

ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И ФУНКЦИИ НК-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

¹Лаборатория клинической иммунологии ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Минздравсоцразвития России (249036, Калужская обл., г. Обнинск, ул. Королева, д. 4); ²Отдел иммунологии, лаборатория клеточных взаимодействий Учреждение РАН Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН (117437, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10)

Натуральные, или естественные киллеры (НК-клетки) охарактеризованы как лимфоциты врожденного иммунитета, обладающие противовирусной и противоопухолевой цитотоксической активностью. НК-клетки также участвуют в регуляции адаптивного иммунного ответа, продуцируя большое количество цитокинов и хемокинов. Эффекторная функция НК-клеток регулируется комплексом сигналов, полученных от их стимулирующих и ингибирующих рецепторов, а также от растворимых факторов. Посредством набора рецепторов НК-клетки распознают на поверхности клеток молекулы, экспрессия которых указывает на вирусную инфекцию, опухолеобразование или повреждения, вызванные клеточным стрессом. НК-клетки вовлечены в широкий спектр существенных биологических процессов в организме, играют критическую роль в иммунном надзоре и могут быть использованы в противоопухолевой терапии. В данной работе сделан обзор современных сведений о рецепторах, фенотипических и функциональных характеристиках НК-клеток, особенностях распознавания ими клеток-мишеней, а также обсуждены новые свойства НК-клеток, объединяющие их с клетками адаптивного иммунитета.

Ключевые слова: *НК-клетки, активирующие и ингибирующие рецепторы, цитотоксичность*

Abakushina E.V., Kuzmina E.G. and Kovalenko E.I.

THE MAIN CHARACTERISTICS OF HUMAN NATURAL KILLER CELLS

Natural killer (NK) cells are defined as lymphocytes of innate immunity capable of killing tumor and virally-infected cells. NK cells also participate in adaptive immune response regulation by means of production of multiple cytokines and chemokines. The effector functions of NK cells are regulated by positive and negative signals integrated from multiple stimulatory and inhibitory receptors as well as soluble factors. Through many receptors, they recognize molecules, the expression of which is indicative of viral infection, tumor formation or DNA damage. NK cells are involved in various biological processes in the organism; they play a critical role in immune surveillance and can be applied for cancer therapy. In this paper the current conceptualization on NK cells including phenotypic and physiological characteristics, receptors and target cell recognition are reviewed; and new finding showing that NK cells possess some features of adaptive immunity are discussed.

Key words: *NK cells, activating and inhibitory receptors, cytotoxicity*

Введение

НК-клетки — натуральные, или естественные, киллеры (natural killer cells) представляют гетерогенную популяцию лимфоцитов системы врожденного иммунитета. Они обладают естественной цитолитической активностью, способны продуцировать цитокины и хемокины и участвуют в противовирусном и противоопухолевом контроле организма. В состоянии покоя средний диаметр НК-клетки составляет около 7—8 мкм, в условиях активации ее размер может увеличиться до 10—12 мкм. Эта особенность послужила причиной первоначального определения НК-клеток как больших гранулярных лимфоцитов [54]. НК-клетки содержат азурофильные гранулы, в состав которых входят перфорин, гранзимы, гранулизины и другие компоненты, с помощью которых они осуществляют контактный цитотоксический процесс. На разных стадиях развития НК-клетки экспрессируют множество рецепторов и поверхностных маркеров, характерных для клеток как миелоидного, так и лимфоидного происхождения, формируя гетерогенную смесь разнообразных субпопуляций. Однако НК-клетки не обладают антигенспецифическими рецепторами, подобно тем, которые экспонируют Т- и В-клетки [18]. НК-клетки широко распространены в организме, они обнаруживаются в селезенке, печени, в периферической крови, где их численность составляет 9 миллиардов, или 5—20% лимфоцитов, в небольшом количестве в лимфоузлах, в децидуальной оболочке матки. Они относятся к короткоживущим клеткам: время их жизни составляет несколько дней, хотя в настоящее время обнаружено, что определенные НК-клетки могут персистировать в организме несколько месяцев [45].

Фенотип, субпопуляции и развитие НК-клеток

К настоящему времени не найдено единого специфического пан-НК-клеточного маркера, по которому можно было бы надежно идентифицировать популяцию натуральных киллеров. В отличие от Т- и В-лимфоцитов, НК-клетки обладают ограниченным репертуаром активирующих и ингибирующих рецепторов, для которых не нужна RAG (recombination activating gene)-зависимая соматическая реорганизация генов, однако их экспрессия неравномерно распределена в клеточной популяции. Помимо основных сигнальных рецепторов натуральные киллеры экспрессируют на клеточной поверхности разнообразные молекулы адгезии (CD56, CD57, CD11a/CD18, CD11b, CD11c, CD54, CD58), рецепторы цитокинов (CD122, CD25, CD117) и хемокинов (CXCR1, CXCR3, CXCR4, CCR1, CCR5, CCR7), антигены дифференцировки, характерные для Т-лимфоцитов (CD8, CD7, CD6) и клеток миелоидного происхождения (CD11c, CXCR1). Экспрессия определенных гликопротеинов может быть связана с этапом развития НК-клеток либо с их активацией. Традиционный метод идентификации НК-клеток предполагает оценку популяции лейкоцитов CD16⁺CD56⁺ [53]. Гликопротеин CD16 представляет собой низкоаффинный рецептор для IgG (FcγRIIIA), с участием которого реализуются реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности. Молекула CD56 участвует в межклеточной адгезии. Однако эти маркеры не являются высокоспецифичными для натуральных киллеров. Так, молекулы CD16 выявляют на поверхности моноцитов и части дендритных клеток периферической крови, а экспрессия CD56 обнаруживается на определенных CD3⁺-клетках. На некоторых НК-клетках экспрессия CD16 снижена либо совсем отсутствует. В настоящее время общепринятым способом идентификации НК-клеток человека является выявление CD3/CD14/CD19-негативных лимфоцитов, экспрессирующих молекулы клеточной адгезии CD56.

