnałów aktywujących, jak i hamujących, pochodzących z receptorów dla białek MHC klasy I. Może zachodzić również hamowanie funkcji komórek NK przez receptory rozpoznające inne białka niż cząsteczki MHC klasy I. Takim przykładem jest wiązanie NKR-P1 z glikoproteiną Clr-b występującą powszechnie na komórkach (np. erytrocytach) (22, 30, 32).

Podsumowując, podczas kilku ostatnich lat zwrócono uwagę na kluczową rolę, jaką odgrywają wyjątkowo skuteczne mechanizmy efektorowe obrony nieswoistej (jak komórki NK) nie tylko, jak uważano, w pierwszym okresie walki „ogniem i mieczem” z zakażeniem/chorobą nowotworową, ale i współdziałając z mechanizmami obrony swoistej (1). Wskazuje to na konieczność postrzegania mechanizmów odpornościowych ssaków jako układu kompleksowego o wzajemnie przenikających się kompetencjach regulacyjnych i efektorowych, co pozwala organizmowi zdrowemu utrzymywać homeostazę. Naruszenie ustalonych ewolucyjnie mechanizmów komórkowych i molekularnych stabilizujących ww. układ może prowadzić do braku kontroli organizmu nad rozwojem choroby.

## Piśmiennictwo

1. Antoniou C. E., Andrews D. M., Degli-Esposti M. A.: Natural killer cells in viral infection: more than just killers. *Immunol. Rev.* 2006, 214, 239-250.
2. Arase H., Lanier L. L.: Virus-driven evolution of natural killer cell receptors. *Microb. Infect.* 2002, 15, 1505-1512.
3. Billadeau D. D., Leibson P. J.: ITAMs versus ITIMs: striking a balance during cell regulation. *J. Clin. Invest.* 2002, 109, 161-168.
4. Björkström N. K., Ljunggren H. G., Sandberg J. K.: CD56 negative NK cells: origin, function, and role in chronic viral disease. *Trends Immunol.* 2010, 31, 401-406.
5. Chiesa S., Tomasello E., Vivier E., Vely F.: Coordination of activating and inhibitory signals in natural killer cells. *Mol. Immunol.* 2005, 42, 477-484.
6. Chlewicki L. K., Velikovsky C. J., Balakrishnan V., Mariuzza R. A., Kumar V.: Molecular basis of the dual functions of 2B4 (CD244). *J. Immunol.* 2008, 180, 8159-8167.
7. Dokun A. O., Kim S., Smith H. R., Kang H. S., Chu D. T., Yokoyama W. M.: Specific and nonspecific NK cell activation during virus infection. *Nat. Immunol.* 2001, 2, 951-956.
8. Eriksson M., Leitz G., Fallman E., Axner O., Ryan J. C., Nakamura M. C., Sentman C. L.: Inhibitory receptors alter natural killer cell interactions with target cells yet allow simultaneous killing of susceptible targets. *J. Exp. Med.* 1999, 190, 1005-1012.
9. Fahlen L., Lendahl U., Sentman C. L.: MHC class I-LY49 interactions shape the LY49 repertoire on murine NK cells. *J. Immunol.* 2001, 166, 5485-5492.
10. Farag S. S., Fehniger T. A., Ruggeri L., Velardi A., Caligiuri M. A.: Natural killer cell receptors: new biology and insights into the graft-versus-leukemia effect. *Blood* 2002, 100, 1935-1947.
11. Fodil-Cornu N., Loredano-Osti J. C., Vidal S. M.: NK cell receptor/H2-D<sup>k</sup> – dependent host resistance to viral infection is quantitatively modulated by H2<sup>a</sup> inhibitory signals. *PLoS Genet.* 2011, 7, e1001368.
12. García-Sastre A., Biron C. A.: Type I interferons and the virus-host relationship: a lesson in détente. *Science* 2006, 312, 879-882.
13. Gillard G. O., Bivas-Benita M., Hovav A.-H., Grandpre L. E., Panas M. W., Seaman M. S., Haynes B. F., Letvin N. L.: Thy1<sup>+</sup> NK cells from vaccinia virus-primed mice confer protection against vaccinia virus challenge in the absence of adaptive lymphocytes. *PLoS Pathog.* 2011, 7, e1002141.
14. Gonzalez V. D., Falconer K., Björkström N. K., Blom K. G., Weiland O., Hans-Ljunggren G., Alaeus A., Sandberg J. K.: Expansion of functionally

