

НКТ-КЛЕТКИ: ХАРАКТЕРНЫЕ СВОЙСТВА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ДЛЯ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

О.В. Акинфиева, Л.Н. Бубнова, С.С. Бессмельцев

ФГУ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург

Контакты: Ольга Викторовна Акинфиева olgaakinf@yandex.ru

НКТ-клетки представляют собой субпопуляцию лимфоцитов, экспрессирующих как маркеры НК-клеток, так и Т-клеточные дифференцировочные антигены. НКТ-клетки служат важнейшими регуляторами иммунного ответа, способствуя защите организма от возникновения, роста и метастазирования опухолей, от внутриклеточных инфекций различной природы, а также от развития аутоиммунных заболеваний. НКТ-клетки играют ключевую роль в индукции противоопухолевого иммунного ответа за счет продукции IFN- γ , активирующего НК-клетки, CD8⁺ Т-лимфоциты и макрофаги.

Ключевые слова: IFN- γ , НКТ-клетки, НК-клетки, аутоиммунные заболевания, противоопухолевый иммунный ответ

NKT CELLS: CHARACTERISTIC FEATURES AND FUNCTIONAL SIGNIFICANCE IN THE IMMUNE RESPONSE REGULATION

O.V. Akinfieva, L.N. Bubnova, S.S. Bessmeltsev

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St.-Petersburg

A lymphocyte lineage which is referred to as NKT cells expresses both markers of NK cells and T lymphocytes. NKT cells play a key role in the regulation of different types of immune responses, contribute to the protection from tumor growth and metastasis, from different intracellular infections and from development of autoimmune diseases. NKT cells are of vital importance in the induction of antitumoral immune response due to their production of IFN- γ which activates NK cells, CD8⁺ T lymphocytes and macrophages.

Key words: IFN- γ , NKT cells, NK cells, autoimmune diseases, antitumoral immune response

Введение

В последние 10–15 лет особое внимание исследователей привлекает субпопуляция Т-лимфоцитов, получившая название НКТ-клетки. Эти лимфоциты, экспрессирующие как маркеры НК-клеток (CD16, CD56), так и Т-клеточные дифференцировочные антигены (CD3, CD4, CD8), играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа при поражении организма патогенами, при аутоиммунных реакциях и опухолевых заболеваниях [1–3].

Предшественниками НКТ-клеток, как и Т-лимфоцитов, являются тимоциты. НКТ-клетки экспрессируют Т-клеточный рецептор TCR, который участвует в распознавании липидных антигенов, связанных с молекулами комплекса гистосовместимости CD-1d, экспрессируемыми антиген-презентирующими клетками (АПК) — макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами [2, 3]. Гетеродимерная форма рецептора TCR НКТ-клеток представлена преимущественно $\alpha\beta$ -цепями, причем в зависимости от экспрессии генов переменных областей α - и β -цепей, различают НКТ-клетки, несущие инвариантные (НКТ-клетки I типа, iNKT-клетки) или переменные TCR (НКТ-клетки II типа) [1].

У мышей НКТ-клетки обнаруживаются в основном в печени (10–40% от всех внутрипеченочных лимфо-

цитов), но также присутствуют и в тимусе, костном мозге, селезенке, лимфатических узлах и в периферической крови (< 1%). Распределение НКТ-клеток у человека не столь хорошо изучено, однако известно, что уровень этих клеток в печени значительно ниже, чем у мыши (< 1%). Причина подобных различий в распределении НКТ-лимфоцитов у человека и мыши на данный момент неизвестна [2].

CD-1d-зависимые НКТ-клетки человека и мыши функционально и фенотипически гомологичны: CD-1d-зависимые НКТ-клетки мыши узнают CD-1d-несущие АПК человека, и наоборот. Благодаря сходству иммунных систем человека и мыши, изучение свойств НКТ-клеток на различных моделях у мышей позволяет экстраполировать полученные данные на значение НКТ-клеток в человеческом организме [3].

Молекулярные механизмы, лежащие в основе дифференцировки предшественников НКТ-клеток

Сравнительно недавно исследователи установили различия в сигнальных путях, лежащих в основе дифференцировки клеток-предшественников на НКТ и Т-лимфоциты. Для позитивной селекции Т-лимфоцитов необходимы компоненты сигнального пути Ras-MAP (Ras и Mek-1), тогда как ключевым

ферментом дифференцировки NKT-клеток является киназа FynT. Взаимодействие между остатком тирозина белка SLAM, SH2-доменом белка SAP, а также SH3-доменом киназы FynT играет важную роль в дифференцировке NKT-клеток. Получены данные, согласно которым дефектные по белку SAP мыши характеризуются пониженным уровнем NKT-клеток в тимусе, селезенке и печени. У человека мутации гена *sap* сопровождаются снижением уровня и активности NKT-клеток в периферической крови [4, 5].

Связанные с белком SAP рецепторы семейства SLAM необходимы для дифференцировки $V\alpha 14i$ TCR⁺ кортикальных $CD4^+CD8^+$ -тимочитов в группу NKT-клеток. В семейство рецепторов SLAM входят SLAM (CD105), CD84, Ly108, Ly9, 2B4 и CRACC. При дифференцировке NKT-клеток происходит взаимодействие друг с другом внеклеточных иммуноглобулин-подобных фрагментов разных рецепторов данного семейства (2B4-CD84) или же гомотипичных рецепторов (CD105-CD105, CD84-CD84, Ly108-Ly108, Ly9-Ly9 и CRACC-CRACC). Цитоплазматические домены рецепторов семейства SLAM содержат фрагменты, с помощью которых они связываются с SAP (за исключением CRACC) [4, 6].

Взаимодействие $V\alpha 14i$ TCR⁺ кортикальных $CD4^+CD8^+$ -тимочитов с комплексами CD1d/IgB3 таких же клеток приводит к взаимодействию внеклеточных доменов гомотипичных рецепторов семейства SLAM, связанных с белком SAP, с последующей активацией внутриклеточного каскада, приводящего к дифференцировке NKT-клеток (см. рис. 1) [2, 5].

