

ОБЗОРЫ

Естественные киллеры. Взгляд ревматолога

Е.В. Супоницкая

ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

В 1975 г. в лимфоидной ткани крыс и мышей была обнаружена цитотоксическая активность нового типа. Ее необычность заключалась в том, что она была направлена против широкого спектра лейкозных, вирус-инфицированных и опухолевых клеток-мишеней и существовала без предшествующей иммунизации или активации *in vitro*. Поэтому она получила название естественная киллерная активность, а обладающие ею клетки — естественные киллеры (ЕК) [1].

ЕК — это лимфоциты, которые относятся к врожденной системе иммунитета. Они развиваются в костном мозге из общего предшественника лимфоидных клеток и являются более крупными, чем В- и Т-лимфоциты. Среди ЕК, фенотип которых характеризует экспрессия CD56⁺ CD3⁻, выделено два субтипа: CD56^{dim} CD16⁺ и CD56^{bright} CD16⁻, отличающихся по функциям и поверхностным маркерам.

Около 95% популяции ЕК относится к субтипу CD56^{dim} CD16⁺ и обладает цитолитической функцией. Эти клетки содержат гранзимы и перфорин, являющийся медиатором цитотоксичности [2]. ЕК могут непосредственно лизировать клетки-мишени, причем механизм тот же, что и у цитотоксических Т-лимфоцитов при адаптивном иммунном ответе: цитотоксические гранулы выходят на поверхность клетки-мишени, и эффекторные белки, которые они содержат, через клеточную мембрану проникают внутрь клетки, индуцируя программируемую клеточную смерть [3].

Другой, меньший по численности (5%) субтип ЕК — CD56^{bright} CD16⁻ обладает способностью секретировать в результате активации большое количество интерферона — гамма (ИФН- γ) и фактора некроза опухоли β (ФНО- β). Эти клетки экспрессируют маркеры, характеризующиеся тропизмом к периферическим лимфоидным органам, а именно CCR7 и CD62L, содержат существенно меньшее количество перфорина и имеют регуляторную функцию, то есть могут контролировать макрофаги, дендритные клетки и Т-лимфоциты за счет продукции ИФН- γ [2].

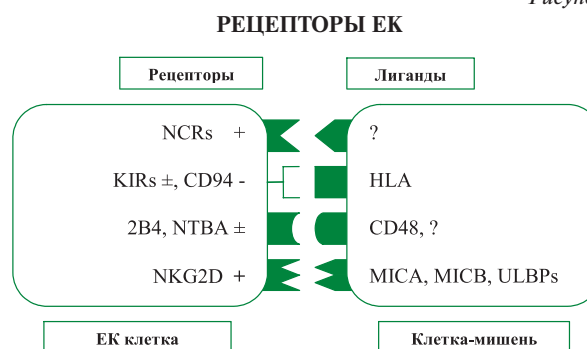
ЕК являются первой линией обороны против опухолевого роста [4], вирусной инфекции [5], а также участвуют в реакции отторжения трансплантата [6]. Несмотря на то, что основные функции ЕК были хорошо известны, долгие годы оставался загадкой механизм толерантности к собственным тканям — селф-толерантность (self-tolerance), позволяющий ЕК выявлять поврежденные, а не нормальные клетки.

В 1986 г. Н.G. Ljunggren и К. Kärre сформулировали гипотезу, объясняющую это явление, и назвали ее «потеря своего» («missing self» hypothesis): ЕК распознают отсутствие молекул основного комплекса гистосовместимости человека (major histocompatibility complex, МНС) на поверхности клеток-мишеней и лизируют их [7].

Молекулярные и клеточные механизмы селф-толерантности до сих пор изучены недостаточно. В одной из моделей, объясняющих это явление, предполагается, что во время своего развития в костном мозге рецепторы ЕК, контактируя с молекулами МНС класса I, проходят «обучение», или лицензирование (licensing). В результате ЕК становятся не только толерантными к собственным тканям, но и приобретают полные функциональные свойства и способность активироваться под воздействием триггерных механизмов [8].

