

NOWE MECHANIZMY AKTYWACJI KOMÓREK NK W PRZEBIEGU INFEKCJI WIRUSOWYCH*

NEW MECHANISMS OF NK CELLS ACTIVATION DURING VIRAL INFECTIONS

Tomasz Jerzy ŚLEBIODA, Lucyna KASZUBOWSKA, Zbigniew KMIEĆ

Katedra i Zakład Histologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie: Komórki NK (ang. *natural killer*) są limfocytami cytotoksycznymi, stanowiącymi istotny element nieswoistej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko nowotworom i komórkom zakażonym wirusami lub pasożytami. Ich funkcja jest ściśle regulowana przez receptory aktywujące i hamujące, przy czym proces aktywacji zależy od wypadkowego sygnałowania obu rodzajów receptorów. Przedstawione tutaj badania wykazały dużą złożoność mechanizmów regulujących aktywność komórek NK podczas infekcji wirusowej oraz wskazują na udział komórek NK w swoistej odpowiedzi immunologicznej.

Słowa kluczowe: komórki NK, infekcja, aktywacja, cytotoksyczność, komórki dendrytyczne, limfocyty T, swoista odpowiedź immunologiczna, nieswoista odpowiedź immunologiczna

Summary: Natural killer (NK) cells are cytotoxic lymphocytes which constitute a significant element of innate immune responses against tumours and cells infected with viruses or parasites. The function of NK cells is tightly regulated and depends on the balance between activating and inhibitory signals. This review focuses on the latest research showing a high redundancy of mechanisms regulating the activity of NK cells during viral infections and indicating their involvement in the adaptive immune response.

Key words: NK cells, infection, activation, cytotoxicity, dendritic cells, T cells, adaptive immunity, innate immunity

Wykaz stosowanych skrótów: **EBV** – (ang. *Epstein-Barr virus*) - wirus Epsteina-Barr; **HCMV** – (ang. *human cytomegalovirus*) - ludzki wirus cytomegalii; **HIV** – (ang. *human immunodeficiency virus*) – ludzki wirus niedoboru odporności; **HLA** – (ang. *human leukocyte antigen*) – antygen ludzkich leukocytów; **HSV** – (ang. *herpes simplex virus*) – wirus opryszczki pospolitej; **IFN** – interferon; **IL** – interleukina; **KIR** – (ang. *killer-cell immunoglobulin-like receptors*) - receptory komórek NK o strukturze podobnej do immunoglobulin; **KSHV** – (ang. *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus*) herpeswirus związany z mięsakiem Kaposiego; **MCMV** – (ang. *mouse cytomegalovirus*) - myszy wirus

*Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki,
projekt 2011/01/B/NZ5/01358

cytomegalii; **MHC** – (ang. *major histocompatibility complex*) - główny układ zgodności tkankowej; **MICA** – (ang. *MHC class I-related sequence A*) – związana z MHC klasy I sekwencja A; **MICB** – (ang. *MHC class I-related sequence B*) - związana z MHC klasy I sekwencja B; **MULT-1** - (ang. *murine UL-16-binding protein like transcript*) – gryzoni transkrypt podobny do białka wiążącego UL-16; **NTB-A** – (ang. *NK cell, T cell, B cell antigen*) – antygen komórek NK, limfocytów T i limfocytów B; **PAMP** – (ang. *pathogen-associated molecular patterns*) - wzorce molekularne związane z patogenami; **TCR** - (ang. *T cell receptor*) – receptor limfocytów T; **TRAIL** – (ang. *TNF-related apoptosis-inducing ligand*) – związany z TNF ligand indukujący apoptozę; **ULBP** – (ang. *cytomegalovirus UL-16-binding protein*) – białko wiążące glikoproteinę UL-16 wirusa cytomegalii; **VSV** - (ang. *vesicular stomatitis virus*) – wirus pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej

WSTĘP

Komórki NK (ang. *natural killer*) są limfocytami cytotoksycznymi, stanowiącymi istotny element nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Stanowią one 5-15% wszystkich limfocytów krwi obwodowej, chociaż w niektórych narządach (np. w wątrobie) może znajdować się ich więcej [15]. Komórki NK pełnią ważną rolę w odpowiedzi skierowanej przeciwko nowotworom oraz komórkom zakażonym wirusami lub pasożytami, zabijając je poprzez degranulację ziarnistości zawierających perforynę i granzymy oraz za pośrednictwem należących do nadrodziny czynnika martwicy nowotworu cząsteczek FasL i TRAIL, w podobny sposób jak cytotoksyczne limfocyty T [29, 33, 42]. Jednak w przeciwieństwie do nich, komórki NK nie posiadają receptora komórek T (TCR), ani cząsteczek CD3 [29]; z tego też względu działają nieswoiście, bez konieczności rozpoznawania antygenów prezentowanych przez cząsteczki MHC na komórkach docelowych, przez co rozpoczynają działanie jeszcze przed indukcją swoistej odpowiedzi immunologicznej, osiągając maksimum swojej aktywności już w ciągu 4-6 godzin po infekcji organizmu przez patogeny [25].

Do tej pory nie został zidentyfikowany żaden uniwersalny marker komórek NK, lecz u ludzi zwykle wykazują one stałą ekspresję cząsteczek CD16 oraz CD56, natomiast u myszy szczepów C57BL/6, FVB/N oraz NZB posiadają ekspresję antygenu NK1.1 [13]. Antygeny CD49b oraz asialo-GM1 służą do identyfikacji limfocytów NK w szczepach myszy, które nie wykazują na ich powierzchni ekspresji NK1.1 (np. w szczepie BALB/c [38]). Należy jednak mieć na uwadze, że ekspresja asialo-GM1 została wykryta również na subpopulacji limfocytów T pamięci o fenotypie CD44(high)CD8(+) [30].