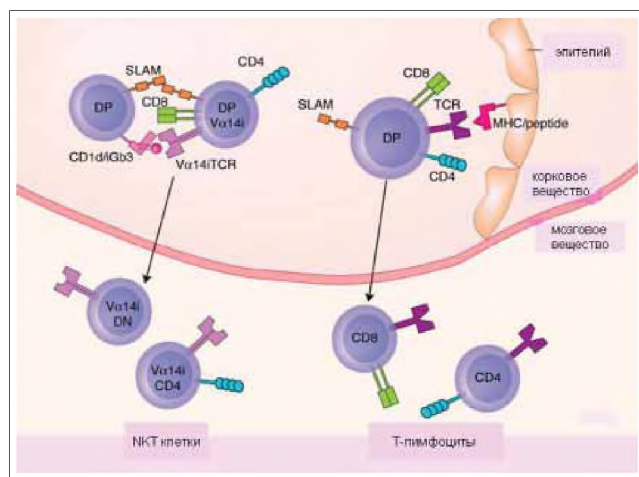


Рис. 1. Схема SLAM-зависимой дифференцировки NKT-клеток. DP (double positive) – $CD4^+CD8^+$ -тимочиты, MHC/пептид – комплексы MHC/пептид, TCR – T-клеточный рецептор [4]

Хотя точный механизм превращения кортикальных $CD4^+CD8^+$ -тимочитов в NKT-клетки в настоящее время не установлен, исследователи предполагают, что SAP-FynT-зависимый сигнальный каскад играет в нем ключевую роль (рис. 2). На первом этапе каскада киназа FynT активирует белок SAP, после чего происходит фосфорилирование инозитол фос-

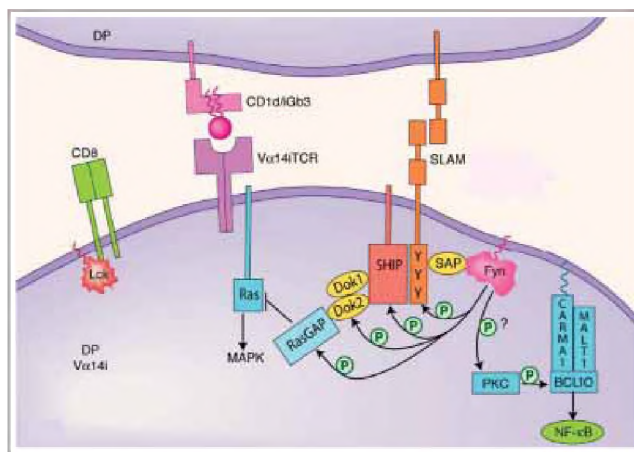


Рис. 2. Сигнальный каскад SAP-FynT-зависимого ингибирования MAP-киназы с последующей стимуляцией дифференцировки NKT-клеток.

DP (double positive) – $CD4^+CD8^+$ -тимочиты.

P – фосфорилирование [4]

фатазы SHIP. Затем в процесс вовлекаются адапторные белки Dok1 и Dok2, а также белок RasGAP. Белок Dok2 связывается с RasGAP и подавляет активацию Ras-MAPK, вызванную разнообразными стимулами (антигенами, ростовыми факторами, цитокинами). Киназа FynT фосфорилирует также и протеин киназу C (PKC), которая в свою очередь активирует адапторный белок Bcl10, в результате чего происходит активация транскрипционного фактора NF-κB. NF-κB транслоцируется в клеточное ядро, где участвует в регуляции транскрипции многих генов, включая гены цитокинов, что сопровождается ингибированием апоптоза и дифференцировкой клеток. Показано, что нокаут генов *PKC* или *BCL10* у мыши сопровождается разрушением NKT-клеток в тимусе и селезенке, что подтверждает участие этих факторов в дифференцировке NKT-клеток [4, 5].

В реаранжировке и дифференцировке iNKT-клеток как мыши, так и человека, участвуют также такие факторы, как «сиротский» рецептор ретиноидов RORγt и IL-15 [7, 8]. У мышей с нокаутом гена *IL-15* наблюдалось практически полное отсутствие iNKT-клеточной субпопуляции [9].

Фенотипические и функциональные свойства NKT-клеток

Фенотип NKT-клеток I типа

У мыши NKT-клетки I типа экспрессируют каноническую инвариантную α-цепь TCR ($V\alpha 14J\alpha 18$ TCRα) вместе с $V\beta 8.2$, $V\beta 7$ или $V\beta 2$, и подразделяются по фенотипу на $CD4^+CD8^-$ и $CD4^-CD8^-$ популяции. Те же самые клетки человека экспрессируют инвариантную α-цепь TCR ($V\alpha 24J\alpha Q$ TCRα) вместе с $V\beta 11$ и делятся по фенотипу на $CD4^+CD8^-$, $CD8\alpha\beta^+$, $CD8\alpha\alpha^+$ и $CD4^-CD8^-$ популяции [10, 11]. Большинство, но не все iNKT-клетки экспрессируют антиген *CD161*, определенный как *NK1.1* у мыши и как *NKR-PIA* у человека. Также на iNKT-клетках определяются такие маркеры, как CD69 и CD44. Сле-

дует отметить, что существует подтип NKT-клеток, экспрессирующих NK1.1-маркер, но являющихся CD-1d-независимыми [3]. В нескольких независимых исследованиях было показано, что CD4⁺CD8⁻-субпопуляция iNKT-клеток человека продуцирует преимущественно цитокины Th1-типа, такие как IFN- γ , тогда как CD4⁺-субпопуляция iNKT-клеток продуцирует как Th1- (IL-2), так и Th2-цитокины (IL-4, IL-13) [12, 13].

Лигандами, встроенными в молекулы комплекса гистосовместимости CD-1d АПК и распознаваемыми NKT-клетками, являются гликолипиды или гликофинголипиды – семейство молекул, состоящих из гидрофобного керамидного «скелета» – N-ацетилсфингозина, и гидрофильной «головы», состоящей из углеводов – моно- или олигосахаридов. Выделенный из морской губки *Agelas mauritianus* α -галактозилцерамид (α -GalCer), а также его синтетический аналог KRN7000 служат высокоаффинными лигандами CD-1d-молекулы АПК человека и мыши. Предположительно, гликолипид изоглоботригексозилцерамид (iGb3), выделенный из лизосом, является естественным лигандом NKT-клеток. Мыши с нокаутом гена фермента, необходимого для синтеза данного липида, характеризуются сниженным на 95% уровнем продукции iNKT-клеток в тимусе [14, 15].