- skewed CD56-negative NK cells in chronic hepatitis C virus infection: correlation with outcome of pegylated IFN- $\alpha$  and ribavirin treatment. *J. Immunol.* 2009, 183, 6612-6618.
15. Held W., Coudert J. D., Zimmer J.: The NK cell receptor repertoire formation, adaptation and exploitation. *Curr. Opin. Immunol.* 2003, 15, 233-237.
  16. Iannello A., Debbeche O., Samarani S., Ahmad A.: Antiviral NK cell responses in HIV infection: II. viral strategies for evasion and lessons for immunotherapy and vaccination. *J. Leukoc. Biol.* 2008, 84, 27-49.
  17. Kärre K.: Natural killer cell recognition of missing self. *Nat. Immunol.* 2008, 9, 477-480.
  18. Khakoo S. I., Brooks C. R.: MHC class I receptors on natural killer cells: on with the old and in with the new. *Clin. Sci. (Lond)*. 2003, 105, 127-140.
  19. Kubota A., Kubota S., Lohwasser S., Mager D. L., Takei F.: Diversity of NK cell receptor repertoire in adult and neonatal mice. *J. Immunol.* 1999, 163, 212-216.
  20. Lanier L. L.: Evolutionary struggles between NK cells and viruses. *Nat. Rev. Immunol.* 2008, 8, 259-268.
  21. Lanier L. L.: Natural killer cell receptor signaling. *Curr. Opin. Immunol.* 2003, 15, 308-314.
  22. Lanier L. L.: NK cell recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 2005, 23, 225-274.
  23. Lanier L. L.: Turning on natural killer cells. *J. Exp. Med.* 2000, 17, 1259-1262.
  24. Mack E. A., Kallal L. E., Demers D. A., Biron C. A.: Type 1 interferon induction of natural killer cell gamma interferon production for defense during lymphocytic choriomeningitis virus infection. *MBio.* 2011, 2, e00169-11.
  25. Makrigiannis A. P., Anderson S. K.: The murine LY49 family: form and function. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2001, 49, 47-50.
  26. Martin-Fontecha A., Carbone E.: The social life of NK cells. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2001, 49 Suppl 1: S33-S39.
  27. Mian M. F., Lauzon N. M., Stämpfi M. R., Mossman K. L., Ashkar A. A.: Impairment of human NK cell cytotoxic activity and cytokine release by cigarette smoke. *J. Leukoc. Biol.* 2008, 83, 774-784.
  28. Miller-Kittrell M., Sparer T. E.: Feeling manipulated: cytomegalovirus immune manipulation. *Viol. J.* 2009, 6, 4.
  29. Mselle T. F., Meadows S. K., Eriksson M., Smith J. M., Shen L., Wira C. R., Sentman C. L.: Unique characteristics of NK cells throughout the human female reproductive tract. *Clin. Immunol.* 2007, 124, 69-76.
  30. Nakamura M. C., Niemi E. C., Fisher M. J., Shultz L. D., Seaman W. E., Ryan J. C.: Mouse LY-49A interrupts early signaling events in natural killer cell cytotoxicity and functionally associates with the SHP-1 tyrosine phosphatase. *J. Exp. Med.* 1997, 185, 673-684.
  31. Orange J. S., Fasset M. S., Koopman L. A., Boyson J. E., Strominger J. L.: Viral evasion of natural killer cells. *Nat. Immunol.* 2002, 3, 1006-1012.
  32. Ortaldo J. R., Bere E. W., Hodge D., Young H. A.: Activating LY-49 NK receptors: central role in cytokine and chemokine production. *J. Immunol.* 2001, 166, 4994-4999.
  33. Ortaldo J. R., Young H. A.: Mouse LY49 NK receptors: balancing activation and inhibition. *Mol. Immunol.* 2005, 42, 445-450.
  34. Proteau M. F., Rousselle E., Makrigiannis A. P.: Mapping of the BALB/C LY49 cluster defines a minimal natural killer cell receptor gene repertoire. *Genomics* 2004, 84, 669-677.
  35. Pyzik M., Gendron-Pontbriand E.-M., Vidal S. M.: The impact of Ly49-NK cell-dependent recognition of MCMV infection on innate and adaptive immune responses. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011, 641702.
  36. Ravetch J. V., Lanier L. L.: Immune inhibitory receptors. *Science* 2000, 290, 84-89.
  37. Russell J. H., Ley T. J.: Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu. Rev. Immunol.* 2002, 20, 323-370.
  38. Sène D., Levasseur F., Abel M., Lambert M., Camous X., Hernandez C., Pène V., Rosenberg A. R., Jouvin-Marche E., Marche P. N., Cacoub P., Caillat-Zucman S.: Hepatitis C virus (HCV) evades NKG2D-dependent NK cell responses through NS5A-mediated imbalance of inflammatory cytokines. *PLoS Pathog.* 2010, 6, e1001184.
  39. Silver E. T., Gong D. E., Chang C. S., Amrani A., Santamaria P., Kane K. P.: LY-49P activates NK-mediated lysis by recognizing H-2D<sup>b</sup>. *J. Immunol.* 2000, 165, 771-781.
  40. Smith H. R., Chuang H. H., Wang L. L., Salcedo M., Heusel J. W., Yokoyama W. M.: Nonstochastic coexpression of activation receptors on murine natural killer cells. *J. Exp. Med.* 2000, 191, 1341-1354.
  41. Smith K. M., Wu J., Bakker A. B., Phillips J. H., Lanier L. L.: LY-49D and LY-49H associate with mouse DAP12 and form activating receptors. *J. Immunol.* 1998, 161, 7-10.
  42. Sun J. C., Beilke J. N., Lanier L. L.: Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature* 2009, 457, 557-561.
  43. Tay C. H., Yu L. Y., Kumar V., Mason L., Ortaldo J. R., Welsh R. M.: The role of LY49 NK cell subsets in the regulation of murine cytomegalovirus infections. *J. Immunol.* 1999, 162, 718-726.
  44. Trapani J. A., Smyth M. J.: Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat. Rev. Immunol.* 2002, 2, 735-747.
  45. Voigt S., Mesci A., Ettinger J., Fine J. H., Chen P., Chou W., Carlyle J. R.: Cytomegalovirus evasion of innate immunity by subversion of the NKR-1B:Clr-b missing-self axis. *Immunity* 2007, 26, 617-627.
  46. Voigt V., Forbes C. A., Tonkin J. N., Degli-Esposti M. A., Smith H. R., Yokoyama W. M., Scalzo A. A.: Murine cytomegalovirus M157 mutation and variation leads to immune evasion of natural killer cells. *PNAS USA* 2003, 100, 13483-13488.
  47. Webb J. R., Lee S. H., Vidal S. M.: Genetic control of innate immune responses against cytomegalovirus: MCMV meets its match. *Genes Immun.* 2002, 3, 250-262.

Adres autora: prof. dr hab. Marek Niemiałtowski, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; e-mail: marek\_niemialtowski@sggw.pl