Абакушина Елена Вячеславовна — канд. мед. наук, ст. науч. сотр., тел. 8(484)399-33-04, факс: 8(495)956-14-40, e-mail: evabakushina@gmail.com

Основываясь на экспрессии поверхностных маркеров и рецепторов, можно выделить разнообразные субпопуляции NK-клеток. Описание этих субпопуляций, а также определение их функциональной значимости является в настоящее время важной исследовательской задачей. Наиболее хорошо изучены субпопуляции натуральных киллеров, различающихся по плотности экспрессии CD56 и CD16 (рис. 1 на 2-й странице обложки). Большинство NK-клеток периферической крови человека имеют фенотип CD56^{dim}CD16^{bright}. На долю клеток CD56^{bright}CD16^{dim/neg} приходится менее 10% от общего количества натуральных киллеров. В то же время субпопуляция клеток с фенотипом CD56^{bright} преобладает в печени, эндометрии и децидуальной оболочке матки, а также в лимфатических узлах, где она составляет около 75% NK-клеток. Одно из отличий клеток CD56^{bright} от клеток CD56^{dim} заключается в экспрессии определенного набора цитокиновых и хемокиновых рецепторов [13]. CD56^{bright}-клетки экспрессируют CCR7 и CD62L (L-селектин), что позволяет им мигрировать в лимфатические узлы, способны к контактному взаимодействию с дендритными клетками и характеризуются слабой цитотоксичностью и высоким уровнем продукции цитокинов по сравнению с CD56^{dim}-клетками. Клетки CD56^{bright} могут продуцировать значительное количество цитокинов и хемокинов уже через несколько минут после активации. Считается, что благодаря этим качествам субпопуляция CD56^{bright} играет важную роль в регуляции адаптивного иммунного ответа. CD56^{bright}-клетки конститутивно экспрессируют (β-цепь рецептора интерлейкина (IL)-2 (CD25) и хорошо пролиферируют в ответ на этот цитокин. При этом в них возрастает экспрессия HLA-DR, антигена гистосовместимости класса II, и увеличивается их цитолитическая активность [16]. В отличие от клеток CD56^{bright}, клетки CD56^{dim} экспрессируют только β- и γ-цепи рецептора IL-2, но именно эти клетки способны к антителозависимой клеточной цитотоксичности и формируют эффекторную субпопуляцию натуральных киллеров, осуществляя основную цитолитическую функцию в отсутствие дополнительной стимуляции. Наличие более длинных теломерных участков хромосом в CD56^{bright}-NK-клетках по сравнению с CD56^{dim}-клетками свидетельствует о меньшей степени зрелости CD56^{bright}-клеток [41].

Определение и характеристика отдельных субпопуляций NK-клеток широко применяется для исследования еще не до конца изученных процессов дифференцировки и созревания натуральных киллеров. Детальное фенотипирование клеток на ранних этапах онтогенеза привело к пересмотру модели человеческого гемопоэза, которая в настоящее время не подразумевает жесткого миелоидно-лимфоидного разделения. Ранее считалось, что единственным местом дифференцировки натуральных киллеров из общих с T- и B-лимфоцитами предшественников является костный мозг. Несколько лет назад было обнаружено, что развитие NK-клеток происходит также в лимфатических узлах из уникальной популяции CD34⁺CD45RA⁺-клеток [17]. NK-клетки, как недавно было показано, могут происходить не только от лимфоидных, но и от миелоидных предшественников. В экспериментах *in vitro* было показано, что ключевую роль в такой дифференцировке играет микроокружение, а именно цитокины, стромальные элементы и гидрокортизон [23]. К настоящему времени определены несколько стадий развития и созревания человеческих NK-клеток, которые включают последовательное накопление либо потерю экспрессии тех или иных поверхностных маркеров. В процессе дифференцировки *in vivo* в NK-клетках человека изменяется плотность поверхностных молекул CD117, CD94, NKG2A, CD62L, CD56, CD57, рецепторов естественной цитотоксичности NCR (natural cytotoxicity receptor) и киллерных рецепторов из суперсемейства иммуноглобулинов KIR (killer-cell immunoglobulin-like receptor) [19, 36]. В первую очередь на NK-клетке появляются молекулы CD117 (c-Kit), затем CD161, 2B4, CD56 и CD94/NKG2A. На последующих стадиях постепенно возрастает поверхностная экспрессия CD56, выявляются молекулы адгезии LFA-1, активирующих рецепторов NKp46, NKp30, NKG2D и DNAM-1, что коррелирует с ростом цитотоксичности. Наиболее поздняя стадия развития NK-клеток характеризуется присутствием CD16 и рецепторов KIR на клеточной поверхности, а также сниженным уровнем экспрессии CD56. По-видимому, популяцию естественных киллеров периферической крови составляют NK-клетки, находящиеся на последних двух стадиях дифференцировки, различающихся по плотности экспрессии CD56. Возможно, молекулы CD56 непосредственно участвуют в финальной стадии созревания NK-клеток в лимфо-