В отличие от Т- и В-лимфоцитов, на поверхности которых находятся рецепторы к одному антигену (один рецептор — один антиген), на ЕК присутствуют рецепторы, различные по своим функциональным свойствам: ингибирующие и стимулирующие (рис.1) [9].

Рисунок 1



Примечание: «+» стимулирующие рецепторы, «-» ингибирующие [9]. Пояснения в тексте.

Адрес: 115522 Москва, Каширское шоссе, 34а,
ГУ Институт ревматологии РАМН
Тел/факс: 8-499-614-44-90

Таким образом, «обученные», или лицензированные, ЕК несут на своей мембране ингибирующие рецепторы HLA класса I, к которым относятся киллер-иммуноглобулино-подобные рецепторы (КИР). КИР распознают различные аллельные группы молекул HLA -A, B и C. Другой тип рецепторов, специфичный для распознавания HLA-E, представлен CD94/NKG2A группой. Каждый субтип ЕК экспрессирует, как минимум, один КИР, в результате чего целый пул ЕК способен выявлять отсутствие даже единственного аллеля HLA класса I на клетках-мишенях, что часто встречается на вирус-инфицированных и опухолевых клетках [10].

Группа стимулирующих рецепторов представляет естественные цитотоксические рецепторы (ЕЦР), включающие NKp30, NKp46 и NKp44. Причем NKp30 и NKp46 являются высокоспецифичными маркерами ЕК, позволяющими идентифицировать как покоящиеся, так и активные ЕК. На сегодняшний день доказана роль ЕЦР в цитолизе большинства опухолевых клеточных линий. Хотя ЕЦР-лиганды еще не обнаружены, предполагается, что они первично экспрессируются быстро пролиферирующими, цитокин-активированными, а также поврежденными опухолевой/вирусной трансформацией клетками [11].

Еще один стимулирующий рецептор, NKG2D, выявляется не только на поверхности ЕК, но и на цитотоксических Т-лимфоцитах. Его лиганды — это группа стресс-индуцируемых белков: MICА, MICВ и ULBP, которые экспрессируются, главным образом, на клетках эпителиальной природы. К стимулирующим рецепторам относятся и определенные субклассы КИР [11].

Кроме того, на мембране ЕК обнаружена особая группа ко-рецепторов, включающая недавно выявленный NTB-A с неизвестным пока лигандом и 2B4 с CD48-лигандом, который экспрессируется гематопозитическими клетками. В зависимости от стимуляции различными цитокинами данные ко-рецепторы способны увеличивать/уменьшать функционирование других рецепторов ЕК [11].

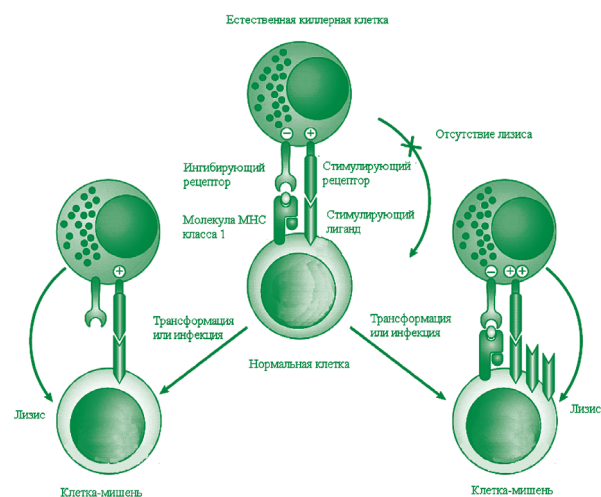
Цитотоксическая активность ЕК зависит от результата взаимодействия стимулирующих/ингибирующих рецепторов и их лигандов на клетках-мишенях. Лизис нормальной клетки не происходит, если существует баланс между действием ингибирующих и стимулирующих рецепторов ЕК. ЕК лизирует клетки-мишени при активации ее стимулирующих рецепторов. Это возникает при отсутствии молекул МНС класса I на клетке-мишени (когда нет «уравновешивающего» действия ингибирующего рецептора) и/или при гиперэкспрессии на ее поверхности стимулирующих лигандов (когда активация стимулирующего рецептора ЕК чрезмерна), например, при опухолевой (вирусной) трансформации (рис.2) [12].