Показано, что iNKT-клетки распознают липиды, присутствующие в клеточных мембранах грамотрицательных LPS-негативных бактерий рода *Sphingomonas* и *Ehrlichia*. CD1d-клетки также презентуют iNKT-клеткам липиды, присутствующие в мембранах бактерий рода *Borrelia*, *Leishmania*, *Shistosoma* и *Mycobacteria* [16–19].

Фенотип NKT-клеток II типа

В отличие от инвариантных NKT-клеток, экспрессирующих только один вид TCR α -цепи – V α 14J α 18, вариабельные NKT-клетки являются гетерогенной субпопуляцией, экспрессируя различные TCR α -цепи. Разнообразие репертуара TCR α -цепи NKT-клеток II типа требует дальнейшего изучения, однако установлено, что наиболее часто встречаемыми TCR α -цепями NKT-клеток II типа у мыши являются V α 3.2J α 9 и V α 8 [20]. Они подразделяются по фенотипу на CD4⁺CD8⁻ или CD4⁺CD8⁺-популяции. Следует отметить, что между молекулами CD1d АПК, презентующих липидные антигены NKT-клеткам I и II типа, есть различия: если NKT-клетки I типа взаимодействуют с CD1d, в цитоплазматическом домене которого присутствует тирозиновый мотив (wild-type CD1d, его кодирует ген *CD1-WT*), то NKT-клетки II типа связываются с CD1d, в структуре которого тирозиновый мотив отсутствует (tail-deleted CD1d, его кодирует ген *CD1d-TD*) [21, 22]. Также было показано, что NKT-клетки II типа не распознают α -GalCer, однако связываются с молеку-

лами CD1d со встроенными сульфатидами, найденными в миелиновой оболочке.

NKT-клетки, экспрессирующие вариабельные TCR, найдены также и у человека. Они подразделяются на CD4⁺ и CD8 $\alpha\beta$ ⁺, и большинство NKT-клеток II типа человека экспрессируют V β 11. Подобно NKT-клеткам I класса, NKT-клетки II класса подразделяются на NK1.1⁺- и NK1.1⁻-популяции и продуцируют Th1- и Th2-цитокины в ответ на антигенную стимуляцию. Как оказалось, большинство CD1d-реактивных клеток костного мозга человека представляют собой NKT-клетки II типа. Следует отметить, что в связи с разнообразием α - и β -цепей TCR NKT-клеток II класса в настоящее время не существует узкоспецифических маркеров для данной субпопуляции, поэтому прямое определение данной подгруппы клеток затруднительно [20, 22].

Характеристика функциональной активности NKT-клеток

NKT-клетки играют важную роль в регуляции иммунного ответа, связывая механизмы естественной резистентности и специфической иммунной реактивности. Подобно гранулоцитам и НК-клеткам, NKT-клетки одними из первых реагируют на проникновение в организм чужеродных агентов. В то же время, подобно Т-лимфоцитам, NKT-клетки участвуют в распознавании аутоантигенов и чужеродных антигенов. Как показали исследования, наиболее эффективным соединением, активирующим большинство NKT-клеток человека и мыши, является α -GalCer. Данное соединение связывается с CD-1d-молекулой АПК, затем комплекс CD1d со встроенным гликолипидом связывается с TCR NKT-клеток, что приводит к их активации. Стимулированные NKT-клетки начинают активно продуцировать цитокины в течение 1–2 часов с момента связывания TCR с презентуемым антигеном. По всей видимости, NKT-клетки способны хранить или вновь синтезировать мРНК для синтеза цитокинов еще до активации экзогенными антигенами [1–3, 7, 11, 20].

Одни цитокины, продуцируемые NKT-клетками, включающие IFN- γ и TNF, способствуют дифференцировке CD4⁺-клеток в Т-хелперы 1 типа (Th1), другие, включающие IL-4 и IL-13, – в Т-хелперы 2 типа (Th2). Данное свойство NKT-клеток на первый взгляд выглядит парадоксально, так как между Th1- и Th2-клетками существуют отношения антагонизма. Представлено несколько гипотез о том, каким образом NKT-клетки «выбирают» направление действия (рис. 3):

1. NKT-клетки преимущественно продуцируют про- или противовоспалительные цитокины в зависимости от типа сигналов, которые они получают, включая тип АПК. Например, IL-12 индуцирует продукцию NKT-клетками IFN- γ , в то время как IL-7 индуцирует продукцию IL-4 (рис. 3а).

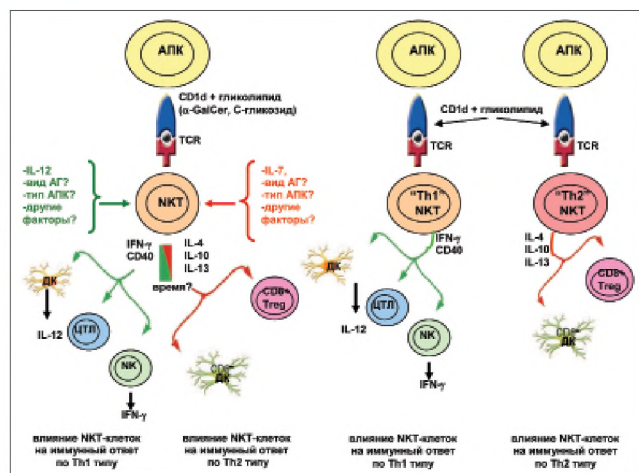


Рис. 3. Схематическое изображение регуляции NKT-клетками иммунного ответа по Th1- или по Th2-типу: а – продукция NKT-клетками про- или противовоспалительных цитокинов зависит от типа сигналов, которые они получают, от вида АГ, а также от времени прошедшего от начала их активации; б – различные субпопуляции NKT-клеток обеспечивают формирование иммунного ответа по Th1 или по Th2 типу (зелеными стрелками показана реализация иммунного ответа по механизму активации Th1, красными стрелками – Th2-клеток). АГ – антиген, АПК – антигенпрезентирующая клетка, ДК – дендритная клетка, CTL – цитотоксический Т-лимфоцит, $CD8^+$ T_{reg} – адаптивный регуляторный Т-лимфоцит, TCR – Т-клеточный рецептор [2]

2. Уровень тех или иных цитокинов, продуцируемых NKT-клетками, может изменяться в зависимости от вида презентуемого антигена. В подтверждение данной гипотезы найдены аналоги α -GalCer, которые стимулируют продукцию NKT-клетками Th2-цитокинов, тогда как С-гликозиды индуцируют продукцию Th1-цитокинов [11] (рис. 3а).