Funkcja komórek NK jest ściśle regulowana przez receptory aktywujące i hamujące (tab. 1), przy czym uważa się, że ich aktywacja zależy od wypadkowego sygnałowania poprzez obydwa rodzaje receptorów, co pozwala uniknąć atakowania przez komórki NK niezmienionych komórek własnego organizmu [29]. Głównymi regulatorami aktywności komórek NK są cząsteczki MHC klasy I (MHC I), które są obecne na wszystkich jądrzastych komórkach

organizmu i tym samym umożliwiając komórkom NK rozpoznawanie zdrowych komórek własnego organizmu.

TABELA 1. Wybrane receptory aktywujące i hamujące komórek NK

TABLE 1. Selected activating and inhibitory receptors of NK cells

Nazwa receptora	Występowanie	Ligand	Uwagi	Literatura
Receptory aktywujące				
Ly49H	Mysz, szczep C57BL/6	Białko m157 wirusa MCMV	Rodzina Ly49	[6]
Ly49P	Mysz, szczep MA/My	Kompleks białka m04 wirusa MCMV i cząsteczki MHC I	Rodzina Ly49	[6]
NKp30	Człowiek	Siarczan heparanu		[15]
NKp44	Człowiek	Hemaglutynina wirusa grypy typu A	Obecny tylko na aktywowanych komórkach NK.	[15, 29, 46]
NKp46	Człowiek, mysz	Hemaglutynina wirusa grypy typu A, siarczan heparanu		[15, 29, 46]
CD94/ NKG2C	Człowiek, mysz, rezus	HLA-E	Heterodimer	[15, 29]
CD94/ NKG2E	Człowiek, mysz	HLA-E	Heterodimer	[15, 29]
NKG2D	Człowiek, mysz, rezus, szympan	MICA, MICB, ULBP, RAE-1, MULT-1, H60		[15, 46]
2DS1	Człowiek	HLA-C	Rodzina KIR	[15]
2DS3	Człowiek	HLA-C	Rodzina KIR	[15]
2DL4	Człowiek, szympan	HLA-G	Rodzina KIR	[15]
CD16	Człowiek	IgG		[15, 29]
Receptory hamujące				
Ly49A	Mysz, szczep C57BL/6	Kompleks białka m04 wirusa MCMV i cząsteczki MHC I	Rodzina Ly49	[6]
Ly49I	Mysz, szczep 129/J	Białko m157 wirusa MCMV	Rodzina Ly49	[6]
2DL1	Człowiek	HLA-C	Rodzina KIR	[15]
2DL2/3	Człowiek	HLA-C	Rodzina KIR	[15]
CD94/ NKG2A	Człowiek, mysz, rezus, szympan	HLA-E	Heterodimer	[15, 29]

Obniżenie ekspresji cząsteczek MHC I na komórkach nowotworowych lub zainfekowanych wirusem umożliwia skierowanie przeciwko nim odpowiedzi komórek NK [35]. Poszczególne allele MHC I są rozpoznawane przez odpowiednie receptory hamujące komórek NK, z których najpowszechniejsze są ludzkie receptory CD94/NKG2A i część receptorów z rodziny KIR, których odpowiednikiem u gryzoni są receptory z rodziny Ly49 [6, 15]. Jednak, aby docelowa komórka została zabita przez komórkę NK, musi ona posiadać nie tylko obniżoną ekspresję swoistych cząsteczek MHC I (lub nie posiadać jej wcale), lecz również komórka NK musi otrzymać odpowiedni sygnał ze swoich receptorów aktywujących. Receptorami takimi są u człowieka cząsteczki NKp30, NKp44, NKp46, CD16, jak też szereg receptorów należących do nadrodziny KIR (lub Ly49 u myszy) [6, 15]. Ekspresja ligandów dla receptorów aktywujących może być indukowana na komórkach docelowych dla komórek NK, lecz mogą one być także produkowane przez komórki pomocnicze, takie jak monocyty, makrofagi i komórki dendrytyczne w wyniku ich kontaktu z patogenami [41]. Możliwe jest również, że receptory aktywujące limfocytów NK wiążą bezpośrednio tzw. wzorce molekularne związane z patogenami (PAMPs, ang. *pathogen-associated molecular patterns*), takie jak niemetylowane sekwencje CpG lub cyklofilinę, charakterystyczne dla bakterii [42].

Zaobserwowano, że około 13% ludzkich komórek NK występujących we krwi obwodowej nie posiada na swojej powierzchni receptorów hamujących NKG2A [3]. Takie komórki charakteryzują się obniżoną odpowiedzią efektorową po stymulacji *in vitro* w porównaniu z komórkami NK, wykazującymi pełną ekspresję receptorów hamujących [3]. Przyczyną tego zjawiska jest prawdopodobnie brak oddziaływania receptorów hamujących z cząsteczkami MHC I, które jest konieczne do uzyskania pełnej aktywności przez komórki NK podczas ich dojrzewania w szpiku kostnym, w procesie określanym jako „licencjonowanie” (ang. *licensing*) [56]. W warunkach doświadczalnych, proces ten może zachodzić także we krwi obwodowej po transferze „nielicencjonowanych” komórek NK z myszy transgenicznych pozbawionych ekspresji MHC I do myszy typu dzikiego [18, 24].