Кроме того, существует и второй, цитокин-опосредованный, путь активации ЕК, не зависящий

от экспрессии молекул МНС на клетке-мишени, который заключается в способности ЕК вырабатывать провоспалительные цитокины, в том числе ИФН- γ , в ответ на стимуляцию другими цитокинами, например, интерлейкинами (ИЛ) 12 и ИЛ 18 [13].

Рисунок 2

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СТИМУЛИРУЮЩИХ/ИНГИБИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ И ЛИГАНДОВ ЕК [12]



Потеря селф-толерантности ЕК и нарушение баланса между стимулирующими и ингибирующими рецепторами может служить факторами риска развития аутоиммунных заболеваний. Например, чрезмерная активация стимулирующих КИР на поверхности ЕК при неадекватном функционировании ингибирующих рецепторов той же группы отмечается при системной склеродермии [14] и васкулите при ревматоидном артрите (РА) [15]. Кроме того, при РА на пролиферирующих синовиоцитах выявлена гиперэкспрессия стресс-индуцируемого лиганда MICА, а на CD4+ Т лимфоцитах в синовиальной ткани и крови — экспрессия NKG2D, стимулирующего рецептора ЕК, отсутствующего на нормальных CD4 Т клетках. Предполагается, что anomalous экспрессия NKG2D и его лиганда MICА приводит к постоянной ко-стимуляции CD4+ Т лимфоцитов, поддерживающих хроническое воспаление [16], а также к активации ЕК и дисрегуляции продукции провоспалительных цитокинов [13].

В ряде ранних исследований изучалось потенциальное участие ЕК в развитии РА [17, 18]. Действительно, в синовиальной жидкости пациентов с РА определялись ЕК-подобные лимфоциты, однако данные о цитотоксичности этих клеток были противоречивы. Следует учесть, что все эти работы были выполнены еще до открытия рецепторного аппарата ЕК, регулирующего их активность.

Тем не менее роль ЕК и их участие в аутоиммунном воспалении неясны до сих пор. Это весьма

интригующий факт, поскольку эти клетки, а именно регуляторный субтип CD56^{bright} CD16⁻, в большом количестве (8-16 % от всех лимфоцитов) были обнаружены в синовиальной жидкости пациентов на самых ранних стадиях РА и анкилозирующего спондилоартрита (АС) [19, 20]. Предполагается, что под воздействием ИЛ 12 и ИЛ 15, присутствующих в воспаленном суставе, ЕК секретируют ИФН- γ , который является сильным индуктором активации макрофагов. В свою очередь, активированные макрофаги продуцируют фактор некроза опухоли-альфа (ФНО)- α , поддерживающий хроническое воспаление в суставе. Кроме того, на экспериментальных моделях *in vitro* было показано, что ЕК способны контролировать Т-клеточную активацию, являющуюся центральным звеном в патогенезе РА [21]. При экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите деплеция ЕК, предшествующая иммунизации мышей миелиновым пептидом, приводила не только к усилению активности болезни, но и к ее рецидивированию [22]. У крыс также доказана способность ЕК подавлять антиген-специфический Т-клеточный ответ [23]. Однако недостаточно изучено, каким образом ЕК осуществляют иммунорегуляторные функции. К возможным механизмам относят перфорин-зависимый лизис аутореактивных лимфоцитов, ингибирование пролиферации эффекторных Т-клеток и продукции ими цитокинов [13].