3. NKT-клетки при активации продуцируют определенное количество иммунологически активных факторов, однако степень их влияния на тот или иной иммунный ответ организма варьирует в зависимости от времени, прошедшего от начала активации. Это подтверждают некоторые данные, полученные при изучении NKT-клеток у мышей, и согласно которым, NKT-клетки продуцируют и IFN- γ , и IL-4 сразу после взаимодействия с α -GalCer [2]. Скорость продукции цитокинов указывает на то, что мРНК к ним была синтезирована до стимуляции NKT-клеток. При этом продукция IL-4 с течением времени значительно сокращается, в то время как IFN- γ остается на прежнем уровне в течение 2–3 дней (рис. 3а).

4. Согласно последней гипотезе, активация Th1- или Th2-клеток зависит от типа субпопуляции NKT-лимфоцитов. Например, $CD4^+$ NKT-клетки человека продуцируют гораздо более высокий уровень Th2-цитокинов, по сравнению с Th1-цитокинами, и обладают набором рецепторов хемокинов и цитотоксических молекул, отличных от $CD4^-$ NKT-клеток (рис. 3б).

Существуют данные, подтверждающие каждую из данных гипотез, возможно, некоторые из них мо-

гут сосуществовать. В целом, механизмы, определяющие NKT-опосредованное преобладание гуморального иммунного ответа над клеточным и наоборот, в настоящее время полностью не определены и продолжают изучаться [2, 11, 13, 16].

Роль NKT-клеток в защите от проявлений внешней или внутренней форм биологической агрессии

NKT-клетки, продуцирующие цитокины, участвуют в регуляции иммунного ответа, идущего по механизму активации как Th1-, так и Th2-клеток, способствуя защите организма от внутриклеточных инфекций различной природы, от возникновения, роста и метастазирования опухолей, а также от развития аутоиммунных заболеваний [3, 4, 8, 11, 20, 23–25].

Противобактериальная активность NKT-клеток

NKT-клетки I типа участвуют в защите организма от *Mycobacterium tuberculosis* и *Pseudomonas aeruginosa*. Введение α -GalCer мышам, предварительно инфицированным *M. tuberculosis*, способствует миграции лимфоцитов в легкие, а также увеличивает продолжительность жизни инфицированных мышей [26]. iNKT-клетки принимают участие в клиренсе легких мышей от бактерий *P. aeruginosa*; у мышей с нокаутом гена *CD1d* в легких зарегистрировано снижение содержания нейтрофилов, а также падение уровня макрофагального провоспалительного протеина 2 (MIP-2). Также показана протективная роль iNKT-клеток в защите организма человека и животных от патогенов рода *Salmonella*, *Borrelia*, *Leishmania*, *Shistosoma*, *Sphingomonas* и *Ehrlichia* [26–28].

Противопаразитарная активность NKT-клеток

Активированные iNKT-клетки печени защищают организм от *Plasmodium yoelii*, увеличивая продукцию IFN- γ . Введение α -GalCer при вакцинации мышей *P. yoelii* усиливает протективное действие iNKT-клеток, ингибируя паразитемию, вызванную введением вакцины [25]. Также установлено участие iNKT-клеток в защите организма от *Leishmania major* и *Toxoplasma gondii*. Введение вакцины из *T. gondii* здоровым мышам вызывает активацию $CD8^+$ Т-лимфоцитов, продуцирующих IFN- γ , обладающих противопаразитарным действием [1, 11, 23].

Участие NKT-клеток в защите от микотических инфекций

Cryptococcus neoformans является микотическим патогеном, на первых этапах заболевания поражающим легкие, а на более поздних этапах – центральную нервную систему (ЦНС). Для YC-13-штаммов, используемых при моделировании *C. neoformans* у мышей, характерна ограниченная локализация; ЦНС при этом не поражается. Введение α -GalCer повышает резистентность инфицированных мышей за счет активации NKT-клеток и продукции ими IFN- γ [16, 29].

миеломоноцитной лейкемии, а также EL4 тимомы, при инъекции опухолевых клеток вместе с α -GalCer исследователям удавалось индуцировать противоопухолевый иммунный ответ, включающий iNKT- и NK-опосредованный лизис опухолевых клеток и презентацию опухолевых антигенов дендритными клетками эффекторным Т-лимфоцитам [38, 42].

iNKT-клетки человека также участвуют в индукции противоопухолевого иммунного ответа. Согласно данным, полученным *in vitro*, α -GalCer-опосредованная активация iNKT-клеток приводит к лизису опухолевых клеток NK-клетками [42, 44]. Установлены статистически достоверные более низкие значения уровня iNKT-клеток в периферической крови пациентов с солидными опухолями по сравнению со здоровыми донорами [37, 39, 40]. У пациентов со злокачественными новообразованиями наблюдается подавление пролиферации NKT-клеток I типа, а также продукции ими IFN- γ [44]. Для некоторых видов солидных опухолей показано значение определения количества iNKT-клеток, инфильтрирующих опухоль, как прогностического фактора выживаемости пациентов: при высоком числе iNKT-клеток вероятность выживаемости весьма высока [41]. Использование инъекций α -GalCer вместе с дендритными клетками в клинике показало, что уровень iNKT-клеток повышается в периферической крови пациентов с различными солидными опухолями, кроме того, повышается уровень сывороточного IFN- γ и IL-12, а также наблюдаются стимуляция цитотоксической активности NK-клеток и активация Т-лимфоцитов [2, 43, 44].