UDZIAŁ KOMÓREK NK W SWOISTEJ ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ POPRZEZ INTERAKCJE Z KOMÓRKAMI DENDRYTYCZNYMI

Komórki NK uczestniczą w mechanizmach obrony przeciwwirusowej nie tylko bezpośrednio, niszcząc zainfekowane komórki, ale także pośrednio, wpływając na aktywację komórek zaangażowanych w swoistą odpowiedź immunologiczną. W ostatnich latach istotną rolę w aktywności komórek NK przypisuje się ich

wzajemnym oddziaływaniom z komórkami dendrytycznymi. Zostały one bliżej scharakteryzowane dzięki wykorzystaniu szczególnych szczepów myszy charakteryzujących się obecnością lub brakiem ekspresji wybranych receptorów aktywujących na komórkach NK. Robbins i wsp. [48] zaobserwowali u myszy, że zależne od komórek NK wczesne ograniczenie infekcji mysim wirusem cytomegalii (MCMV), kodującym izoformę białka m157 rozpoznawaną przez aktywujący receptor Ly49H na komórkach NK, jest związane z ograniczeniem aktywacji plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych u myszy szczepu Ly49H(+), lecz nie Ly49H(-). Podczas infekcji wirusowej, plazmacytoidalne komórki dendrytyczne są głównymi producentami interferonów (IFN) typu I w organizmie [46]. Cytokiny te indukują apoptozę komórek zakażonych wirusem [20] oraz przyczyniają się do zwiększenia aktywacji komórek NK, limfocytów T i B [9, 20, 28, 32], lecz w pewnych warunkach powodują zmniejszenie populacji limfocytów T CD8(+) działając immunosupresyjnie [7]. Podobny efekt został zaobserwowany również u myszy Ly49H(+) zainfekowanych wirusem MCMV, które w porównaniu do myszy Ly49H(-) posiadały mniejsze stężenie IFN typu I w surowicy krwi, większą ilość aktywowanych konwencjonalnych komórek dendrytycznych oraz większy stopień aktywacji i liczbę limfocytów T CD8(+) specyficznych względem wirusa MCMV [48]. Efekt ten został zmniejszony po podaniu myszom Ly49H(+) IFN typu I [48]. Wynika z tego, że wczesne ograniczenie produkcji IFN typu I poniżej poziomu immunosupresyjnego, będące konsekwencją zmniejszenia poziomu aktywacji plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych w wyniku ograniczenia infekcji wirusowej przez komórki NK, przyczynia się do zwiększenia swoistej odpowiedzi przeciwwirusowej, w której udział biorą konwencjonalne komórki dendrytyczne oraz limfocyty T CD8(+). Doświadczenia przeprowadzone *in vitro* przez Ing i Stevenson [23] pokazują, że bezpośrednie oddziaływanie pomiędzy komórkami NK wyizolowanymi z myszy zakażonych *Plasmodium chabaudi* AS a komórkami dendrytycznymi prowadzi do zwiększenia ekspresji cząsteczek kostymulujących dla limfocytów T (CD40 oraz CD86) na komórkach dendrytycznych; poza tym, komórki NK zwiększają również bezpośrednio proliferację oraz wydzielanie cytokin efektorowych przez limfocyty T CD4(+) typu Th1 [23].

Komórki NK mogą regulować przebieg swoistej odpowiedzi immunologicznej również pośrednio wpływając na proces prezentacji antygenów. Komórki dendrytyczne mogą dokonywać krzyżowej prezentacji (ang. *cross-presentation*) antygenów pochodzących z apoptotycznych komórek docelowych zabijanych przez komórki NK, co skutkuje zwiększeniem zakresu odpowiedzi immunologicznej z udziałem limfocytów T [31].

Z drugiej strony wykazano jednak, że komórki NK mogą również przyczyniać się do ograniczenia swoistej przeciwwirusowej odpowiedzi immunologicznej z udziałem limfocytów Th (CD4(+)) oraz Tc (CD8(+)), niszcząc komórki dendrytyczne zakażone wirusem i ograniczając w ten sposób liczbę komórek prezentujących antygen limfocytom T [2]. Z przedstawionych powyżej badań

wynika, że komórki NK wpływają na przebieg i zakres swoistej odpowiedzi immunologicznej poprzez interakcje z komórkami dendrytycznymi, przy czym ich rola w regulacji tego rodzaju odpowiedzi immunologicznej zależy w znacznej mierze od przebiegu infekcji.

ROLA KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH I LIMFOCYTÓW T W REGULACJI AKTYWACJI I FUNKCJI KOMÓREK NK

Aktywacja komórek NK zależy nie tylko od równowagi pomiędzy szlakami sygnalowania uruchamianymi przez receptory aktywujące i hamujące, ale również od oddziaływań komórek NK z komórkami dendrytycznymi w obwodowych narządach limfatycznych, w sposób nieco zbliżony do aktywacji limfocytów T. M.in. wykazano, że brak komórek dendrytycznych u myszy zainfekowanych wirusem HSV-1 skutkuje zaburzoną aktywacją komórek NK [26]. Komórki dendrytyczne zlokalizowane w węzłach chłonnych rozpoznają również IFN typu I wydzielane przez aktywne komórki NK, prezentując związaną ze swoim receptorem interleukinę (IL) 15, co aktywuje i zwiększa funkcje efektorowe spoczynkowych komórek NK na drodze bezpośredniego kontaktu [8, 11, 37]. Z kolei IL-18, również wydzielana przez komórki dendrytyczne, przyczynia się do aktywacji i zwiększenia produkcji IFN- γ przez komórki NK [14, 22], przy czym aktywacja komórek NK przez komórki dendrytyczne wymaga bezpośredniego kontaktu pomiędzy nimi [23].

