

## УЛОГА ЦИТОКИНА У РЕГУЛАЦИЈИ ФУНКЦИЈА ЋЕЛИЈА „ПРИРОДНИХ УБИЦА”

Владимир ЈУРИШИЋ<sup>1</sup>, Слађана СТОЈАЧИЋ-ЂЕНИЋ<sup>2</sup>,  
Наташа ЧОЛОВИЋ<sup>3</sup>, Гордана КОЊЕВИЋ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Катедра за патолошку физиологију, Медицински факултет, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац;

<sup>2</sup>Институт за гастроентерологију, Клинички центар Србије, Београд;

<sup>3</sup>Институт за хематологију, Клинички центар Србије, Београд;

<sup>4</sup>Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд

### КРАТАК САДРЖАЈ

Ћелије „природне убице” (енгл. *natural killer cells* – *NK* ћелије) су имунофенотипски описане као *CD3<sup>+</sup>*, *CD16<sup>+</sup>*, *CD56<sup>+</sup>* и имају главну улогу у неспецифичном урођеном имунитету. Ове ћелије имају способност да убију поједине циљне туморске или ћелије инфициране вирусом без посредовања класе антигена главног комплекса хистокомпатибилности (*MHC*). Активност *NK* ћелија је регулисана балансом појединих активационих и инхибиторних рецептора на ћелијској мембрани, мада поједине молекуле из породице цитокина и хемокина могу значајно да мењају активност ових ћелија, што чини темељ за нове терапијске основе назване имуномодулација. Модулација имуног одговора посредована *NK* ћелијама има велику примену у онкологији и разним другим поремећајима имуног система. У овом раду описана су дејства појединих интерлеукина и хемокина (*IFN*, *IL-1*, *IL-2*, *IL-4*, *IL-7*, *IL-12*, *IL-17*, *IL-22*) на функцију *NK* ћелија. Поједини цитокини доводе до диференцијације и активације *NK* ћелија (*IL-2*, *IL-12*), испољавања нових молекула, док неки цитокини могу да индукују лучење других цитокина (*IFN- $\gamma$* , *IL-10*) или убрзају егзоцитозу већ створених цитотоксичних молекула (гранзим, перфорин). Секретовани цитокини или ослобођени медијатори испољавају снажно локално или удаљено дејство на циљно ткиво, мада поједини секретовани цитокини, као што је *TNF- $\alpha$* , мењају активност и самих *NK* ћелија индукујући апоптозу, углавном после везивања за поједине молекуле из породице суперфамилије рецептора за *TNF*.

**Кључне речи:** активност *NK* ћелија; цитокини; активација; апоптоза; *IFN*; *IL-2*; *IL-4*; *IL-7*; *IL-12*; *IL-17*; *IL-22*; *TNF- $\alpha$*

### УВОД

Ћелије „природне убице” (енгл. *natural killer cells* – *NK* ћелије) су популација лимфоцита периферне крви (10-15%) које припадају систему урођене, природне имуности и имају важну улогу у одбрани организма од вирусних инфекција и спречавању настанка малигнитета [1-4]. Главна одлика *NK* ћелије је њена активација без посредовања главног комплекса хистокомпатибилности (*MHC*), за коју нису потребни испољавање конвенционалних *T*-ћелијских рецептора и претходна сензибилизација, што их одваја од класичних *T*-цитотоксичних ћелија. Активност *NK* ћелија је регулисана односом испољености појединих активационих и инхибиторних рецептора на мембрани [1, 5]. Активност *NK* ћелија регулишу поједини молекули из групе цитокина и хемокина, значајно мењајући стварање секретованих молекула, индукују синтезу појединих имунорегулаторних цитокина *de novo*, а неки доведе до диференцијације *NK* ћелија или чак смањења цитотоксичност, што је основни правац у разумевању имуномодулације [1, 5-7]. Имуномодулација цитокинима или ћелијама је основа за клиничку примену имунотерапијских поступака у лечењу малигнитета и других болести имуног система [2, 6].

### ЦИТОКИНИ И ЊИХОВА ДЕЈСТВА НА *NK* ЋЕЛИЈЕ

Цитокини су група малих молекула с молекулском масом од 6 до 60 килодалтона (*kD*). Цитокине стварају многе ћелије имуног система, углавном после активације. Цитокини учествују у активацији и регулацији имуног система преко *Th* ћелија, имају способност да преко диференцијације и пролиферације ћелија регулишу хематопоезу, ангиогенезу и опоравак ткива. Цитокине стварају и туморске ћелије.

Постоје разне поделе цитокина: неке су извршене на основу њихове структуре, а неке на основу њиховог биолошког дејства. Првобитно су се цитокини описивали према врсти ћелија које их стварају или на које делују, тако да постоји подела на активационе и инхибиторне цитокине, док се према врсти имуног одговора сврставају на оне који припадају специфичним имуним реакцијама и оне који регулишу неспецифичне реакције [8-13]. Постоји подела и на *Th<sub>1</sub>* и *Th<sub>2</sub>* цитокине према поларизацији и диференцијацији *Th* ћелија у тип *Th<sub>1</sub>* или *Th<sub>2</sub>*.