Действительно, недавние данные показали связь дефицита ЕК с развитием аутоиммунного тиреоидита [24] и псориаза [25], а также с детской ревматической патологией: ювенильным дерматомиозитом [26], ЮРА [27] и системной красной волчанкой (СКВ) [28]. Кроме того, выявлено, что снижение функциональной активности и количества ЕК коррелирует с периодами активности СКВ [29] и системной склеродермии [30], что может

свидетельствовать об иммунорегуляторной роли ЕК в патогенезе этих заболеваний. Однако не совсем понятно, первичны ли нарушения функций и снижение числа ЕК или они являются следствием самой болезни. Не исключено, что ЕК могут концентрироваться преимущественно в тканях-мишенях, и снижение их количества в крови больного будет вторично. Это предположение становится вероятным, так как у пациентов с герпетической инфекцией выявляется тотальный дефицит ЕК [31], а одним из характерных клинических проявлений ЕК-лимфоцитоза и лейкемии, относящихся к группе хронических лимфопролиферативных заболеваний, является аутоиммунный синдром: васкулит, часто манифестирующий поражением кожи [32], и РА [33, 34]. У пациентов с первичным изолированным дефицитом ЕК клиническую картину заболевания чаще всего осложняли вирусные инфекции, а не аутоиммунный синдром [35]. Эти наблюдения могут свидетельствовать о том, что дефицит ЕК, имеющийся в крови пациентов с системной аутоиммунной патологией, вторичен и связан с накоплением ЕК в тканях-мишенях [13].

Таким образом, благодаря достижениям молекулярной биологии стало известно много нового о природе ЕК и их возможном участии в патогенезе ревматических заболеваний. На сегодняшний день объектом пристального исследования остаются рецепторные взаимоотношения, от которых, в конечном итоге, зависит функциональная активность ЕК. Лучшее понимание свойств рецепторов ЕК и их физиологических функций поможет определить их роль в развитии аутоиммунной патологии.

Автор выражает признательность д-ру, профессору Я.А. Сигидину за рецензирование рукописи и ценные замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Herberman R.B., Nunn M.E., Lavrin D.H. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic acid allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int. J. Cancer*, 1975, 16, 216-229.
2. Ferlazzo G., Munz C. NK cell compartments and their activation by dendritic cells. *J. Immunol.*, 2004, 172, 1333-1339.
3. Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. *Immunobiology*, 6th Edition, Garland Science Publishing, 2004, 89-91.
4. Diefenbach A., Raulet D.H. The innate immune response to tumors and its role in the induction of T-cell immunity. *Immunol. Rev.*, 2002, 188, 9-21.
5. Bukowski J.F., Woda B.A., Habu S. et al. Natural killer cell depletion enhances virus synthesis and virus-induced hepatitis in vivo. *J. Immunol.*, 1983, 131, 1531-1538.
6. Yu Y.Y., Kumar V., Bennett M. Murine natural killer cells and marrow graft rejection. *Ann. Rev. Immunol.*, 1992, 10, 189-213.
7. Ljunggren H.G., Kärre K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol. Today.*, 1990, 11, 237-244.
8. Kim S., Poursine-Laurent J., Truscott S.M. et al. Licensing of natural killer cells by host major histocompatibility complex class I molecules. *Nature.*, 2005, 436, 709-713.
9. Moretta A., Bottino C., Mingari M.C. et al. What is a natural killer cell? *Nat. Immunol.*, 2002, 3, 6-8.
10. Moretta L., Biassoni R., Bottino C., et al. Human NK cells and their receptors. *Microbes. Infect.*, 2002, 4, 1539-1544.
11. Moretta L., Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.*, 2004, 16, 626-633.
12. Raulet D.H., Vance R.E. Self-tolerance of natural killer cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006, 6, 520-531.