Механизм супрессии противоопухолевого иммунного ответа NKT-клетками II типа

NKT-клетки II типа участвуют в супрессии противоопухолевого иммунного ответа. Как оказалось, прямая активация NKT-клеток II типа с помощью сульфатида в организме мышей с экспериментальной моделью солидных опухолей легких вызывала рост опухолевой массы [11, 37, 42]. Экспрессия опухолевыми клетками организма человека сульфатидов, по-видимому, также может играть роль в активации NKT-клеток II типа и ингибировании противоопухолевого иммунного ответа у пациентов с онкологическими заболеваниями [42, 46].

Исследователями был предложен следующий механизм супрессии противоопухолевого иммунного ответа NKT-клетками II типа (рис. 5): при активации NKT-клеток II типа (как правило, CD4⁺-субпопуляции) опухолевыми гликолипидами, презентуемыми молекулами CD1d АПК, они продуцируют IL-13. IL-13, а также его кофактор TNF- α связываются с рецепторами CD11b⁺Gr-1⁺-миелоидных клеток, обладающих супрессорной активностью. TNF- α связывается со своим рецептором на клеточной поверхности

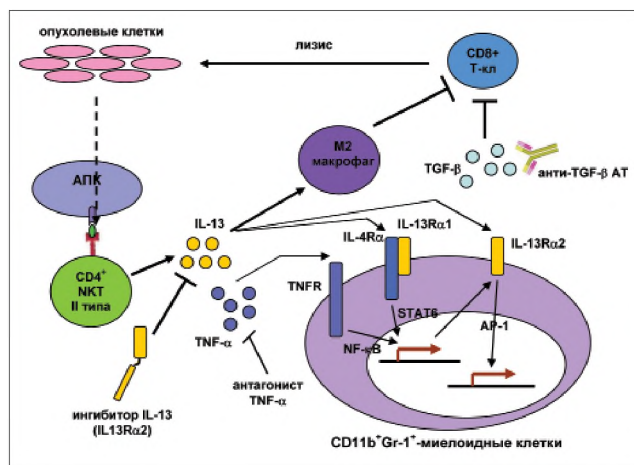


Рис. 5. Механизм супрессии противоопухолевого иммунного ответа NKT-клетками II типа. АПК – антигенпрезентирующая клетка [11, 15]

TNFR, индуцирующим внутриклеточный сигнальный каскад, результатом которого является активация транскрипционного фактора NF- κ B. IL-13, в свою очередь, связывается с рецептором IL-4 II типа (IL-4R), состоящим из 2 субъединиц – IL-4R α и IL-13R α 1, что приводит к активации транскрипционного фактора STAT6, запускающего экспрессию IL-13R α 1 на поверхности CD11b⁺Gr-1⁺ миелоидных клеток. Связывание IL-13 с IL-13R α 1 приводит к AP-1-опосредованной индукции экспрессии TGF- β , подавляющего активность цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов. Посредством продукции IL-13 NKT-клетки II типа также могут активировать M2-макрофаги, функция которых заключается в подавлении активности CD8⁺ Т-лимфоцитов и индукции роста опухолевых клеток. Блокада IL-13 с помощью его ингибитора – растворимого IL-13R α 2, а также связывание TGF- β анти-TGF- β -антителами или блокада активности TNF- α с помощью антагонистов может заблокировать данный механизм супрессии [45]. IL-4 не принимает участия в данном регуляторном механизме, так как продукция TGF- β CD11b⁺Gr-1⁺-миелоидными клетками осуществляется только при одновременном связывании IL-13 и TNF- α со своими рецепторами [42, 45, 46].

Взаимодействие субпопуляций NKT-клеток I и II типа друг с другом и с другими клеточными субпопуляциями

Перекрестная регуляция NKT-клеток I и II типа

NKT-клетки I и II типа влияют на активность друг друга *in vitro* и *in vivo* (рис. 6) [15]. Как показали исследования, активированные сульфатидом NKT-клетки II типа, стимулируют плазматоидные дендритные клетки (пДК) к продукции IL-12, а также макрофагального воспалительного протеина 2 (MIP-2), подавляющих активность NKT-клеток I типа [47]. Незрелые дендритные клетки и CD11b⁺Gr-1⁺-миелоидные клетки также способны ингибировать активность iNKT-клеток. Таким образом, отклонение от динамического равновесия между данными субпопуляциями NKT-