Молекули из групе цитокина који делују на диферентовање и раст хематопоетских ћелија називају се хемокини. Постоје поделе цитокина према структу-

ри молекула, које се највише примењују у последње време, након усвајања техника клонирања и стварања рекомбинантних молекула. У светлу сазнања геномике и клонирања генома, као и на основу молекулских анализа, долази до јаснијег разумевања ефеката и дејства цитокина на генском нивоу. Цитокини, поред својих разних утицаја, испољавају ефекте и на активацију, пролиферацију и цитотоксичну активност *NK* ћелија [10, 11], па ће у овом раду бити описана само најважнија дејства појединих цитокина (Схема 1), углавном према редоследу њиховог открића.

## ДЕЈСТВА ПОЈЕДИНИХ ЦИТОКИНА НА АКТИВНОСТ *NK* ЋЕЛИЈА

### Дејство интерферона

Интерферон (*IFN*) је био један од првих цитокина чије се дејство на *NK* ћелије испитивало. Постоје три типа интерферона –  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  – које луче ћелије инфициране вирусом, а дејство испољавају преко својих рецептора. Све три врсте интерферона показују различит потенцијал на активност *NK* ћелија [14, 15], мада могу да активирају и друге ћелије имуног система [16]. *IFN- $\alpha$*  и *IFN- $\beta$*  у већем степену повећавају активност *NK* ћелија у односу на *IFN- $\gamma$* . Повећање активности *NK* ћелија уочава се између четири часа и шест часова после излагања ћелија интерферону. У *NK* ћелијама долази до повећања синтезе информационе РНК за серин-естеразе и друге ензиме који имају улогу у цитотоксичним реакцијама. Поред овога, показано је како *IFN- $\alpha$*  и *IFN- $\beta$*  индукују бластогенезу незрелих *NK* ћелија *in vivo*, док у огледима *in vitro* ове врсте интерферона инхибирају пролиферацију *NK* ћелија

преходно индуковану интерлеукином 2 (*IL-2*). *IFN- $\alpha$*  модулира имуни одговор директно фаворизујући стварање типа *Th<sub>1</sub>* цитокина, *IFN- $\gamma$*  и *IL-12*, те доводи до активације и пролиферације *NK* ћелија и повећања експресије појединих активационих антигена на *NK* ћелијама [2], мада и саме *NK* ћелије после стимулације интерфероном стварању поједине цитокине из групе *Th<sub>1</sub>* и *Th<sub>2</sub>* типа.

### Дејство интерлеукина 1

Интерлеукин 1 (*IL-1*), глобуларни протеин од 31 *kD*, први је описани цитокин. Стварају га моноцити, макрофаги, *B* и *T* лимфоцити и ендотелне ћелије [8]. Главни је медијатор запаљења, а његово стварање је повећано код малигних болести. *IL-1* повећава цитотоксичну активност *NK* ћелија, мада то чини индиректно, преко индукције и синтезе *IL-2*.

### Дејство интерлеукина 2

Дејство *IL-2* на активност *NK* ћелија се највише изучавало и објаснило. Одмах по открићу *IL-2*, а нарочито после стварања хуманог рекомбинантног *IL-2*, показано је да у његовом присуству *NK* ћелије периферне крви испољавају појачану цитотоксичност. *IL-2*, као регулатор активације и пролиферације *NK* ћелија, остварује дејство преко рецепторских комплекса који се налазе на ћелијској мембрани [17]. Првобитно је показано да се рецептор за *IL-2* (*IL-2R*) састоји од две субјединице [18]. Једна компонента рецептора или *CD25* (*Tac* антиген, *IL-2R $\beta$ 55*,  $\alpha$ -ланца) је полипептид од 55 *kD* који везује *IL-2* ниским афинитетом. Друга компо-