W regulacji funkcji komórek NK biorą udział także świeżo aktywowane limfocyty T CD4(+), wydzielając IL-2 już po 6 godzinach od momentu wprowadzenia wirusa, co wzmacnia produkcję przez komórki NK interferonu gamma (IFN- γ), jednej z głównych cytokin efektorowych [10]. Oznacza to, że limfocyty T CD4(+) przyczyniają się do rozwoju nieswoistej odpowiedzi immunologicznej z udziałem komórek NK, jeszcze zanim same osiągną pełną aktywność. Aktywowane limfocyty T CD4(+), indukując dojrzewanie komórek dendrytycznych poprzez oddziaływanie CD40-CD40L, zwiększają również produkcję przez te komórki IL-12, kolejnej cytokiny przyczyniającej się do wzrostu produkcji IFN- γ przez komórki NK [10].

ROLA KOMÓREK NK W PAMIĘCI IMMUNOLOGICZNEJ

W ciągu ostatnich kilku lat opisano pewne właściwości komórek NK, które upodabniają je w pewnym stopniu do limfocytów T pamięci, będących elementem swoistej odpowiedzi immunologicznej i posiadających dwie główne cechy – specyficzność względem wybranego antygeny oraz zwiększoną odpowiedź po powtórным wystawieniu na działanie antygeny. O’Leary i wsp. [44] wykazali *in vivo*, że komórki NK myszy wykazują nadwrażliwość na działanie haptenu, które były uprzednio zastosowane do immunizacji myszy. Natomiast komórki NK

aktywowane *in vitro* zestawem cytokin, składającym się z IL-12, IL15 oraz IL-18 produkują znacznie większe ilości IFN- γ po ponownej restymulacji wymienionymi cytokinami, chociaż nie wykazują większej cytotoksyczności *in vitro* w porównaniu z komórkami kontrolnymi [16]. Z kolei transfer komórek NK z myszy immunizowanych białkami pochodzącymi z wirusa grypy lub inaktywowanym wirusem pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (VSV) do myszy nieimmunizowanych zapobiegał ich śmierci w wyniku infekcji wymienionymi wirusami [45]. U myszy zainfekowanych wirusem MCMV, komórki NK Ly49H(+) zachowują się w sposób analogiczny do efektorowych limfocytów T, czyli po rozpoczęciu infekcji podlegają intensywnej proliferacji, następnie ich populacja zmniejsza się, zaś po ponownej aktywacji większy ich odsetek ulega degranulacji oraz dochodzi do podwyższonej produkcji IFN- γ w porównaniu z komórkami aktywowanymi po raz pierwszy. Ponadto proliferacja komórek NK po reaktywacji jest znacznie szybsza niż podczas odpowiedzi pierwotnej [53, 54]. Podobne zjawisko zauważono również u ludzi zaszczepionych przeciwko wirusowi wścieklizny, których komórki NK charakteryzowały się znacznie silniejszą odpowiedzią po restymulacji *in vitro* w porównaniu z komórkami NK wyizolowanymi od ludzi nieszczepionych, przy czym odpowiedź ta była całkowicie zależna od IL-2, produkowanej przez limfocyty T CD4(+), oraz IL-12 i IL-18, produkowanych przez inne rodzaje komórek [21]. Wynika z tego, że komórki NK mogą stanowić swego rodzaju łącznik pomiędzy odpowiedzią swoistą, a nieswoistą. Poza tym, ponieważ nieswoista odpowiedź immunologiczna jest ewolucyjnie starsza od odpowiedzi swoistej, komórki NK mogą być uważane za ewolucyjnych przodków limfocytów T [53].

WIRUSOWE STRATEGIE OCHRONNE SKIEROWANE PRZECIW KOMÓRKOM NK

Szereg wirusów stosuje kilka strategii, umożliwiających im uniknięcie ataku ze strony komórek NK. Jedną z nich jest zmniejszanie ekspresji ligandów dla receptorów aktywujących komórki NK na powierzchni zakażonych komórek. Przykładowo, stymulacja receptora NKG2D powoduje powstanie bardzo silnego sygnału aktywującego, często silniejszego od sygnałów otrzymywanych z receptorów hamujących [34]. Ligandami dla NKG2D są zbliżone strukturalnie do MHC I cząsteczki MULT-1, RAE-1 oraz H60, których ekspresja pojawia się na powierzchni komórek nowotworowych, zakażonych wirusami lub poddanych działaniu czynników stresogennych [36]. Wykazano, że pochodzące z wirusa MCMV białko m152, wiążąc się bezpośrednio z RAE-1, uniemożliwia transfer cząsteczki RAE-1 z cystern szorstkiej siateczki endoplazmatycznej do aparatu Golgiego i tym samym zmniejsza jej ekspresję na powierzchni komórki [4, 57]. Z kolei wirusowe białka m145 i m155 zmniejszają ekspresję odpowiednio MULT-1 i H60, natomiast białko m138 hamuje ekspresję zarówno MULT-1, jak i H60 [6].