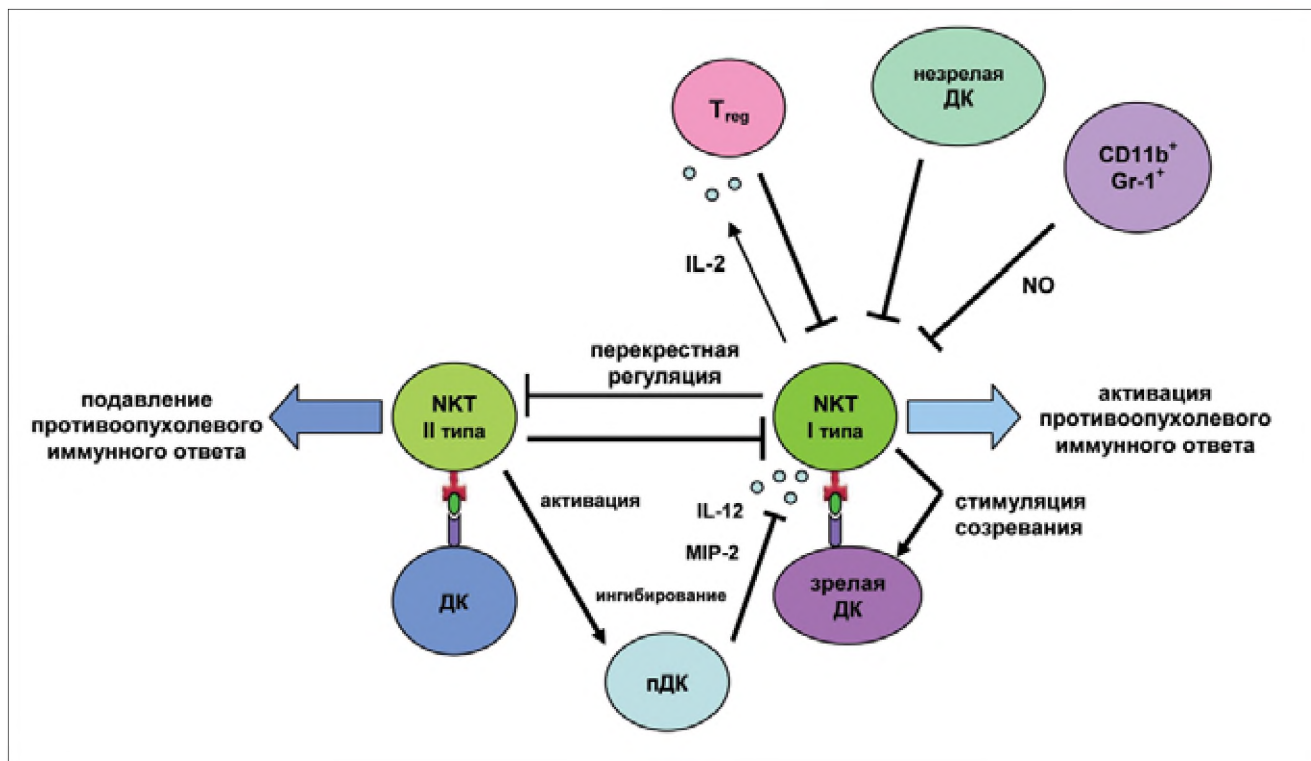


Рис. 6. Механизм перекрестной регуляции NKT-клеток I и II типа.

ДК – дендритные клетки, пДК – плазмацитоидные дендритные клетки, MIP-2 – макрофагальный провоспалительный протеин 2, NO – оксид азота, T_{reg} – естественный регуляторный T-лимфоцит [15, 21]

клеток может во многом определить исход иммунного ответа, включая Th1/Th2-баланс, при наличии в организме опухолевых клеток. Экзогенное воздействие на баланс активности NKT-клеток I и II типа может играть важную роль в успешности иммунотерапии пациентов [38, 44–47].

Взаимодействие NKT-клеток с T_{reg} -лимфоцитами

Между NKT-клетками I типа и $CD4^+CD25^+$ естественными регуляторными T-лимфоцитами (T_{reg} -клетками) существуют отношения антагонизма. В различных моделях индуцированного опухолевого роста у мышей инъекции T_{reg} -клеток вызывают стимуляцию роста опухолей, уменьшение количества iNKT-клеток всех 3 субпопуляций ($CD4^+$, $CD8^+$ и $CD4^-CD8^-$), подавление их пролиферации и продукции ими цитокинов [48]. Напротив, изучение моделей аутоиммунных заболеваний показывает, что АПК-активированные NKT-клетки I типа посредством IL-2 стимулируют T_{reg} -клетки [11, 23].

Взаимодействие NKT-лимфоцитов с NK-клетками

Активация NK-клеток NKT-лимфоцитами I типа, продуцирующими IFN- γ , а также IL-2, необходима для индукции противоопухолевого иммунного ответа данной субпопуляцией лимфоцитов [29, 37, 40, 41]. Существует и обратная связь – NK-клетки, активированные IL-12 и IL-18, способны преодолевать супрессирующее воздействие со стороны NKT-клеток II типа и участвовать в защите организма от

опухолевых клеток [29, 40].

Взаимодействие NKT-лимфоцитов с миелоидными супрессорными клетками и M2-макрофагами

$CD11b^+Gr-1^+$ -миелоидные супрессорные клетки представляют собой гетерогенную клеточную популяцию, включающую макрофаги, гранулоциты, незрелые дендритные клетки, а также миелоидные клетки-предшественники. В различных экспериментальных моделях индуцированного канцерогенеза, а также у пациентов с онкологическими заболеваниями эти клетки инфильтрируют опухоль, подавляя противоопухолевый иммунный ответ посредством продукции аргиназы, индуцибельной NO-синтазы и TGF- β , инактивирующих эффекторные T-лимфоциты [47]. NKT-клетки II типа активируют $CD11b^+Gr-1^+$ -миелоидные клетки, синтезирующие TGF- β , который оказывает супрессорный эффект на $CD8^+$ T-лимфоциты [46].

Взаимодействие NKT-лимфоцитов с дендритными клетками

С одной стороны, активация NKT-клетками I типа незрелых дендритных клеток стимулирует их созревание и продукцию ими важнейшего цитокина, обладающего противоопухолевой активностью – IL-12. С другой стороны, для NKT-клеток II типа показана способность рекрутировать плазмацитоидные дендритные клетки для индукции анергии NKT-клеток I типа. Кроме того, активированные iNKT-клетки стимулируют дифференцировку моноцитов в незрелые ден-

дритные клетки посредством продукции GM-CSF и IL-13 [49]. Показана и обратная связь — костимуляторные молекулы B7 и CD40 дендритных клеток играют роль в пролиферации NKT-клеток. Плазмацитоидные дендритные клетки человека, преимущественно экспрессирующие TLR9, способны активировать iNKT-клетки, продуцируя IFN I типа [47, 50].

Индукция активности NKT-клеток I типа в терапии пациентов с онкологическими заболеваниями

iNKT-клетки являются важнейшими регуляторами противоопухолевого иммунного ответа. В связи с этим, в настоящее время ведутся активные поиски способов стимуляции данной субпопуляции лимфоцитов в организме пациентов с различными злокачественными новообразованиями.

Разрабатываются методы активации NKT-клеток I типа человека с использованием нерастворимых форм α -GalCer, трансплантации аутологичных iNKT-клеток и др. Одним из методов лечения может быть комбинирование инъекций α -GalCer с применением препаратов, ингибирующих опухолевый рост и облегчающих презентирование АГ NKT-клеткам I типа. Показано эффективное использование аналога талидомида—леналидомида совместно с α -GalCer, которое способствует повышению продукции IFN- γ в периферической крови и замедлению опухолевого роста у пациентов с множественной миеломой [51].

Эффективным также оказывается применение в клинике терапии, основанной на трансплантации дендритных клеток вместе с α -GalCer. При этом происходит значительное увеличение количества iNKT-клеток в периферической крови пациентов, а также повышение уровня IL-2 и IP-10 [51–53]. Стимуляция пролиферации NKT-клеток I типа *ex vivo* и последующая трансплантация оказались эффективными в терапии пациентов со злокачественными новообразованиями легких [54].