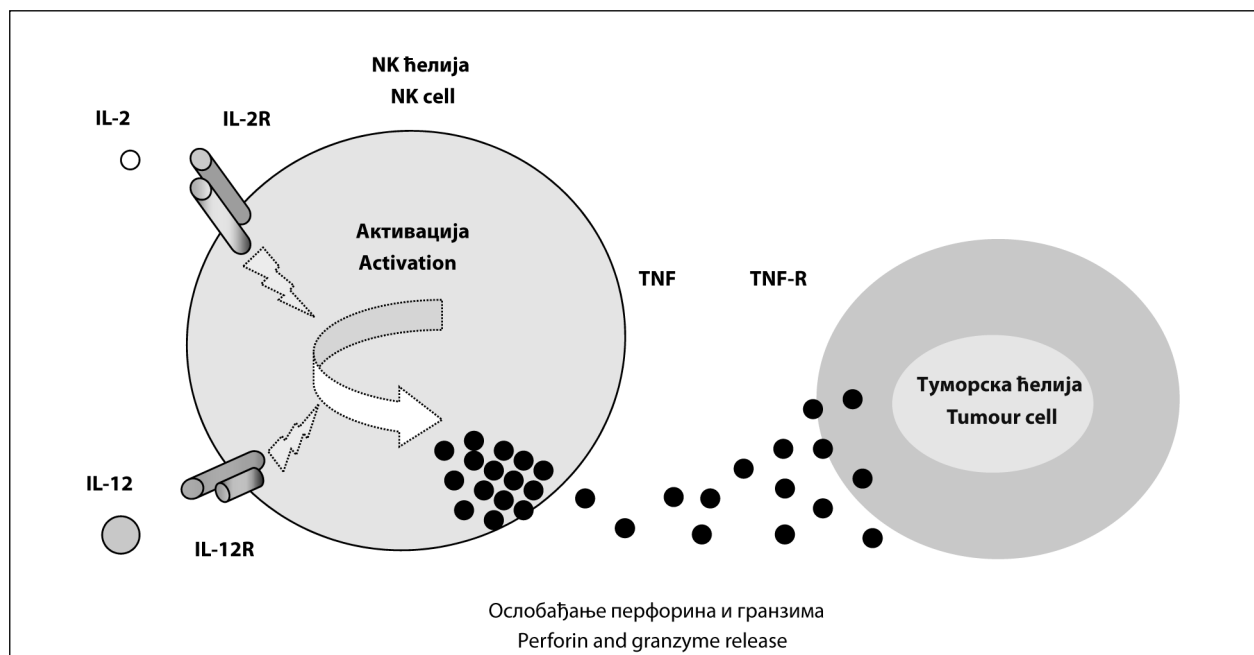


СХЕМА 1. Механизам деловања цитокина на ослобађање гранула из *NK* ћелија.  
SCHEME 1. The mechanism of cytokine action on the granular release from *NK* cells.

нента рецептора (*IL-2R $\beta$* ,  $\beta$ -ланац) је полипептид од 75 kD који може да врши пренос сигнала с мембране и код изостанка  $\alpha$ -ланца. Испољени заједно на хелијској мембрани,  $\alpha$  и  $\beta$  ланци могу да постоје у облику хетеродимера који везују *IL-2* високим афинитетом. У последње време препозната је и клонирана трећа компонента рецептора, названа  $\gamma$ -ланац, за коју се сматра да није одговорна за везивање с *IL-2*, већ да је неопходна за преношење сигнала током процеса активације хелија овим цитокином [19, 20].

*NK* хелије показују повећано лизирање циљних хелија 4-6 часова после излагања *IL-2*. Антитела усмерена на  $\alpha$ -ланац не доводе до смањења цитотоксичности, због чега се претпоставља да је ова реакција највероватније посредована  $\beta$ -ланцима [21]. Током континуиране инкубације *NK* хелија с *IL-2*, која траје три-четири дана, долази до индукције пролиферације и стварања *LAK* хелија (енгл. *lymphokine activated killer cells* – хелије убице активирани лимфоцитима). Орталдо (*Ortaldo*) је 1990. године претпоставио да је за пролиферацију и лучење цитокина неопходно везивање *IL-2* за  $\beta$ -ланац, јер претретман *CD56<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> NK* хелија моноклонским антителима за овај ланац доводи до значајног смањења описаних функција.

У последње време објављују се подаци о томе који се интрахелијски сигнали активирају у присуству цитокина. Показано да разне фамилије протеин-тирозин киназа имају улогу у активацији лимфоцита [22], као и то да су ови молекули неопходни у преносу сигнала с рецептора [23]. Првобитно је доказано да протеин-тирозин киназа *p56<sup>lck</sup>* постоји у *NK* хелијама, а затим је у експериментима *in vitro* доказано да током инкубације *NK* хелија с *IL-2* настају брзо повећање активности ове киназе и брза фосфорилација њених серинских остатка [24]. Други радови показују да  $\gamma$ -ланац *IL-2R* на *NK* хелијама може да регулише пренос сигнала независно од  $\alpha$  и  $\beta$  ланца [25]. Претпоставља се да приликом активације *NK* хелија  $\gamma$ -ланац највероватније има главну улогу у преносу сигнала с рецептора до *p56<sup>lck</sup>*. У многим клиничким истраживањима показно је да *IL-2* доводи до појачавања активности *NK* хелија истовремено с испољавањем других активационих молекула, али је ефекат у примени ипак ограничен [26].

#### Дејство интерлеукина 4

*IL-4*, гликопротеин од 44 kD, првобитно је описан као активатор *B*-хелија који луче *CD4<sup>+</sup> Th<sub>1</sub>* хелије и мастоцити. Овај цитокин повећава пролиферацију еозинофила, индукује експресију *Fc $\epsilon$*  рецептора ниског афинитета и *MHC* антигена *II* класе, а утиче и на синтезу имуноглобулина класе *E*. Мења активност ефекторских хелија које учествују у реакцијама цитотоксичности посредоване антителима и представља имунорегулаторни цитокин [8, 11]. Поједини аутори истичу да овај цитокин повећава цитотоксичност

лимфоцита периферне крви, како *in vitro*, тако и *in vivo*, највероватније преко повећања нивоа интрахелијског цикличног аденозинмонофосфата (*c-AMP*) и смањења нивоа серин-естераза [27-29]. Други аутори су показали да *IL-4*, као један од фактора раста, испољава превасходно дејство на незреле *NK* хелије. При томе, овај цитокин инхибира првобитно индуковану пролиферацију и цитотоксичност *NK* хелија периферне крви с *IL-2* [30]. У изолованим културама *NK* хелија примећено је да код заступљености овог цитокина долази до смањења експресије *CD16* и *CD56* површинских антигена [31].