W genomie kilku herpeswirusów, w tym ludzkiego wirusa cytomegalii (HCMV), herpeswirusa związanego z mięsakiem Kaposiego (KSHV) oraz wirusa Epsteina-Barr (EBV), zakodowane są cząsteczki mikro RNA, powodujące zmniejszenie na zakażonych komórkach ekspresji białka MICB, kolejnego liganda dla receptora NKG2D [39, 40, 51, 52]. Z kolei komórki zainfekowane przez ortopokswirusy wydzielają rozpuszczalne ligandy dla NKG2D, których związanie powoduje internalizację receptora oraz może prowadzić do wysycenia receptora, uniemożliwiając tym samym wiązanie właściwych ligandów [12]. Zaobserwowano także, że komórki NK nie ulegają degranulacji w obecności limfocytów T CD4(+) zakażonych wirusem HIV-1 [50] pomimo tego, że pochodzące z tego wirusa białko Vpr indukuje ekspresję ligandów dla receptora NKG2D [47, 55], a wirusowe białko Nef zmniejsza ekspresję cząsteczek MHC I na powierzchni zakażonych komórek [43]. Przyczyną tego zjawiska jest obniżenie na powierzchni zakażonych limfocytów T CD4(+) ekspresji białka NTB-A, zachodzące z udziałem wirusowego białka Vpu [49, 55]. NTB-A jest szczególnym przypadkiem receptora aktywującego komórki NK, który wiąże się innymi białkami NTB-A, obecnymi na powierzchni komórek zakażonych wirusami. Aktywacja samego receptora NTB-A nie jest wystarczająca do indukcji degranulacji komórek NK. Aby do tego doszło, NTB-A musi zostać aktywowany równocześnie z receptorem NKG2D, stąd NTB-A jest często określany jako „receptor koaktywujący” [49].

UDZIAŁ KOMÓREK NK W MECHANIZMACH OBRONY ANTYWIRUSOWEJ U MYSZY

Pomimo przedstawionych powyżej mechanizmów obronnych wirusów, komórki NK są w jednak stanie kontrolować część infekcji wirusowych. Przykładowo, myszy szczepu C57BL/6 są całkowicie odporne na zakażenie wirusem MCMV szczepów Smith oraz K181 [6, 17]. Podczas wczesnej fazy infekcji, wirusowe białko m157 ulega ekspresji na powierzchni komórek zakażonych wirusem MCMV i jest rozpoznawane przez aktywujący receptor Ly49H komórek NK myszy C57BL/6 [17], co w połączeniu z obniżoną ekspresją cząsteczek MHC I na zakażonych komórkach prowadzi do aktywacji komórek NK, zniszczenia zakażonych komórek i powstrzymania dalszego rozwoju infekcji w myszy szczepu C57BL/6 typu dzikiego [19]. Natomiast u myszy C57BL/6 pozbawionych receptora Ly46H, infekcja wirusem MCMV charakteryzuje się intensywnym wyrzutem cytokin prozapalnych (IFN- α/β , IFN- γ , IL-12) oraz szybką replikacją wirusa w śledzionie, prowadzącą do zaburzenia jej struktury histologicznej i w konsekwencji do śmierci zakażonych zwierząt [19]. Wykazano także, że receptor Ly49H jest konieczny do skutecznej ochrony myszy przed zakażeniem wirusem ospy mysiej (ECTV) [19]. Istotną rolę w odpowiedzi na obecność wirusa odgrywa także ekspresja odpowiednich receptorów hamujących

i aktywujących komórek NK. Na przykład u myszy szczepu 129/J wirusowe białko m157 pełni przeciwną rolę niż u myszy szczepu C57BL/6. Wiąże się ono u nich z hamującym receptorem Ly49I na komórkach NK, którego brak u myszy C57BL/6, biorąc udział w hamowaniu odpowiedzi komórek NK przeciwko wirusowi MCMV [6]. Ponadto, sekwencja aminokwasowa i struktura białka m157 są odmienne w różnych szczepach wirusa MCMV [1, 17], co może być dodatkową przyczyną zmiennego powinowactwa m157 do receptorów komórek NK. Dane te sugerują także, że myszy C57BL/6 prawdopodobnie mogą być podatne na zakażenie wirusami MCMV, których izoforma białka m157 jest inna niż w szczepach Smith oraz K181 i wykazuje powinowactwo do receptorów hamujących. W ostatnim czasie przeprowadzono badania z wykorzystaniem rekombinowanego wirusa MCMV, kodującego izoformę białka m157 (m157^{G1F}), która wiąże się zarówno do receptorów aktywujących Ly49H, jak i do receptorów hamujących Ly49C, występujących na komórkach NK myszy szczepu C57BL/6 [17]. Badania te wykazały, że oddziaływanie pomiędzy m157^{G1F} a Ly49C nie obniża odporności myszy C57BL/6 na zakażenie tym wirusem [17]. W tych warunkach wypadkowym efektem infekcji była aktywacja komórek NK, wynikająca z oddziaływań pomiędzy m157^{G1F} a Ly49H [16]. Tak więc oddziaływanie niektórych izoform białek wirusowych z receptorami hamującymi komórek NK nie zawsze prowadzi do obniżenia aktywności komórek NK, ponieważ zależy ona od zestawu receptorów hamujących i aktywujących obecnych na ich powierzchni (Tabela 1). W innym układzie doświadczalnym [5] wykazano, że aktywujący receptor Ly49P komórek NK myszy szczepu MA/My, również odpornych na zakażenie wirusem MCMV, wiąże pochodzącą z tego wirusa glikoproteinę m04 w połączeniu z cząsteczkami MHC klasy I. Pomimo nie dochodzi jednak do ich aktywacji, co prowadzi do rozprzestrzeniania się wirusa i rozwoju infekcji [6]. Do skutecznej aktywacji komórek NK wymagane jest prawdopodobnie rozpoznanie również innych, niezidentyfikowanych jeszcze białek wirusowych przez komórki NK [6]. W innym jeszcze szczepie myszy, BALB.K, komórki NK nie są w stanie kontrolować infekcji wirusa MCMV we wczesnej fazie (do drugiego dnia), ponieważ kompleks m04/MHC I jest rozpoznawany przez receptory hamujące Ly49A limfocytów NK. Dopiero po sześciu dniach infekcji zaobserwowano specyficzną proliferację klonu limfocytów NK, posiadających aktywujący receptor Ly49L wiążący się z kompleksem m04/MHC I, które skutecznie eliminowały komórki zakażone wirusem [6].

PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej badania wykazały wielką złożoność mechanizmów regulujących aktywność komórek NK podczas infekcji wirusowych, wskazując jednocześnie na konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku. Ich dokładne poznanie może przyczynić się do opracowania nowych schematów

szczepień oraz leczenia zakażeń wirusowych. Rzucają one także nowe światło na udział komórek NK w przebiegu odpowiedzi immunologicznej. Do tej pory uważano, że są one zaangażowane jedynie w nieswoistą odpowiedź immunologiczną oraz, że o ich aktywacji decyduje jedynie sygnałowanie receptorów hamujących i aktywujących, stymulowanych ligandami obecnymi na powierzchni komórek docelowych. Badania, których wyniki zostały zaprezentowane w przeciągu ostatnich pięciu lat wykazują jednak, że ligandy aktywujące komórki NK mogą być produkowane również przez komórki dodatkowe, takie jak monocyty, makrofagi lub komórki dendrytyczne [41]. Komórki NK wchodzą także w interakcje z komórkami dendrytycznymi i limfocytami T, wzajemnie regulując w ten sposób swoją aktywność [2, 23, 29, 46] [2, 23, 31, 48]. Poza tym, komórki NK wykazują szereg cech charakterystycznych dla komórek pamięci immunologicznej, stanowiącej cechę odpowiedzi nabytej [16, 21, 27, 44, 45, 53, 54]. Wynika z tego, że wbrew wcześniejszym założeniom, komórki NK są zaangażowane również w przebieg swoistej odpowiedzi immunologicznej, stanowiąc swego rodzaju ogniwo łączące oba rodzaje odpowiedzi.

LITERATURA

- [1] ADAMS EJ, JUO ZS, VENOOK RT, BOULANGER MJ, ARASE H, LANIER LL, GARCIA KC. Structural elucidation of the m157 mouse cytomegalovirus ligand for Ly49 natural killer cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; **104**: 10128-10133.
- [2] ANDREWS DM, ESTCOURT MJ, ANDONIOU CE, WIKSTROM ME, KHONG A, VOIGT V, FLEMING P, TABARIAS H, HILL GR, VAN DER MOST RG, SCALZO AA, SMYTH MJ, DEGLIESPOSTI MA. Innate immunity defines the capacity of antiviral T cells to limit persistent infection. *J Exp Med* 2010; **207**: 1333-1343.
- [3] ANFOSSI N, ANDRE P, GUIDA S, FALK CS, ROETYNCK S, STEWART CA, BRESO V, FRASSATI C, REVIRON D, MIDDLETON D, ROMAGNE F, UGOLINI S, VIVIER E. Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class I. *Immunity* 2006; **25**: 331-342.
- [4] ARAPOVIC J, LENAC T, ANTULOV R, POLIC B, RUZSICS Z, CARAYANNOPOULOS LN, KOSZINOWSKI UH, KRMPOTIC A, JONJIC S. Differential susceptibility of RAE-1 isoforms to mouse cytomegalovirus. *J Virol* 2009; **83**: 8198-8207.
- [5] BABIC M, PYZIK M, ZAFIROVA B, MITROVIC M, BUTORAC V, LANIER LL, KRMPOTIC A, VIDAL SM, JONJIC S. Cytomegalovirus immunoevasin reveals the physiological role of "missing self" recognition in natural killer cell dependent virus control in vivo. *J Exp Med* 2010; **207**: 2663-2673.
- [6] BABIC M, KRMPOTIC A, JONJIC S. All is fair in virus-host interactions: NK cells and cytomegalovirus. *Trends Mol Med* 2011; **17**(11): 677-685.
- [7] BAHL K, KIM SK, CALCAGNO C, GHERSI D, PUZONE R, CELADA F, SELIN LK, WELSH RM. IFN-induced attrition of CD8 T cells in the presence or absence of cognate antigen during the early stages of viral infections. *J Immunol* 2006; **176**: 4284-4295.
- [8] BAJENOFF M, BREART B, HUANG AY, QI H, CAZARETH J, BRAUD VM, GERMAIN RN, GLAICHENHAUS N. Natural killer cell behavior in lymph nodes revealed by static and real-time imaging. *J Exp Med* 2006; **203**: 619-631.
- [9] BANCHEREAU J, PASCUAL V. Type I interferon in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. *Immunity* 2006; **25**: 383-392.