идных органах и сайтах воспаления. Показано, что CD56^{bright}-NK-клетки после взаимодействия с синовиальными фибробластами дифференцируются в зрелые CD56^{dim}-клетки [11]. В то же время точные механизмы развития NK-клеток *in vivo* до конца не охарактеризованы. На терминальной стадии дифференцировки NK-клетки окончательно приобретают фенотип CD94^{low}CD62L^{neg}CD16⁺CD56^{dim}CD57⁺. Потеря молекул NKG2A обратима, экспрессия же KIR и CD57 является необратимой и характеризует наиболее зрелые NK-клетки [5]. Маркер CD57 обнаруживается на 30—60% зрелых CD56^{dim}CD16⁺-NK-клетках, но он отсутствует на ранних и CD56^{bright}-NK-клетках. Клетки CD57⁺ обладают слабым пролиферативным потенциалом при стимуляции IL-2, поскольку у них снижена экспрессия общей для рецепторов IL-2 и IL-15 субъединицы IL-2Rβ. NK-клетки, экспрессирующие CD57, не продуцируют IFN-γ в ответ на цитокины, но могут его секретировать после связывания с активирующими рецепторами NCR. Полагают, что антиген CD57 может служить маркером терминальной стадии дифференцировки NK-клеток, так же, как и цитотоксических T-лимфоцитов [33].

Функциональная характеристика NK-клеток

Наиболее важными функциями NK-клеток являются цитолитическая активность по отношению к клеткам-мишеням и секреция хемокинов и цитокинов, играющих важную роль в регуляции иммунного ответа.

NK-клетки выделены в особый класс лимфоцитов благодаря их уникальной способности быстро и без предварительной иммунизации лизировать чужеродные либо свои измененные клетки в отсутствие молекул главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC-I — major histocompatibility complex class I), независимо от антител и комплемента, что подтверждает их название "естественные киллеры" [47]. Контактный цитолитиз, путем которого NK-клетки убивают чувствительные к лизису клетки-мишени, реализуется с участием цитотоксических гранул либо при непосредственном контакте с рецепторами "смерти" на поверхности клеток-мишеней (Fas, TRAIL и др.). Цитотоксические гранулы представляют собой специализированные секреторные лизосомы сложного состава, важными компонентами которых являются порообразующий белок перфорин и гранзимы, сериновые протеиназы, обладающие проапоптотическими свойствами. Одним из наиболее эффективных медиаторов гранулоопосредованной цитотоксичности является гранзим В, способный непосредственно активировать иницирующие и исполнительные каспазы, а также разрушать некоторые цитоплазматические и ядерные белки [1]. Начальный этап гранулоопосредованной цитотоксичности включает образование иммунного синапса между NK-клеткой и ее мишенью, при этом цитотоксические гранулы перемещаются по направлению к месту контакта, а их содержимое секретируется во внутреннее пространство иммунного синапса. Далее цитотоксические агенты проникают в атакуемую клетку и иницируют ее гибель. Перфорин способствует проникновению гранзимов в клетку-мишень, хотя механизм этого процесса отличается от ранних представлений о нем как о пассивной диффузии гранзимов через образованные перфорином поры [46].

В дополнение к цитотоксической функции NK-клетки способны секретировать значительные количества хемокинов и цитокинов, что ставит эти клетки в ряд важных регуляторов как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Эта способность существенно возрастает под действием ряда цитокинов, активно продуцируемых макрофагами и дендритными клетками на ранней стадии инфекционного процесса. NK-клетки участвуют в выработке как противовоспалительных, так и иммуносупрессирующих цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (TNF-α) и IL-10, соответственно, секретируют ростовые факторы: гранулоцитарно-макрофагальный (GM-CSF) и гранулоцитарный колониестимулирующий (G-CSF), IL-3 и служат одним из основных источников IFN-γ в организме. Посредством продукции цитокинов NK-клетки оказывают влияние на многие звенья врожденного иммунитета — макрофаги, дендритные клетки и нейтрофилы, модулируя тем самым и последующий антигенспецифический ответ. Секретируемый NK-клетками IFN-γ стимулирует экспрессию MHC-I на поверхности антигенпрезентирующих клеток, оказывает антипролиферативное действие на вирусинфицированные и трансформированные клетки, активирует киллинг внутриклеточных патогенов макрофагами. В лим-

фатических узлах продукция IFN- γ NK-клетками, мигрирующими во вторичные лимфоидные органы из удаленных очагов воспаления, оказывает влияние на формирование T-клеточного иммунного ответа как путем непосредственного воздействия на наивные T-клетки, так и опосредованно за счет активации дендритных клеток [9, 50]. NK-клетки продуцируют также множество разнообразных хемокинов: CCL3 (MIP1- α), CCL4 (MIP1- β), CCL5 (RANTES), CCL22, CXCL1 (лимфотактин) и CXCL8 (IL-8), что обеспечивает координацию действий натуральных киллеров и других гематопоэтических клеток при различных патологических состояниях [50]. Таким образом, значение NK-клеток в организме ни в коем случае не сводится только к их литической активности, направленной против инфицированных и опухолевых клеток. Натуральные киллеры играют непосредственную роль не только во врожденном, но и в адаптивном иммунном ответе посредством регуляции иммунного гомеостаза.