#### Дејство интерлеукина 7

*IL-7* је гликопротеин молекулске тежине од 20 kD који стварају хелије костне сржи и стромалне хелије тимуса. Ефекте испољава синергистички с митогенима и факторима раста на тимоците, као и на пре-*B* хелије. Има способност да индукује експресију *IL-2R*, па се претпоставља да тако повећава активност *NK* хелија индиректним путем, мада утицај на пролиферацију хуманих периферних *T*-хелија врши независно од рецептора за *IL-2*. Повећање цитотоксичности хелија периферне крви врши вероватно преко сопствених рецептора, за које је доказано да постоје на макрофагима и *NK* хелијама, да су из фамилије хемокина и делимично слични рецепторима за *IL-2* [32]. Наша искуства показују синергизам у дејству *IL-2* и *IL-7* на повећање активности *NK* хелија [10]. Утврђено је да *IL-7* индукује активност *LAK* хелија периферне крви, много више него што то чини *IL-2* [33]. Занимљиво је да ову активност инхибирају *IL-4* и *TGF- $\beta$*  на начин који највероватније није конкуренција за исти рецептор.

#### Дејство интерлеукина 12

*IL-12*, као хетеродимер од 70 kD, изолован је из медијума *B*-лимфоцитних хелијских линија трансформисаних с Епстин-Баровим (*Epstein-Barr*) вирусом [34]. Овај цитокин делује имуностимулаторски у концентрацији мањој од 1 pM [15]. Раније је називан стимулаторни фактор *NK* хелија (енгл. *natural killer stimulatory factor* – *NKSF*), а затим матурациони фактор цитотоксичних лимфоцита (енгл. *cytotoxic lymphocyte maturation factor* – *CLMF*), док се није увидело да је реч о истом молекулу [35]. Данас се зна да *IL-12*: а) индукује снажно стварање *IFN- $\gamma$*  од стране *T* и *NK* хелија; б) повећава цитотоксичну активност *NK* хелија код хематолошких и солидних тумора; в) индукује пролиферацију и цитотоксичну активност *T* и *NK* хелија; г) делује синергистички с *IL-2* у генерисању *LAK* хелија.

На свеже изолованим лимфоцитима периферне крви показано је да је ниво информационе РНК за

*IFN-γ* већи када се ћелије инкубирају у комбинацији цитокина *IL-2* и *IL-12*, него када они делују одвојено [13, 15]. Синергизам дејства *IL-12* са другим цитокинима на активност *NK* ћелија интезивно се испитује [2, 9, 10, 36, 37]. Клиничке студије показују да *IL-12* повећава активност *NK* ћелија и преко цитотоксичности посредоване антителима (енгл. *antibody dependent cellular cytotoxicity – ADCC*). Активирани *NK* ћелије експримирају рецепторе (*CD16*) за *FcR-γ* и боље препознају туморску ћелију, успостављају бољи контакт, а степен лизирања туморских ћелија је већи. Ослобођени цитокини, перфони, гранзими и друге литичке супстанце или делују путем апоптозе или путем некрозе на ћелије тумора.

Како су показале многе експерименталне студије на мишевима, *IL-12*, превасходно преко појачаног лучења *IFN-γ*, али и преко других ослобођених цитокина *Th<sub>1</sub>* типа, спречава настанак метастаза. У клиничким студијама је показано да *IL-12* значајно повећава активност *NK* ћелија с примењеним херцептином (трансумаб, пречишћено хумизовано моноклонско антитело) направљеним према *Her-2* рецептору [38].

### Дејства интерлеукина 17

Важну улогу у ћелијском имуном одговору имају недавно откривени молекули из породице *IL-17*. Први молекул је означен као *IL-17a*, који је уједно и први описан и нема никакву заједничку секвенцу ни с једним другим цитокинима. Отада је описано још пет нових молекула из ове групе (*IL-17b*, *IL-17c*, *IL-17d*, *IL-17e*, односно *IL-25* интерферон). Сви имају молекулску тежину 10-30 *kD*, делимично се преклапају у секвенцама аминокиселина, али немају идентичне биолошке активности. Сви ови молекули имају четири сачуване цистеинске резидуе, а кристалографска структура *IL-17f* показује да су ти делови важни приликом формирања цистеинског чвора (структуре које повезују дисулфидне везе између цистеинских остатака, које имају хидрофобне делове и доводе до протеинске димеризације). То је чест део нађен у многим факторима раста. *IL-17a* углавном стварању *CD4<sup>+</sup>* *T*-ћелије после активације, а у нешто мањој количини неутрофили, еозинофили или *CD8<sup>+</sup>* *T*-ћелије. *IL-17d* стварају углавном неактивирани *CD4<sup>+</sup>* лимфоцити, а у малим количинама и *B*-лимфоцити. *IL-17e* стварају само *Th<sub>2</sub>* лимфоцити, а највероватније је повезан с одговором на алергију. *IL-17a* и *IL-17f* могу да стимулишу синтезу разних цитокина и хемокина из епителних и ендотелних ћелија, као и стварање *IL-6*, *GM-CSF* (енгл. *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* – фактор стимулације гранулоцитно-макрофагних колонија) и *CXCL10* [39].