Помимо различных способов активации NKT-клеток I типа другим направлением в стратегии повышения эффективности противоопухолевого иммунитета является изучение возможностей ингибирования негативных регуляторных механизмов. Так, связывание IL-13 и блокада его сигнального пути способствуют подавлению роста опухолей, для которых IL-13 является фактором роста, например, для лимфомы Ходжкина [55, 56]. Нейтрализация TGF- γ моноклональными антителами анти-TGF- γ позволяет значительно повысить активность цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов в организме пациентов с меланомой [57].

Заключение

NKT-клетки, являясь весьма малочисленной субпопуляцией Т-лимфоцитов, тем не менее играют важнейшую роль в регуляции направленности действия иммунного ответа. Исследования доказали, что NKT-клетки регулируют активность других ключевых компонентов иммунной системы — CD8⁺ Т-лимфоцитов, CD4⁺ Т-лимфоцитов, NK-клеток, T_{reg}-лимфоцитов, дендритных клеток, а также миелоидных клеток. Степень активности NKT-клеток определяет исход терапии различных заболеваний, от инфекционных до аутоиммунных и онкологических. Исследование путей регуляции NKT-клетками иммунного ответа при проявлении внешней или внутренней форм биологической агрессии важно как для фундаментального понимания механизмов функционирования иммунорегуляторных клеток, так и для разработки терапевтических препаратов. Развитие исследований совместного применения химио- и иммунотерапии представляет собой одно из перспективных направлений борьбы со злокачественными опухолевыми клетками в организме человека. Изучение различных способов воздействия на активность NKT-клеток в клинике может иметь решающее значение в лечении злокачественных новообразований.

Л и т е р а т у р а

1. Sköld M. and Behar M.S. Role of CD1d-restricted NKT Cells in microbial immunity. *Infection and Immunity* 2003;71(10):5447–55.
2. Godfrey D.I. and Kronenberg M. Going both ways: immune regulation via CD1d-dependent NKT cells. *J Clin Invest* 2004;114:1379–88.
3. Van Dommelen S.L.H., Degli-Esposti M. NKT cells and viral immunity. *Immunology and Cell Biology* 2004;82:332–41.
4. Borowski C. and Bendelac A. Signaling for NKT cell development: the SAP-FynT connection. *JEM* 2005;201(6):833–6.
5. Latour S., Roncagalli R., Chen R. et al. Binding of SAP SH2 domain to FynT SH3 domain reveals a novel mechanism of receptor signaling in immune regulation. *Nat Cell Biol* 2003;5:149–54.
6. Veillette A. and Latour S. The SLAM family of immune-cell receptors. *Curr Opin Immunol* 2003;15:277–85.
7. Chung B., Aoukaty A., Dutz J. et al. Signaling lymphocytic activation molecule-associated protein controls NKT cell functions. *J Immunol* 2005;174:3153–7.
8. Bezradica J.S., Hill T., Stanic A.K. et al. Commitment toward the natural T (iNKT) cell lineage occurs at the CD4⁺CD8⁺ stage of thymic ontogeny. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102:5114–9.
9. Lodolce J.P., Boone D.L., Chai S. et al. IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation. *Immunity* 1998;9:669–76.
10. Taniguchi M., Harada M., Kojo S. et al. The regulatory role of Valpha14 NKT cells in innate and acquired immune response. *Annu Rev Immunol* 2003;21:483–513.
11. Bendelac A., Savage P.B., Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* 2007;25:297–336.
12. Gumperz J.E., Miyake S., Yamamura T. et al. Functionally distinct subsets of CD1d-restricted natural killer T cells revealed by CD1d tetramer staining. *J Exp Med* 2002;195:625–36.
13. Lee P.T., Benlagha K., Teyton L. et al. Distinct functional lineages of human Va24 natural killer cells. *Jour Exp Med*