Хотя у NK-клеток имеется множество свойств, характерных для клеточных систем врожденного иммунитета (в частности, они обеспечивают быстрый эффекторный ответ даже в отсутствие предварительной сенсибилизации и несут ограниченный репертуар рецепторов, для которых не требуется перестройка генов с участием белков RAG, необходимая для T-клеток), в последние годы растет количество данных, свидетельствующих о том, что натуральные киллеры обладают также чертами клеток адаптивного иммунитета. Так, в нескольких мышиных моделях у NK-клеток обнаружены признаки иммунологической памяти, а именно наличие популяции патрулирующих клеток памяти в лимфоидных и нелимфоидных органах и более быстрый и интенсивный ответ на повторное появление антигена. Примерами феномена иммунологической памяти натуральных киллеров являются: контактная гиперчувствительность, индуцированная гаптенем у RAG-дефицитных мышей [37], экспансия определенной популяции NK-клеток в ответ на гликопротеин мышинного цитомегаловируса [45], наличие NK-клеток памяти при ответе на вирусы гриппа, HIV, везикулярного стоматита [38].

Регуляция функциональной активности NK-клеток

Функциональная активность NK-клеток регулируется растворимыми факторами, продуцируемыми окружающими клетками, и контактными взаимодействиями натуральных киллеров с потенциальными клетками-мишенями. Каждая NK-клетка несет на своей поверхности множество рецепторов хемокинов и цитокинов. Связывание этих рецепторов с соответствующими лигандами может влиять на развитие NK-клеток, индуцировать хемотаксис и пролиферацию, приводить к изменению их цитотоксичности и продукции цитокинов. В список рецепторов хемокинов, экспрессируемых NK-клетками, входят CXCR1, CXCR3, CXCR4, CCR1, CCR5, CCR7. Соответственно, функционирование натуральных киллеров регулируется широким спектром α - и β -хемокинов. NK-клетки экспрессируют общую γ -цепь рецепторов и различные β -цепи, что определяет их чувствительность к цитокинам IL-15 и IL-2. Цитокин IL-15 необходим для дифференцировки и поддержания постоянства численности популяции NK-клеток. IL-2 индуцирует пролиферацию и усиление цитотоксической функции NK-клеток. Как уже упоминалось, активность NK-клеток значительно повышают цитокины, продуцирующиеся во время воспаления, такие как интерфероны, IL-12 и IL-18.

Формирование определенного цитотоксического ответа NK-клетками зависит от комбинации на их поверхности различных активирующих и ингибирующих рецепторов, которые регулируют их функциональную активность. Многие из этих молекул принадлежат к семейству иммуноглобулиноподобных рецепторов (семейство KIR) либо представляют собой лектиноподобные кальцийзависимые рецепторы (лектины типа C). И те, и другие могут ингибировать или активировать NK-клетки [49].

Согласно широко признанной теории, в основе NK-клеточного распознавания мишеней лежит принцип "утраты своего" ("missing-self") [31]. Молекулы MHC-I, обладающие способностью экспонировать фрагменты собственных белков, экспрессируются на поверхности большинства ядросодержащих клеток в уникальном для организма сочетании, хотя при заражении клеток вирусами или при опухолевой трансформации экспрессия MHC-I может меняться. Представленные на клеточной поверхности молекулы MHC-I распознаются ингибирующими рецепторами NK-клеток. За счет этого присутствие

MHC-I на клетке, с которой контактирует натуральный киллер, приводит к подавлению активации последнего и сдерживанию цитолитической реакции. Активирующими сигналами для NK-клеток нередко служат молекулы, поверхностная экспрессия которых начинается только во время клеточного стресса, инфицирования или опухолевой трансформации [6]. Реализации цитолитической активности NK-клеток способствуют также костимулирующие и адгезивные межклеточные взаимодействия, основное назначение которых — обеспечивать более стабильный и плотный контакт между клеткой-киллером и его мишенью. В эти процессы вносят свой вклад углеводные составляющие гликопротеинов и гликолипидов клеток-мишеней. Для многих из таких взаимодействий лиганд-рецепторный сигнальный путь пока не описан [28].

Таким образом, функциональная активность NK-клеток регулируется тонким динамическим балансом между сигналами, полученными от активирующих и ингибирующих рецепторов при взаимодействии с поверхностными молекулами потенциальной клетки-мишени, а также зависит от продуцируемых клеточным окружением растворимых факторов. Плотность взаимодействующих молекул на клеточной поверхности эффекторов и мишеней имеет определяющее значение для активности NK-клеток. Одновременное взаимодействие множества лигандов с рецепторами NK-клеток приводит к интеграции различных внутриклеточных сигналов, совокупность которых диктует качество и интенсивность эффекторного ответа NK-клетки. Снижение или отсутствие ингибирующих сигналов приводит к преобладанию сигналов активации, что, в конечном итоге, ведет к лизису клетки-мишени и выбросу цитокинов. С другой стороны, высокая экспрессия активирующих лигандов на клетках-мишенях может привести к запуску цитолитической активности NK-клеток, несмотря на нормальную экспрессию молекул MHC-I (рис. 2 на 2-й странице обложки) [50].