*IL-17* индукује ослобађање бројних цитокина и хемокина који регулишу диференцијацију хематопоезе [40]. Превасходно стимулише незреле ћелије хематопоезе и мијелоидне ћелије, док инхибиторни ефекат испољава

на зреле ћелије. Претпоставља се да неке ефекте остварује преко модулације азот-моноксида, који је широко ткивно распрострањен молекул [40-42].

### ЛУЧЕЊЕ ЦИТОКИНА ИЗ *NK* ЋЕЛИЈА

Поред дејства појединих цитокина на *NK* ћелије и улоге цитокина на ефекторске и цитотоксичне функције, поједини цитокини доводе и до диференцијације *NK* ћелије у *NK<sub>1</sub>* или *NK<sub>2</sub>* тип ћелија. Ова подела је извршена на основу секретованих цитокина, као што су: *IFN-γ*, *IL-1β*, *IL-2*, *IL-3*, *TGF-β* (енгл. *transforming growth factor* – фактор трансформације раста), *GM-CSF*, *G-CSF* (енгл. *granulocyte colony stimulating factor* – фактор стимулације гранулоцитних колонија), *IL-10*, *IL-12*, *IL-13* и *IL-22*. Неки од створених цитокина припадају *Th<sub>1</sub>* стимулаторном одговору, док су други одговорни за имуносупресију, тако да *NK* ћелије испољавају значајну имунорегулаторну улогу. Сматра се да *NK* ћелије регулишу и диференцијацију мијелоидних ћелија с обзиром на то да је показан инхибиторни утицај на заједничке културе ових ћелија у условима *in vitro*, а описана је и регулаторна улога *NK* ћелија на екстрамедуларну хематопоезу.

### Фактор некрозе тумора α

Фактор некрозе тумора α (*TNF-α*) је цитокин који луче првенствено макрофаги и моноцити, стимулирани лимфоцити (*T* и *B*), мада га у великој количини стварају и активирани *NK* ћелије, неутрофили, базофили и мастоцити. Ово је један од главних цитокина којима *NK* ћелије врше своју основну функцију „ћелија убица”. Показано је како *TNF-α* учествује у бројним имуним реакцијама, као медијатор, испољавајући плејотропне ефекте, као и да појачава фагоцитозу [43-45].

*TNF* остварује ефекте преко молекула који су сврстани у породицу (суперфамилију) рецептора за *TNF*, која обухвата више од двадесет разних молекула са донекле сличним интраћелијским доменима. Најзначајнији рецептори су *TNF-R<sub>1</sub>* и *TNF-R<sub>2</sub>*. Ћелијски одговор после дејства овог цитокина је сложен и умногоме недовољно испитан. Првобитно је показано да овај цитокин има антитуморску активност према разним врстама ћелија [46-48]. Ћелије на којима је *TNF* испољавао ефекте првобитно су биле описане као *TNF*-сензитивне или *TNF*-резистентне. Данас је показано да овај цитокин секретован из *NK* ћелија изазива апоптотско и некротично дејство, везујући се за различите молекуле, а индукује пренос сигнала преко домена који изазивају смрт ћелије апоптотским путем или пренос сигнала преко молекула који су одговорни за ћелијску пролиферацију [48-50]. Ефекти на индукцију апоптозе могу да зависе од ћелијског циклуса, интраћелијске експресије појединих проапоп-

тотских или антиапоптотских молекула, као и од њиховог релативног односа [51-53]. Поред овога, *TNF- $\alpha$*  доприноси испољавању адхезионих молекула високог авидитета ( $\beta_1$  и  $\beta_2$  интегрина), који омогућавају лакшу миграцију активираних цитотоксичних ћелија кроз ендотел и ванћелијски матрикс у туморску масу, те бољи контакт са самим ћелијама тумора, што је предуслов за бољу ефикасност цитотоксичних ћелија. *NK* ћелије имају способност да ендогено луче *TNF- $\alpha$*  и индукују апоптозу сопствених ћелија [50].

## Интерлеукин 22

*IL-22* је откривен 2000. године приликом стимулације *T* лимфомских ћелија мишева (*BW 5147*) с *IL-9*. Информациона РНК за *IL-22* откривена је и приликом стимулације мастоцита у присуству конкавалина А (*Con-A*) и хуманих *T* лимфоцита анти-*CD3* антителима. *IL-22* припада породици молекула суперфамилије цитокина *IL-10* и првобитно је описан као фактор који индукује стварање *IL-10* из *T*-ћелија. Нешто раније описани су и други молекули, *IL-19*, *IL-20* и *IL-26*, који су због сличности у генској структури заједно сврстани у породицу *IL-10*. Гени за ове молекуле се налазе на хромозому 12 код мишева, док је у људском геному утврђено да се иРНК налази на неколико гена. Секвенца људског *IL-22* показује у 22,8% сличност са секвенцом *IL-10*, а у 80,8% сличност с мишињим *IL-22* [54, 55].