- 2002;195:637–41.
14. Haj M.E., Yaacov A.B., Lalazar G. et al. Potential role of NKT regulatory cell ligands for the treatment of immune mediated colitis. *WJG* 2007;28;13(44):5799–5804.
15. Giabbai B., Sidobre S., Crispin M.D. et al. Crystal structure of mouse CD1d bound to the self ligand phosphatidylcholine: a molecular basis for NKT cell activation. *J Immunol* 2005;175:977–84.
16. Kinjo Y., Wu D., Kim G. et al. Recognition of bacterial glycosphingolipids by natural killer T cells. *Nature* 2005;434:520–5.
17. Mattner J., Debord K.L., Ismail N. et al. Exogenous and endogenous glycolipid antigens activate NKT cells during microbial infections. *Nature* 2005;434:525–9.
18. Sriram V., Du W., Gervay-Hague J. et al. Cell wall glycosphingolipids of *Sphingomonas paucimobilis* are CD1d-specific ligands for NKT cells. *Eur J Immunol* 2005;35:1692–701.
19. Wu D., Xing G.W., Poles M.A. et al. Bacterial glycolipids and analogs as antigens for CD1d-restricted NKT cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:1351–6.
20. Behar S.M., Cardell S. Diverse CD1d-restricted T cells: diverse phenotypes and diverse functions. *Semin Immunol* 2000;12:551–60.
21. Park S.H., Weiss A., Benlagha K. et al. The mouse CD1d-restricted repertoire is dominated by a few autoreactive T cell receptor families. *J Exp Med* 2001;193:893–904.
22. Chiu Y.H., Jayawardena J., Weiss A. et al. Distinct subsets of CD1d-restricted T cells recognize self-antigens loaded in different cellular compartments. *J Exp Med* 1999;189:103–10.
23. Lin H., Nieda M., Rozenkov V. et al. Analysis of the effect of different NKT cell subpopulations on the activation of CD4 and CD8 T cells, NK cells, and B cells. *Exp Hematol* 2006;43:289–95.
24. Miyamoto K., Miyake S., Yamamura T. A synthetic glycolipid prevents autoimmune encephalomyelitis by inducing TH2 bias of natural killer T cells. *Nature* 2001;413:531–4.
25. Gonzalez-Aseguinolaza G., Van Kaer L., Bergmann C.C. Natural killer T cell ligand α -galactosylceramide enhances protective immunity induced by malaria vaccines. *J Exp Med* 2002;195:617–24.
26. Moody D.B., Ulchirs T., Muchlecker W. et al. CD1c-mediated T-cell recognition of isoprenoid glycolipids in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Nature* 2000;404:884–8.
27. Brigl M., Bry L., Kent S.C. et al. Mechanism of CD1d-restricted natural killer T cell activation during microbial infection. *Nat Immunol* 2003;4:1230–7.
28. Fischer K., Scotet E., Niemeyer M. et al. *Mycobacterial* phosphatidylinositol mannoside is a natural antigen for CD1d-restricted T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:10685–90.
29. Carnaud C., Lee D., Donnars O. et al. Cutting edge: cross-talk between cells of the innate immune system: NKT cells rapidly activate NK cells. *J Immunol* 1999;163:4647–50.
30. Baron J.L., Gardiner L., Nishimura S. et al. Activation of a nonclassical NKT cell subset in a transgenic mouse model of hepatitis B virus infection. *Immunity* 2002;16:583–94.
31. Godfrey D.I., Berzins S.P. Control points in NKT-cell development. *Nat Rev Immunol* 2007;7:505–18.
32. Gombert J.M., Herbelin A., Tancrede-Bohin E. et al. Early quantitative and functional deficiency of NK1+/-like thymocytes in the NOD mouse. *Eur J Immunol* 1996;26:2989–98.
33. Araki M., Kondo T., Gumperz J.E. et al. Th2 bias of CD4+ NKT cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* 2003;15:279–88.
34. Akbari O., Faul J.L., Hoyte E.G. et al. CD4+ invariant T-cell-receptor+ natural killer T cells in bronchial asthma. *N Engl J Med* 2006;354:1117–29.
35. Jahng A., Maricic I., Aguilera C. et al. Prevention of autoimmunity by targeting a distinct, noninvariant CD1d-reactive T cell population reactive to sulfatide. *J Exp Med* 2004;199:947–57.
36. Hayakawa Y., Rovero S., Forni G. et al. Alpha-galactosylceramide (KRN7000) suppression of chemical- and oncogene-dependent carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:9464–9.
37. Smyth M.J., Godfrey D.I. NKT cells and tumor immunity – a double-edged sword. *Nat Immunol* 2000;1:459–60.
38. Berzofsky J.A., Terabe M. NKT cells in tumor immunity: opposing subsets define a new immunoregulatory axis. *J Immunol* 2008;180:3627–35.
39. Cui J., Shin T., Kawano T. et al. Requirement for Valpha14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors. *Science* 1997;278:1623–8.
40. Street S.E., Cretney E., Smyth M.J. Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth and metastasis. *Blood* 2001;97:192–7.
41. Metelitsa L.S., Naidenko O.V., Kant A. et al. Human NKT cells mediate antitumor cytotoxicity directly by recognizing target cell CD1d with bound ligand or indirectly by producing IL-2 to activate NK cells. *J Immunol* 2001;167:3114–22.
42. Terabe M. and Berzofsky J.A. The role of NKT cells in tumor immunity. *Adv Cancer Res* 2009;101:277–348.
43. Seino K., Motohashi S., Fujisawa T. et al. Natural killer T cell-mediated antitumor immune responses and their clinical applications. *Cancer Sci* 2006;97:807–12.
44. Tahir S.M., Cheng O., Shaulov A. et al. Loss of IFN- γ production by invariant NK T cells in advanced cancer. *J Immunol* 2001;167:4046–50.
45. Terabe M., Matsui S., Noben-Trauth N. et al. NKT cell-mediated repression of tumor immunosurveillance by IL-13 and the IL-4R-STAT6 pathway. *Nature Immunology* 2000;66:3869–75.
46. Terabe M., Swann J., Ambrosino E. et al. Anonclassicalnon-Valpha18CD1d-restricted (type II) NKT cell is sufficient for down-regulation of tumor immunosurveillance. *J Exp Med* 2005;202:1627–33.
47. Montoya C.J., Jie H.B., Al-Harathi L. et al. Activation of plasmacytoid dendritic cells with TLR9 agonists initiates invariant NKT cell-mediated cross-talk with myeloid dendritic cells. *J Immunol* 2006;177:1028–39.
48. Azuma T., Takahashi T., Kunisato A. et al. Human CD4+CD25+ regulatory T cells suppress NKT cell functions. *Cancer Res* 2003;63:4516–20.
49. Hedge S., Chen X., Keaton J.M. et al. NKT cells direct monocytes into a DC differentiation pathway. *J Leukoc Biol* 2007;81:1224–35.
50. Salio M., Speak A.O., Shepherd D. et al. Modulation of human natural killer T cell ligands on TLR-mediated antigen-presenting cell activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:20490–5.
51. Chang D.H., Osman K., Connolly J. et al. Sustained expansion of NKT cells and antigen-specific T cells after injection of alpha-galactosyl-ceramide loaded mature dendritic cells in cancer patients. *J Exp Med* 2005;201:1503–17.
52. Okai M., Nieda M., Tazbirkova A. et al. Human peripheral blood Valpha24+ Vbeta11+ NKT cells expand following administration of alpha-galactosylceramide-pulsed dendritic cells. *Vox Sang* 2002;83:250–3.
53. Ishikawa E., Motohashi S., Ishikawa A. et al. Dendritic cell maturation by CD11c-T cells and Valpha24+natural killer T-cell activation by alpha-galactosylceramide. *Int J Cancer* 2005;117:265–73.
54. Motohashi S., Ishikawa A., Ishikawa E. et al. Immunostimulatory and antitumor activities of monoglycosylceramides having various sugar moieties. *Biol Pharm Bull* 2006;12:6079–86.
55. Skinnider B.F., Kapp U., Mak T.W. The role of interleukine 13 in classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2002;43:1203–10.
56. Trieu Y., Wen X.Y., Skinnider B.F. et al. Soluble interleukin-13Ralpha2 decoy receptor inhibits Hodgkins lymphoma growth in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2004;64:3271–5.
57. Morris J.C., Shapiro G.I., Tan A.R. et al. Phase I/II study of GC1008: a human anti-transforming growth factor-beta (TGFB) monoclonal antibody (MAb) in patients with advanced malignant melanoma (MM) or renal cell carcinoma (RCC). *J Clin Oncol* 2008;26:489.