Рецепторы NK-клеток

Особенностью NK-клеток является наличие у них широкого разнообразия активирующих и ингибирующих рецепторов, контролирующих активность этих цитотоксических лимфоцитов. Описано несколько основных групп рецепторов NK-клеток.

Рецепторы семейства KIR представляют наиболее обширную группу молекул NK-клеток человека, взаимодействующих в качестве лигандов с лейкоцитарными антигенами HLA (human leukocyte antigen) — человеческими молекулами MHC-I (рис. 3 на 2-й странице обложки). Существует по крайней мере 17 генов или псевдогенов KIR, для которых характерно значительное аллельное разнообразие. Номенклатура KIR-рецепторов основана на структуре этих трансмембранных гликопротеинов типа I. В соответствии с числом внеклеточных иммуноглобулиноподобных доменов их классифицируют как KIR2D и KIR3D. Длина цитоплазматического региона (L — длинный, S — короткий) также отражается в названии белка. L-участки содержат ингибирующие тирозинсодержащие сигнальные последовательности ITIM (от immunoreceptor-tyrosine based inhibition motif), обеспечивающие проведение ингибирующего сигнала. В рецепторах с короткими цитоплазматическими участками последовательности ITIM отсутствуют. Эти рецепторы, как правило, являются активирующими, наличие остатка лизина в трансмембранном участке позволяет им взаимодействовать с адапторными молекулами DAP12, содержащими активационный тирозинсодержащий иммунорецепторный мотив ITAM (от immunoreceptor tyrosine-based activating motif), опосредующий проведение активирующего сигнала [48]. KIR-рецепторы случайным образом экспрессируются на каждой NK-клетке. Результатом этой экспрессии является разнообразный репертуар NK-клеточных клонов в организме. Для NK-клеток также характерна большая внутрипопуляционная разнородность. У человека встречается два основных гаплотипа KIR, сформировавшиеся в процессе эволюционного развития, хотя частота встречаемости гаплотипов различается в разных популяциях. Для гаплотипов группы A характерным является ген KIR2DS4 в отсутствие других генов с короткими цитоплазматическими участками. Гаплотипы группы B определяются присутствием одного или нескольких следующих генов — KIR2DL5, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS5 и KIR3DS1 [34]. Существует мнение, что гаплотипы A в основном ассоциированы с улучшением ответа на патогены, а гаплотипы B — с улучшением репродуктивных функций [27].

KIR-рецепторы человека распознают все аллели HLA-C и только некоторые аллели HLA-A и HLA-B. Распознавание молекулы HLA-C рецепторами KIR2DL зависит от того, какая аминокислота находится в положении 80 последовательности белка HLA-C в эпитопе, взаимодействующем с рецептором. В соответствии с этим рецепторы KIR2DL1 (CD158a) распознают молекулы аллотипов группы HLA-C2 (HLA-Cw2, 4, 5, 6 и 15), у которых в положении 80 находится остаток лизина. Рецепторы KIR2DL2 (CD158b1) и KIR2DL3 (CD158b2) распознают аллотипы группы HLA-C1 (HLA-Cw1, 3, 7 и 8) с остатками аспарагина в соответствующем положении (см. рис. 3 на 2-й странице обложки). Как правило, в молекулах группы HLA-C2 в положении 77 располагается остаток аспарагина, а в молекулах группы HLA-C1 — остаток серина [12]. Хотя аффинность связывания указанных рецепторов с молекулами HLA-C может различаться, их взаимодействие приводит к ингибированию NK-опосредованной цитотоксичности. Рецептор KIR3DL1 распознает аллели HLA-Bw4 и некоторые аллели HLA-A, которые также несут серологический мотив Bw4. KIR3DL2 взаимодействует с HLA-A3 и -A11 [24]. Специфическое распознавание молекул MHC-I активирующими рецепторами KIR изучено значительно хуже. Исходя из гомологии аминокислотных последовательностей KIR, можно предположить, что специфичность связывания должна быть схожа со специфичностью соответствующих ингибирующих рецепторов; различие может заключаться в аффинности связывания с лигандом и ее зависимости от презентруемого HLA пептида.

Ингибирующий сигнал от рецепторов KIR с длинным цитоплазматическим участком формируется при взаимодействии рецептора с MHC-I за счет фосфорилирования тирозиновых остатков в последовательности ITIM. Вследствие этого происходит активация тирозиновых фосфатаз SHP-1 и SHP-2, которые в свою очередь блокируют процессы фосфорилирования, связанные с активацией клеток, что приводит к ингибированию NK-опосредованной цитотоксичности и секреции цитокинов [32]. Исключение составляет рецептор KIR2DL4, который обладает как ингибирующими, так и активирующими характеристиками. Активирующий сигнал этот рецептор проводит за счет взаимодействия с молекулой FcεR1γ, которая содержит два мотива ITAM с последовательностью YXXLX6—8YXXL/I [4] (см. рис. 3 на 2-й странице обложки). Связывание KIR2DL4 с молекулой HLA-G инициирует продукцию IFN-γ NK-клетками.