Главни извор стварања *IL-22* су активирани *T* лимфоцити и *NK* ћелије. *IL-22* остварује дејство преко *IL-22* рецептора, који је сложени молекул и састоји се од *IL-10* рецептора типа 2 и од *IL-22* рецептора типа 1. Овај рецептор се налази испољен на мукози само неколико врста ћелија: изолованим из дебелог црева, у нешто мањем степену на кератоцитима, на кожи и бубрезима, као и на ћелијама респираторног тракта. *IL-22* индукује пренос сигнала с рецептора преко *JAK/STAT* сигналних молекула. Сматра се да има најважнију улогу у локалној неспецифичној одбрани од патогена у лимфним чворовима и у обнови ткива. *IL-22* се излучује у већим количинама код особа оболелих од кожних болести (псоријазе) и од Кронове (*Crohn*) болести [54, 55].

## ЗАКЉУЧАК

Будући да цитокини могу да изврше активацију *NK* ћелија, очекивала се велика примена ових молекула у имуноterapiји и имуномодулацији у свим стањима смањења активности *NK* ћелија, првенствено у онкологији. Имајући у виду то да постоји ограничено стварање ефекторских молекула и начин како долази до стварања појединих нежељених цитокина, а да степен активације *NK* ћелије није увек задовољавајући, већ је пролазан и с краткотрајним ефектима,

клиничка примена цитокина је ипак ограничена. Нове технике клонирања и трансфера гена за поједине цитокине треба да пруже нове одговоре у могућности примене циљне терапије цитокинима у области имуномодулације.

## НАПОМЕНА

Рад је урађен на пројекту Министарства за науку Републике Србије број 145061.

## ЛИТЕРАТУРА

- Jurišić V. Characteristics of natural killer cell. *Srp Arh Celok Lek* 2006; 134(1-2):71-6.
- Konjević G, Mirjačić-Martinović K, Vuletić A, et al. Low expression of CD161 and NKG2D activating receptor is associated with impaired NK cell cytotoxicity in metastatic melanoma patients. *Clin Exp Metastasis* 2007; 24:1-11.
- Jurišić V, Jančić-Nedeljkov R, Konjević G, Spuzić I. Decrease of NK cell activity and characteristics of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in a haemochromatosis. *Haema* 2003; 6:85-8.
- Konjević G, Jurišić V, Baničević B, Spuzić I. Difference in NK cell activity between patients with non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *Br J Haematology* 1999; 104:144-51.
- Konjević G, Jurišić V, Spuzić I. Association of NK cell dysfunction with changes in LDH characteristics of peripheral blood lymphocytes (PBL) in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 66(3):255-63.
- Čolović M, Jurišić V. New treatment with monoclonal antibodies in haematology. In: Čolić M, editor. *Tumor Immunotherapy*. Belgrade: Serbian Academy of Sciences and Arts; 2006. p.41-58.
- Jurišić V, Srdić T, Konjević G, Spuzić I. Investigation of Immunomodulating and cytotoxic effects of TNF alpha on K-562 erytroleukemic cell line. In: Čolić M, editor. *Tumor Immunotherapy*. Belgrade: Serbian Academy of Sciences and Arts; 2006. p.229-42.
- Dinarello CA, Mier JW. Current concepts: Lymphokine. *N Engl J Med* 1987; 317:940-5.
- Konjević G, Spuzić I, Jurišić V. In-vitro effects of cytokines and cytokines receptors on the activity of NK cells. *JBOUON* 1996; 1(1):47-52.
- Konjević G, Jurišić V, Spuzić I. In-vitro effects of cytokines and cytokines receptors on the activity of NK cells. In: Atypas G, editor. *Balkan Congress of Oncology*, Monduzzi Editore, Bolona, 1996. p.9-11.
- Paul WE. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood* 1991; 77:1859-70.
- Pellegrini P, Contasta I, Berghella AM, Del Beato T, Umberto-Cacciani C, Adorno D. The Th1 and Th2 cytokine network in healthy subjects: suggestion for experimental studies to create prognostic and diagnostic indices for biotherapeutic treatment. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals* 2000; 15:267-78.
- Zhang J, Sun R, Liu J, Wang L, Tian Y. Reverse of NK cytotoxicity resistance of type II cytokine predominant-human tumor cells. *International Immunopharmacology* 2006; 6:1176-80.
- Leibson PJ. Viewpoint: Signal transduction during natural killer cell activation. *Nat Immunol* 1995; 14:117-22.
- Chan HS, Kobayashi M, Santoli D. Mechanism of IFN- $\gamma$  induction by natural killer cell stimulator factor (NKSF) = IL-12. *J Immunol* 1992; 148:92-8.
- Čolović M, Jurišić V, Janković G, Jovanović D, Dimitrijević J. Interferon  $\alpha$  sensitization-induced fatal renal insufficiency in a patient with chronic myeloid leukemia. *J Clinical Pathology* 2006; 59:879-81.
- Otraldo JR, Mason AT, Gerard JP, et al. Effects of natural and recombinant IL-2 on regulation of IFN- $\gamma$  production and natural killer activity: Lack of involvement of the Tac antigen these immunoregulatory effects. *J Immunol* 1984; 133:779-82.
- Wang H, Smith KA. The interleukin 2 receptor: Functional consequences of its biomolecular structure. *J Exp Med* 1987; 166:1055-7.
- Arima N, Kamio M, Imada K, et al. Pseudo- high affinity interleukin