13. French, A.R., Yokoyama W.M.. Natural killer cells and autoimmunity. *Arthr. Res. Ther.*, 2004, 6, 8-14.
14. Momot T., Koch S., Hunzelmann N. et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptors with scleroderma. *Arthr. Rheum.*, 2004, 50, 1561-1565.
15. Yen J.H., Moore B.E., Nakajima T. et al. Major histocompatibility complex class I-recognizing receptors are disease risk genes in rheumatoid arthritis. *J. Exp. Med.*, 2001, 193, 1159-1167.
16. Groh V., Bruhl A., El-Gabalawy H. et al. Stimulation of T cell autoreactivity by anomalous expression of NKG2D and its MIC ligands in rheumatoid arthritis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 9452-9457.
17. Silver R.M. Studies of rheumatoid synovial fluid lymphocytes. III. Phenotypic and functional analysis of natural killer-like cells. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1986, 39, 159-167.
18. Combe B., Pope R., Darnell B., Talal N. Modulation of natural killer cell activity in the rheumatoid joint and peripheral blood. *Scand. J. Immunol.*, 1984, 20, 551-558.
19. Dalbeth N., Callan M.F. A subset of natural killer cells is greatly expanded within inflamed joints. *Arthr. Rheum.*, 2002, 46, 1763-1772.
20. Pridgeon C., Lennon G.P., Pazmany L. et al. Natural killer cells in the synovial fluid of rheumatoid arthritis patients exhibit a CD56bright, CD94bright, CD158negative phenotype. *Rheumatology (Oxford)*, 2003, 42, 870-878.
21. Fox D.A. The role of T cells in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthr. Rheum.*, 1997, 40, 598-609.
22. Zhang B., Yamamura T., Kondo T. et al. Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by natural killer (NK) cells. *J. Exp. Med.*, 1997, 186, 1677-1687.
23. Smeltz R.B., Wolf N.A., Swanborg R.H. Inhibition of autoimmune T cell responses in the DA rat by bone marrow derived NK cells in vitro: implications for autoimmunity. *J. Immunol.*, 1999, 163, 1390-1397.
24. Ciampolillo A., Guastamacchia E., Amati L. et al. Modifications of the immune responsiveness in patients with autoimmune thyroiditis: evidence for a systemic immune alteration. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, 9, 1946-1950.
25. Cameron A.L., Kirby B., Griffiths C.E. Circulating natural killer cells in psoriasis. *Br. J. Dermatol.*, 2003, 149, 160-164.
26. O'Gorman M., Smith R., Garrison A. et al. Lymphocyte subsets in peripheral blood from newly diagnosed, untreated patients with juvenile dermatomyositis (JDM) are associated with disease activity scores (DAS). *Arthr. Rheum.*, 2002, 46(suppl 9), S490.
27. Wouters C.H., Ceuppens J.L., Stevens E.A. Different circulating lymphocyte profiles in patients with different subtypes of juvenile idiopathic arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2002, 20, 239-248.
28. Yabuhara A., Yang F.C., Nakazawa T. et al. A killing defect of natural killer cells as an underlying immunologic abnormality in childhood systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 1996, 23, 171-177.
29. Erkeller-Yusel F., Hulstaart F., Hannet I. et al. Lymphocyte subsets in a large cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 1993, 2, 227-231.
30. Kastrukoff L.F., Morgan N.G., Zecchini D. et al. A role for natural killer cells in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 1998, 86, 123-133.
31. Biron C.A., Byron K.S., Sullivan J.L. Severe herpesvirus infections in an adolescent without natural killer cells. *N. Engl. J. Med.*, 1989, 320, 1731-1735.
32. Vanness E.R., Davis M.D., Tefferi A. Cutaneous findings associated with chronic natural killer cell lymphocytosis. *Int. J. Dermatol.*, 2002, 41, 852-857.
33. Lamy T., Loughran T.P. Jr. Clinical features of large granular lymphocyte leukemia. *Semin. Hematol.*, 2003, 40, 185-195.
34. Rabbani G.R., Phyllyk R.L., Tefferi A. A long-term study of patients with chronic natural killer cell lymphocytosis. *Br. J. Haematol.*, 1999, 106, 960-966.
35. Orange J.S. Human natural killer cell deficiencies and susceptibility to infection. *Microbes. Infect.*, 2002, 4, 1545-1558.

Поступила 25.09.08