Еще одну группу рецепторов NK-клеток, распознающих антигены главного комплекса гистосовместимости на клеточной поверхности, составляют гетеродимеры CD94/NKG2, представители суперсемейства лектиноподобных белков C-типа, отличающиеся значительно меньшей полиморфностью и большей консервативностью по сравнению с KIR-рецепторами. Белок CD94/NKG2A, основной ингибирующий рецептор в этой группе, распознает неклассические молекулы гистосовместимости класса I HLA-E, представляющие пептиды, происходящие из аллелей классических молекул HLA класса I [49], что обеспечивает дополнительный мониторинг экспрессии MHC-I на нормальных клетках натуральными киллерами. Связывание рецептора CD94/NKG2A с молекулой HLA-E, нагруженной пептидом, приводит к передаче ингибирующего сигнала, формирующегося через посредство цитоплазматической последовательности ITIM. Гетеродимер CD94/NKG2C, так же как и CD94/NKG2A, распознает HLA-E, однако не содержит мотив ITIM и проводит активирующий сигнал за счет ассоциации с ITAM-содержащей молекулой DAP12.

Таким образом, многие ингибирующие рецепторы NK-клеток взаимодействуют с молекулами HLA-A, HLA-B, HLA-C или HLA-E, что приводит к торможению их эффекторных функций. В то же время роль их двойников с активирующими свойствами не вполне понятна.

Помимо KIR-рецепторов с L-участками, существуют другие ингибирующие рецепторы NK-клеток семейства LILR (leukocyte Ig-like receptor). Они также называются Ig-подобными транскриптами (ILTs), экспрессируются на многих миелоидных клетках и распознают неполиморфные домены α3 классических и неклассических молекул HLA. Ингибирующий рецептор LAIR-1 (leukocyte-associated Ig-like receptor-1), найденный на большом количестве иммунокомпетентных клеток, включая NK-клетки, участвует в распознавании коллагена. Рецептор Siglec-7 проявляет ингибирующие свойства при взаимодействии с дисахаридом Neu5Acα2-8Neu5Ac, входящим в состав некоторых гликопротеинов и гликолипидов [14]. Рецептор KLRG1 (killer cell lectin-like receptor G1) обнаруживается на подавляю-

щем большинстве NK-клеток. Интересно, что его экспрессия меняется при вирусных и паразитарных инфекциях. KLRG1 взаимодействует с кадгеринами, и это взаимодействие приводит к предотвращению цитолиза клетки-мишени [26].

Второй аспект иммунного распознавания, реализуемого NK-клетками, связан с их активацией в ответ на опухолевую трансформацию, инфекцию либо клеточный стресс. Выявление опасных изменений в клетке, происходящих вследствие указанных процессов, осуществляется с помощью набора активирующих рецепторов NK-клеток. Важную группу в этом наборе составляют рецепторы натуральной цитотоксичности NCR: NKp46/NCR1, NKp44/NCR2 и NKp30/NCR3, принадлежащие к суперсемейству иммуноглобулинов (рис. 4 на 2-й странице обложки). Гликопротеин NKp46 — один из наиболее специфических маркеров NK-клеток млекопитающих, хотя и присутствует на некоторых T-клетках. Существуют данные о том, что этот рецептор играет основную роль в активации NK-клеток при некоторых вирусных инфекциях и опухолевых заболеваниях [35]. Предполагается, что рецептор NKp46 способен идентифицировать вирусный гемагглютинин на поверхности клетки-мишени, а также белок промежуточных филаментов виментин, экспонированный на поверхности моноцитов, инфицированных микобактериями туберкулеза [20]. Трансдукция активационного сигнала рецептором NKp46 происходит за счет его ассоциации с молекулами CD3ζ и FcεR1γ, содержащими несколько активирующих последовательностей ITAM. Рецептор NKp44 экспрессируется NK-клетками в условиях активации. Хотя известно, что за счет этого рецептора происходит усиление цитолитической противовирусной и противоопухолевой активности NK-клеток, точно не установлено, какие молекулы служат лигандами для NKp44. Для другого рецептора NCR, NKp30, к настоящему времени найдено несколько потенциальных физиологических лигандов. Одним из них является молекула BAT3 (leukocyte antigen-B-associated transcript 3), высвобождающаяся из поврежденных клеток в процессе клеточного стресса [39], другим — белок семейства B7 (B7-H6), экспрессирующийся в основном на опухолевых клетках [7].

Маркер NK-клеток антиген CD16 (низкоаффинный Fcγ-рецептор IIIA) представляет активирующий рецептор зрелых NK-клеток. С его помощью натуральный киллер распознает константный участок связанного с опухолевой клеткой антитела IgG. Для проведения активирующего сигнала необходима ассоциация CD16 с молекулами CD3ζ и FcRγ. В результате этого процесса, именуемого антителозависимой клеточной цитотоксичностью, происходят дегрануляция NK-клетки и перфоринзависимый лизис клетки-мишени.