- [10] BIHL F, PECHEUR J, BREART B, POUPON G, CAZARETH J, JULIA V, GLAICHENHAUS N, BRAUD VM. Primed antigen-specific CD4⁺ T cells are required for NK cell activation in vivo upon *Leishmania major* infection. *J Immunol* 2010; **185**: 2174-2181.
- [11] BOUDREAU JE, STEPHENSON KB, WANG F, ASHKAR AA, MOSSMAN KL, LENZ LL, ROSENTHAL KL, BRAMSON JL, LICHTY BD, WAN Y. IL-15 and type I interferon are required for activation of tumoricidal NK cells by virus-infected dendritic cells. *Cancer Res* 2011; **71**: 2497-2506.
- [12] CAMPBELL JA, TROSSMAN DS, YOKOYAMA WM, CARAYANNOPOULOS LN. Zoonotic orthopoxviruses encode a high-affinity antagonist of NKG2D. *J Exp Med* 2007; **204**: 1311-1317.
- [13] CARLYLE JR, MESCI A, LJUTIC B, BELANGER S, TAI LH, ROUSSELLE E, TROKE AD, PROTEAU MF, MAKRIGIANNIS AP. Molecular and genetic basis for strain-dependent NK1.1 alloreactivity of mouse NK cells. *J Immunol* 2006; **176**: 7511-7524.
- [14] CHAIX J, TESSMER MS, HOEBE K, FUSERI N, RYFFEL B, DALOD M, ALEXOPOULOU L, BEUTLER B, BROSSAY L, VIVIER E, WALZER T. Cutting edge: Priming of NK cells by IL-18. *J Immunol* 2008; **181**: 1627-1631.
- [15] CHEENT K, KHAKOO SI. Natural killer cells: integrating diversity with function. *Immunology* 2009; **126**: 449-457.
- [16] COOPER MA, ELLIOTT JM, KEYEL PA, YANG L, CARRERO JA, YOKOYAMA WM. Cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 1915-1919.
- [17] CORBETT AJ, COUDERT JD, FORBES CA, SCALZO AA. Functional consequences of natural sequence variation of murine cytomegalovirus m157 for Ly49 receptor specificity and NK cell activation. *J Immunol* 2011; **186**: 1713-1722.
- [18] ELLIOTT JM, WAHLE JA, YOKOYAMA WM. MHC class I-deficient natural killer cells acquire a licensed phenotype after transfer into an MHC class I-sufficient environment. *J Exp Med* 2010; **207**: 2073-2079.
- [19] FODIL-CORNU N, LEE SH, BELANGER S, MAKRIGIANNIS AP, BIRON CA, BULLER RM, VIDAL SM. Ly49h-deficient C57BL/6 mice: a new mouse cytomegalovirus-susceptible model remains resistant to unrelated pathogens controlled by the NK gene complex. *J Immunol* 2008; **181**: 6394-6405.
- [20] GARCIA-SASTRE A, BIRON CA. Type 1 interferons and the virus-host relationship: a lesson in detente. *Science* 2006; **312**: 879-882.
- [21] HOROWITZ A, BEHRENS RH, OKELL L, FOOKS AR, RILEY EM. NK cells as effectors of acquired immune responses: effector CD4⁺ T cell-dependent activation of NK cells following vaccination. *J Immunol* 2010; **185**: 2808-2818.
- [22] HUMANN J, LENZ LL. Activation of naive NK cells in response to *Listeria monocytogenes* requires IL-18 and contact with infected dendritic cells. *J Immunol* 2010; **184**: 5172-5178.
- [23] ING R, STEVENSON MM. Dendritic cell and NK cell reciprocal cross talk promotes gamma interferon-dependent immunity to blood-stage *Plasmodium chabaudi* AS infection in mice. *Infect Immun* 2009; **77**: 770-782.
- [24] JONCKER NT, SHIFRIN N, DELEBECQUE F, RAULET DH. Mature natural killer cells reset their responsiveness when exposed to an altered MHC environment. *J Exp Med* 2010; **207**: 2065-2072.
- [25] KAPETANOVIC R, CAVAILLON JM. Early events in innate immunity in the recognition of microbial pathogens. *Expert Opin Biol Ther* 2007; **7**: 907-918.
- [26] KASSIM SH, RAJASAGI NK, ZHAO X, CHERVENAK R, JENNINGS SR. In vivo ablation of CD11c-positive dendritic cells increases susceptibility to herpes simplex virus type 1 infection and diminishes NK and T-cell responses. *J Virol* 2006; **80**: 3985-3993.
- [27] KASZUBOWSKA L, ŚLEBIODA, T., J., FOERSTER, J., KMIEĆ, Z. Znaczenie komórek NK w procesie starzenia fizjologicznego. *Post Biol Kom* 2012; **39**: 119-133.
- [28] KOLUMAM GA, THOMAS S, THOMPSON LJ, SPRENT J, MURALI-KRISHNA K. Type I interferons act directly on CD8 T cells to allow clonal expansion and memory formation in response to viral infection. *J Exp Med* 2005; **202**: 637-650.
- [29] KOPEĆ-SZŁĘŻAK J, PODSTAWKA, U. Biologia komórek NK (Natural Killer). *Onkol Pol* 2007; **10**: 115-119.