- 2 (IL-2) receptor lacks the third component that is essential for functional IL-2 binding and signaling. *J Exp Med* 1992; 176:1265-72.
20. Takeshita T, Asao H, Othani K, et al. Cloning of the  $\gamma$  chain of the human IL-2 receptor. *Science* 1992; 257:379-82.
21. Siegel JP, Sharon M, Smith PL. The IL-2 receptor  $\beta$  chain (p70): Role in mediating signals for LAK, NK, and proliferation activities. *Science* 1987; 235:75-9.
22. Alexander DR, Cantrell DA. Kinases and phosphatases in T cell activation. *Immun Today* 1989; 10:200-20.
23. Asao H, Takeshita T, Nakamura M, Nagata K, Sugamura K. Interleukin 2 (IL-2) induced tyrosine phosphorylation of IL-2 receptor p75. *J Exp Med* 1990; 171:637-44.
24. Vitte-Mony I, Carmagnat DM, Bertoglio JH. Signal transduction of interleukin-2 in human natural killer cells: Involvement of the p56 lck tyrosine kinase. *Mol Immunol* 1994; 31(8):623-32.
25. Voss DV, Sondel PM, Robb RJ. Characterization of the interleukin 2 receptor (IL-2R) expressed on human natural killer cells activated in vivo by IL-2: association of the p64 IL-2R chain with the IL-2R  $\beta$  chain in functional intermediate-affinity IL-2R. *J Exp Med* 1992; 176:531-41.
26. Konjević G, Jović V, Jurišić V, Jelić S, Radulović S, Spužić I. IL-2-mediated augmentation of NK cell activity and activation antigen expression on NK and T cell subsets in patients with metastatic melanoma treated with interferon- $\alpha$  and DTIC. *Clinical Experimental Metastasis* 2003; 20(7):647-55.
27. Nagler A, Lanier LL, Philips JH. The effects of IL-4 on human natural killer cells. A potent regulator of IL-2 activation and proliferation. *J Immunol* 1988; 141:2349-51.
28. Naume B, Gately MK, Desai BB, Sundan A, Espevik T. Synergistic effects of interleukin-4 and interleukin-12 on NK cell proliferation. *Cytokine* 1993; 5(1):38-46.
29. Blay JY, Branellec D, Robinet E, Dugas B, Gay F, Chouaib S. Involvement of cyclic adenosine monophosphate in the interleukin 4 inhibitory effect on interleukin-2-induced lymphokine-activated killer generation. *J Clin Invest* 1990; 85:1909-13.
30. Higuchi CM, Thompson JA, Lindgren CG, et al. Induction of lymphokine-activated killer activity by interleukin 4 in human lymphocytes preactivated by interleukin 2 in vivo or in vitro. *Cancer Res* 1989; 49:6487-92.
31. Hayakawa K, Salmeron MA, Kornbluth J, Bucana C, Itoh K. The role of IL-4 in proliferation and differentiation of human natural killer cells. Study of an IL-4 dependent versus an IL-2 dependent natural killer cell clone. *J Immunol* 1991; 146:2453-60.
32. Olsson I, Gullberg U, Lantz M, Richter J. The receptors for regulatory molecules of hematopoiesis. *Eur J Hematol* 1992; 48:1-9.
33. Stotter H, Custer M. C, Bolton ES, Guedez L. IL-7 induced human lymphokine activated killer cell activity and is regulated by IL-4. *J Immunol* 1991; 146:150-5.
34. Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, Hewick R. M. Clark SC. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF) *J Exp Med* 1989; 170:827-31.
35. Robertson MJ, Ritz J. Biology and relevance of human natural killer cells. *Blood* 1990; 76:2421-38.
36. Serrate SA, Schulof RF, Leonaridis L, Goldstein AL, Stein MB. Modulation of human natural killer cells cytotoxicity, lymphokine production and interleukin 2 receptor expression by thymic hormones. *J Immunol* 1987; 139:2338-2343.
37. Deniz G, Akdis M, Aktas E, et al. Human NK1 and NK2 subsets determined by purification of IFN- $\gamma$  secreting and IFN- $\gamma$  non secreting NK cells. *Eur J Immunology* 2002; 32:879-84.
38. Perihar R, Dierksheide J, Hu Y, Carson W. IL-12 enhances the natural killer cell cytokine response to AB-coated tumor cells. *J Clin Investigation* 2002; 110:983-92.
39. Hurst S, Muchamuel T, Gorman D, et al. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses the lung: In vivo function of the novel cytokine IL-25. *J Immunology* 2002; 169:443-53.
40. Jovčić G, Bugarski D, Petakov M, Stanković J, Stojanović N, Milenković P. Effects of IL-17 on in vitro hematopoietic progenitor cell growth and cytokine release in normal and post irradiated murine bone marrow. *Growth Factors* 2001; 19:61-71.
41. Jovčić G, Bugarski M, Petakov M, et al. In vivo effects of interleukin-17 on haematopoietic cells and cytokine release in normal mice. *Cell Proliferation* 2004; 37:401-12.
42. Bugarski D, Krstić A, Vlaški M, Patakov M, Jovčić G, Stojanović N, Milenković P. Interleukine-17 induced inhibitory effect on late stage murine erythroid bone marrow progenitors. *Eur Cytokine Netw* 2004; 15(3):247-54.
43. Ming WJI, Bersani L, Mantovani A. Tumor necrosis factor is chemo tactic for monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J Immunol* 1987; 138:1469-72.
44. Jurišić V, Samardžić G, Čolić S, Jurišić M. TNF- $\alpha$  in radicular and otontogenic cysts. 6<sup>th</sup> Cytokine conference. Proceeding book. Bolona: Monduzzi Editore; 2006. p.95-100.
45. Jurišić V, Čolović M. Correlation of sera TNF- $\alpha$  with percentage of bone marrow plasma cells, LDH, beta-2 microglobulin, and clinical stage in multiple myeloma, *Medical Oncology* 2002; 19(3): 133-9.
46. Jurišić V, Konjević G, Bumbaširević V, Đuričić B, Spužić I. TNF- $\alpha$  effects on induction of apoptosis on malignant lymphoma peripheral blood lymphocytes. *Archive of Studenica* 1998; 1:49-52.
47. Jurišić V, Konjević G, Bumbaširević V, Spužić I. Morphological changes in cultures lymphocytes of malignant lymphoma patients. In: Bumbaširević V. 40 years of electronic microscopy in Serbia. Belgrade: Elite; 1999. p.29-30.
48. Jurišić V, Spužić I, Konjević G. A comparison of NK cell activity with effects of TNF- $\alpha$  against K-562 cells, determined by LDH release assay. *Cancer Letters* 1999; 138:67-72.
49. Jurišić V, Kraguljac N, Konjević G, Spužić I. TNF- $\alpha$  induced changes in cell membrane antigen expression on K-562 cells is associated with increased LDH release. *Neoplasma* 2005; 1:25-32.
50. Jurišić V, Bumbaširević V, Konjević G, Đuričić B, Spužić I. TNF- $\alpha$  induced changes in LDH isotype profile following triggering of apoptosis in PBMC of non-Hodgkin's lymphoma. *Annals of Haematology* 2004; 83:84-91.
51. Jurišić V, Bogdanović G, Kojić V, Jakimov D, Srdić T. TNF- $\alpha$  effects on Raji cells at different cellular level estimated by various methods. *Annals of Hematology* 2006; 85:86-94.
52. Jurišić V, Bogdanović G, Srdić T, Kerenji A, Baltić M, Baltić VV. The activity of TNF- $\alpha$  on PC cells pre-labelled with anti-CD45 and CD95 monoclonal antibodies. *Archive of Studenica* 2000; 2:56-9.
53. Jurišić V, Bogdanović G, Srdić T, Jakimov D, Mrdanović J, Baltić M, Baltić VV. Modulation of TNF- $\alpha$  activity in tumor PC cells using anti-CD45 and anti-CD95 monoclonal antibody. *Cancer Letters* 2004; 214:55-61.
54. Kerstin W, Sabat R. Interleukin-22: A novel T and NK-cell derived cytokine that regulates the biology of tissues cells. *Cytokine Growth Factor* 2006; 17:367-80.
55. Dumoutier L, Louahed J, Reunald JC. Cloning and characterization of IL-10 related T-cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *J Immunol* 2000; 164:1814-9.