Важным представителем лектиноподобных активирующих рецепторов NK-клеток является гликопротеин типа II NKG2D. Помимо NK-клеток этот гомодимер экспрессируется также на NKT-клетках, γδT-клетках и CD8⁺αβT-клетках, но не на CD4⁺αβT-клетках. Рецептор NKG2D способен узнавать высокополиморфные стрессиндуцируемые молекулы MICA и MICB (major histocompatibility complex class I chain-related protein A or B), родственные антигенам MHC класса I [21, 30]. На поверхности нормальных клеток белки MICA/B отсутствуют либо содержатся в незначительном количестве на клетках эндотелия и фибробластах, однако их экспрессия может индуцироваться в условиях клеточного стресса, при вирусных или бактериальных инфекциях, а также возрастать при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта [8], аутоиммунных заболеваниях и при опухолеобразовании [3, 21, 43, 44]. Взаимодействие лиганда MICA или MICB с рецептором NKG2D приводит к активации NK-клеток и субпопуляций T-лимфоцитов и уничтожению измененных клеток. Однако трансформированные клетки способны ускользать от иммунного надзора, сбрасывая молекулы MICA/B со своей поверхности, таким образом блокируя активирующий рецептор NKG2D [2, 10]. Было обнаружено, что белки семейства ULBP (UL16-binding protein), связывающие протеины человеческого цитомегаловируса UL16, в норме не экспрессирующиеся на клеточной поверхности, также служат лигандами для NKG2D [44]. Как и MICA/B, поверхностные белки ULBP лишь в небольших количествах представлены на клетках здоровых тканей, однако их экспрессия может возрастать при вирусных инфекциях или опухолевом перерождении.

К семейству лектинов также относится активирующий рецептор NK-клеток NKp80 — гомодимер, состоящий из трансмембранных протеинов типа II, специфичный для молекул AICL

(activation induced C-type lectin), экспонированных на поверхности миелоидных клеток [4, 52]. NKp80 содержит фосфопептиды, формирующие нетипичную сигнальную последовательность hemi-ITAM [15]. Функционирование этого рецептора осуществляется посредством фосфорилирования тирозина в позиции 7 и активации Syk-киназы. NKp80-зависимая активация NK-клеток приводит к лизису миелоидных опухолевых клеток, а также обеспечивает взаимодействие NK-клеток с моноцитами, оказывая влияние на продукцию провоспалительных цитокинов как NK-клетками, так и моноцитами.

Молекула адгезии DNAM1 экспрессируется на NK-клетках, тромбоцитах, моноцитах и субпопуляциях Т-клеток. В ее состав входят два иммуноглобулиноподобных домена, с помощью которых молекулы DNAM1 связывают белок нектин-2 (CD112) и рецептор вируса полиомиелита (PVR — poliovirus receptor, CD155), обеспечивая стимулирующий сигнал. Лигандом рецептора CD2, экспрессирующегося на многих NK-клетках, является белок CD58. Ко-рецепторами в активации NK-клеток служат также трансмембранные белки NTB-A, CS1 и 2B4 (CD244), способные распознавать идентичные молекулы на клетках-мишенях (NTB-A и CS1) либо протеины того же семейства молекул (2B4/CD48).

Репертуар активирующих и ингибирующих рецепторов, экспрессирующихся на каждой NK-клетке, формируется во время ее созревания и дифференцировки достаточно случайно. Можно допустить, что NK-клетки, которые не экспрессируют ингибирующие рецепторы, реагирующие с аутологичными молекулами MHC-I, но экспонируют на поверхности активирующие рецепторы, будут проявлять аутореактивные свойства. Однако в организме происходит процесс "обучения" NK-клеток, вследствие которого такие потенциально опасные NK-клетки становятся (или остаются) гипореактивными. Данный феномен заключается в том, что в отсутствие экспрессии на окружающих клетках MHC-I, даже при наличии активирующих рецепторов, уровень цитолитической активности NK-клеток остается низким [25]. В свою очередь, контакт NK-клетки с мишенью, экспрессирующей MHC-I, приводит к развитию полноценного цитотоксического ответа. Этот процесс был обозначен также термином "лицензирование". Механизмы феномена "обучения", или "лицензирования", NK-клеток остаются неясными. Таким образом, реакция NK-клеток не остается неизменной в организме, но зависит от клеточного окружения. По-видимому, такая настройка позволяет им сохранять толерантность к нормальным клеткам своего организма и в то же время эффективно реагировать на инфекцию либо опухолевую трансформацию [40].

Роль NK-клеток в организме

Многочисленные данные свидетельствуют о важной роли NK-клеток в борьбе организма с инфекционными заболеваниями, такими как гепатит, HIV, лихорадка Эбола, цитомегаловирусная инфекция [54]. NK-клетки способны элиминировать клетки, инфицированные микоплазмой, бактериями, грибами *Candida albicans* и другими патогенами [51]. Помимо непосредственного цитолитического действия натуральные киллеры оказывают регулирующее влияние на иммунные реакции посредством секреции цитокинов, хемокинов и ростовых факторов.