- [30] KOSAKA A, WAKITA D, MATSUBARA N, TOGASHI Y, NISHIMURA S, KITAMURA H, NISHIMURA T. AsialoGM1+CD8+ central memory-type T cells in unimmunized mice as novel immunomodulator of IFN-gamma-dependent type 1 immunity. *Int Immunol* 2007; **19**: 249-256.
- [31] KREBS P, BARNES MJ, LAMPE K, WHITLEY K, BAHJAT KS, BEUTLER B, JANSSEN E, HOEBE K. NK-cell-mediated killing of target cells triggers robust antigen-specific T-cell-mediated and humoral responses. *Blood* 2009; **113**: 6593-6602.
- [32] LE BON A, TOUGH DF. Type I interferon as a stimulus for cross-priming. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; **19**: 33-40.
- [33] LEUNG W. Use of NK cell activity in cure by transplant. *Br J Haematol* 2011;
- [34] LISNIC VJ, KRMPOTIC A, JONJIC S. Modulation of natural killer cell activity by viruses. *Curr Opin Microbiol* 2010; **13**: 530-539.
- [35] LODOEN MB, LANIER LL. Natural killer cells as an initial defense against pathogens. *Curr Opin Immunol* 2006; **18**: 391-398.
- [36] LOPEZ-LARREA C, SUAREZ-ALVAREZ B, LOPEZ-SOTO A, LOPEZ-VAZQUEZ A, GONZALEZ S. The NKG2D receptor: sensing stressed cells. *Trends Mol Med* 2008; **14**: 179-189.
- [37] LUCAS M, SCHACHTERLE W, OBERLE K, AICHELE P, DIEFENBACH A. Dendritic cells prime natural killer cells by trans-presenting interleukin 15. *Immunity* 2007; **26**: 503-517.
- [38] MOORE ML, CHI MH, GOLENIEWSKA K, DURBIN JE, PEEBLES RS, JR. Differential regulation of GM1 and asialo-GM1 expression by T cells and natural killer (NK) cells in respiratory syncytial virus infection. *Viral Immunol* 2008; **21**: 327-339.
- [39] NACHMANI D, STERN-GINOSSAR N, SARID R, MANDELBOIM O. Diverse herpesvirus microRNAs target the stress-induced immune ligand MICB to escape recognition by natural killer cells. *Cell Host Microbe* 2009; **5**: 376-385.
- [40] NACHMANI D, LANKRY D, WOLF DG, MANDELBOIM O. The human cytomegalovirus microRNA miR-UL112 acts synergistically with a cellular microRNA to escape immune elimination. *Nat Immunol* 2010; **11**: 806-813.
- [41] NEWMAN KC, KORBEL DS, HAFALLA JC, RILEY EM. Cross-talk with myeloid accessory cells regulates human natural killer cell interferon-gamma responses to malaria. *PLoS Pathog* 2006; **2**: e118.
- [42] NEWMAN KC, RILEY EM. Whatever turns you on: accessory-cell-dependent activation of NK cells by pathogens. *Nat Rev Immunol* 2007; **7**: 279-291.
- [43] NOVIELLO CM, BENICHOUS S, GUATELLI JC. Cooperative binding of the class I major histocompatibility complex cytoplasmic domain and human immunodeficiency virus type 1 Nef to the endosomal AP-1 complex via its mu subunit. *J Virol* 2008; **82**: 1249-1258.
- [44] O'LEARY JG, GOODARZI M, DRAYTON DL, VON ANDRIAN UH. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nat Immunol* 2006; **7**: 507-516.
- [45] PAUST S, GILL HS, WANG BZ, FLYNN MP, MOSEMAN EA, SENMAN B, SZCZEPANIK M, TELENTI A, ASKENASE PW, COMPANS RW, VON ANDRIAN UH. Critical role for the chemokine receptor CXCR6 in NK cell-mediated antigen-specific memory of haptens and viruses. *Nat Immunol* 2010; **11**: 1127-1135.
- [46] RAULET DH, GUERRA N. Oncogenic stress sensed by the immune system: role of natural killer cell receptors. *Nat Rev Immunol* 2009; **9**: 568-580.
- [47] RICHARD J, SINDHU S, PHAM TN, BELZILE JP, COHEN EA. HIV-1 Vpr up-regulates expression of ligands for the activating NKG2D receptor and promotes NK cell-mediated killing. *Blood* 2010; **115**: 1354-1363.
- [48] ROBBINS SH, BESSOU G, CORNILLON A, ZUCCHINI N, RUPP B, RUZSICS Z, SACHER T, TOMASELLO E, VIVIER E, KOSZINOWSKI UH, DALOD M. Natural killer cells promote early CD8 T cell responses against cytomegalovirus. *PLoS Pathog* 2007; **3**: e123.
- [49] SHAH AH, SOWRIRAJAN B, DAVIS ZB, WARD JP, CAMPBELL EM, PLANELLES V, BARKER E. Degranulation of natural killer cells following interaction with HIV-1-infected cells is hindered by downmodulation of NTB-A by Vpu. *Cell Host Microbe* 2010; **8**: 397-409.
- [50] SOWRIRAJAN B, BARKER E. The Natural Killer Cell Cytotoxic Function Is Modulated by HIV-1 Accessory Proteins. *Viruses* 2011; **3**: 1091-1111.
- [51] STERN-GINOSSAR N, ELEFANT N, ZIMMERMANN A, WOLF DG, SALEH N, BITON M, HORWITZ E, PROKOCIMER Z, PRICHARD M, HAHN G, GOLDMAN-WOHL D, GREENFIELD

- C, YAGEL S, HENGEL H, ALTUVIA Y, MARGALIT H, MANDELBOIM O. Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science* 2007; **317**: 376-381.
- [52] STERN-GINOSSAR N, GUR C, BITON M, HORWITZ E, ELBOIM M, STANIETSKY N, MANDELBOIM M, MANDELBOIM O. Human microRNAs regulate stress-induced immune responses mediated by the receptor NKG2D. *Nat Immunol* 2008; **9**: 1065-1073.
- [53] SUN JC, BEILKE JN, LANIER LL. Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature* 2009; **457**: 557-561.
- [54] UGOLINI S, VIVIER E. Immunology: Natural killer cells remember. *Nature* 2009; **457**: 544-545.
- [55] WARD J, DAVIS Z, DEHART J, ZIMMERMAN E, BOSQUE A, BRUNETTA E, MAVILIO D, PLANELLES V, BARKER E. HIV-1 Vpr triggers natural killer cell-mediated lysis of infected cells through activation of the ATR-mediated DNA damage response. *PLoS Pathog* 2009; **5**: e1000613.
- [56] YOKOYAMA WM, KIM S. Licensing of natural killer cells by self-major histocompatibility complex class I. *Immunol Rev* 2006; **214**: 143-154.
- [57] ZHI L, MANS J, PASKOW MJ, BROWN PH, SCHUCK P, JONJIC S, NATARAJAN K, MARGULIES DH. Direct interaction of the mouse cytomegalovirus m152/gp40 immunoevasin with RAE-1 isoforms. *Biochemistry* 2010; **49**: 2443-2453.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 08.12.2011

Przyjęto: 29.12.2011

Dr Tomasz Jerzy Ślebioda

Katedra i Zakład Histologii

Gdański Uniwersytet Medyczny

ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk

tel.: 58 349 14 32

fax: 58 349 14 19

e-mail: t.slebioda@gumed.edu.pl