## THE ROLE OF CYTOKINE IN REGULATION OF THE NATURAL KILLER CELL ACTIVITY

Vladimir JURIŠIĆ<sup>1</sup>, Sladjana STOJAČIĆ-DJENIĆ<sup>2</sup>, Nataša ČOLOVIĆ<sup>3</sup>, Gordana KONJEVIĆ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, School of Medicine, University of Kragujevac, Kragujevac;

<sup>2</sup>Institute of Gastroenterology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade;

<sup>3</sup>Institute of Haematology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade;

<sup>4</sup>Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade

### SUMMARY

Natural killer (NK) cells are characterized by a CD3-CD16+CD56+ immunophenotype and have a central role in the innate immune system. They are defined by their capacity to kill certain tumour-target cells or virus infected cells without prior sensitization or MHC-restriction. The activity of the NK cells is determined by the balance between activation and inhibitory receptor molecules expressed on the surface of NK cells. However, several cytokines and chemokines can significantly modulate their activity, inducing increase of NK cell activity. Immunomodulation mediated by NK cells is very important mechanism in tumour immunity, as well as in other immunodepressions of the immune system. In this study, we summarize the role of several cytokines, including IFN, IL-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-12 and IL-17, on NK cell function. The NK cells, after activation, depending on cytokine environment, can differentiate into NK1 cells that produce

Th1 cytokine type (IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12) or NK2 cells that produce Th2 type cytokines, enhance exocytosis and release of previously formed molecules from NK cells (granzyme, perforin). We also describe that the release of cytokines and mediators show local or distance effects, or induce apoptosis (mostly by secreted TNF- $\alpha$ ) after binding appropriated killer cell receptors from TNF receptor superfamily.

**Key words:** NK cell activity; cytokines; activation; apoptosis; IFN; IL-2; IL-4; IL-12; IL-17; IL-22; TNF- $\alpha$

Vladimir JURIŠIĆ  
Medinski fakultet  
Svetozara Markovića 69, 34000 Kragujevac  
Poštanski fah 124  
E-mail: vdvd@mailcity.com