Другой важный аспект деятельности NK-клеток в организме связан с их противоопухолевой активностью [42]. При различных типах онкологических заболеваний сниженные количество и активность NK-клеток могут служить прогностическим критерием метастазирования, плохого ответа на лечение и снижения общей выживаемости онкологических больных. Низкая активность NK-клеток может быть также фактором риска развития злокачественных новообразований [53]. Уменьшение количества или отсутствие NK-клеток, а также снижение их функциональной активности часто связаны с острой и хронической вирусной инфекцией, аутоиммунными заболеваниями, иммунодефицитными и психическими синдромами [54]. Резкое увеличение количества NK-клеток, а также повышение их функциональной активности чаще всего связывают с лимфопролиферативным синдромом или с заболеваниями печени.

Биологическая роль NK-клеток не ограничивается их борьбой с опухолевыми клетками или контролем инфекционного процесса. Они осуществляют регуляцию пролиферативной активности и дифференцировки гемопоэтических клеток, вовлечены в реакции отторжения трансплантата. NK-клетки найдены

в децидуальной оболочке матки, где они выполняют регуляторные и трофические функции по отношению к растущей плаценте. Полагают, что именно NK-клетки слизистой оболочки матки обеспечивают контроль роста трофобласта плода, не позволяя ему проникать чрезмерно далеко в тело матери. Также предполагается, что эти клетки элиминируют лимфоциты матери, которые оказались активированными в отношении плода [54]. NK-клетки координируют взаимодействие иммунной и нейроэндокринной систем за счет экспрессии на своей поверхности рецепторов к гормонам и адгезионных молекул, взаимодействующих с лигандами, характерными для нервной ткани [29].

Таким образом, можно заключить, что NK-клетки прямо или косвенно участвуют в согласовании и стабилизации различных функций организма как в норме, так и при патологических процессах.

Дальнейшее изучение тонких механизмов регуляции функциональной активности NK-клеток поможет разобраться в процессах возникновения NK-клеточной резистентности и аутоиммунных реакций, опосредованных натуральными киллерами, а также даст основу для разработки терапевтических подходов, основанных на использовании свойств NK-клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Синцов А. В., Коваленко Е. И., Ханин М. А. Апоптоз, индуцированный гранзимом В // Биооргани. химия. — 2008. — Т. 34, № 6. — С. 725—733.
2. Arreygue-Garcia N. A., Daneri-Navarro A., del Toro-Arreola A. et al. Augmented serum level of major histocompatibility complex class I-related chain A (MICA) protein and reduced NKG2D expression on NK and T cells in patients with cervical cancer and precursor lesions // BMC Cancer. — 2008. — Vol. 8. — P. 16.
3. Bahram S. MIC genes: from genetics to biology // Adv. Immunol. — 2000. — Vol. 76. — P. 1—60.
4. Biassoni R. Human natural killer receptors, co-receptors, and their ligands // Curr. Protoc. Immunol. — 2009. — Chapt. 14, Unit 14.10.
5. Bjorkstrom N. K., Riese P., Heuts F. et al. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56dim NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education // Blood. — 2010. — Vol. 116, N 19. — P. 3853—3864.
6. Bottino C., Castriconi R., Moretta L., Moretta A. Cellular ligands of activating NK receptors // Trends Immunol. — 2005. — Vol. 26. — P. 221.
7. Brandt C. S., Baratin M., Yi E. C. et al. The B7 family member B7-H6 is a tumor cell ligand for the activating natural killer cell receptor NKp30 in humans // J. Exp. Med. — 2009. — Vol. 206, N 7. — P. 1495—1503.
8. Burgess S. J., Maasho K., Masilamani M. et al. The NKG2D receptor: immunobiology and clinical implications. Immunol. Res. — 2008. — Vol. 40. — P. 18—34.
9. Caligiuri M. Human natural killer cells // Blood. — 2008. — Vol. 112. — P. 461—469.
10. Carbone E., Neri P., Mesuraca M. et al. HLA class I, NKG2D, and natural cytotoxicity receptors regulate multiple myeloma cell recognition by natural killer cells // Blood. — 2005. — Vol. 105. — P. 251—258.
11. Chan A., Hong D. L., Atzberger A. et al. CD56bright human NK cells differentiate into CD56dim cells: role of contact with peripheral fibroblasts // J. Immunol. — 2007. — Vol. 179. — P. 89—94.
12. Colonna M., Borsellino G., Falco M. et al. HLA-C is the inhibitory ligand that determines dominant resistance to lysis by NK1- and NK2-specific natural killer cells // Proc. Natl Acad. Sci. USA. — 1993. — Vol. 90, N 24. — P. 12000—12004.
13. Cooper M. A., Fehniger T. A., Caligiuri M. A. The biology of human natural killer-cell subsets // Trends Immunol. — 2001. — Vol. 22, N 11. — P. 633—640.
14. Crocker P. R., Paulson J. C., Varki A. Siglecs and their roles in the immune system // Nature Rev. Immunol. — 2007. — Vol. 7, N 4. — P. 255—266.
15. Dennehy K. M., Klimosch S. N., Steinle A. Cutting edge: NKp80 uses an atypical hemi-ITAM to trigger NK cytotoxicity // J. Immunol. — 2011. — Vol. 186, N 2. — P. 657—661.
16. Evans J. H., Horowitz A., Mehrabi M. et al. A distinct subset of human NK cells expressing HLA-DR expand in response to IL-2