

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015 - 2016

INVLOED VAN NATURAL KILLER CELLEN OP DE ADAPTIEVE IMMUNITEIT

door

Leen HERMANS

Promotor: Prof. Dr. Ir. H. Favoreel
Co-promotor: S. De Pelsmaeker

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© 2016 Leen Hermans

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015 - 2016

INVLOED VAN NATURAL KILLER CELLEN OP DE ADAPTIEVE IMMUNITEIT

door

Leen HERMANS

Promotor: Prof. Dr. Ir. H. Favoreel
Co-promotor: S. De Pelsmaeker

Literatuurstudie in het kader
van de Masterproef

© 2016 Leen Hermans

VOORWOORD

Graag wil ik via deze rubriek kort enkele mensen bedanken die ervoor gezorgd hebben dat deze literatuurstudie tot stand kon komen.

Vooreerst zou ik graag mijn promotor, Prof. Dr. Ir. Herman Favoreel, willen bedanken om mij de mogelijkheid te geven om een literatuurstudie te kunnen maken over dit boeiende onderwerp. Zijn enthousiasme en immer snelle respons op mijn e-mails hebben mij aangemoedigd om steeds opnieuw met een kritische blik naar mijn werk te kijken en steeds opnieuw verbeteringen aan te brengen. Bovendien wil ik hem bedanken voor de goede begeleiding, het steeds weer nalezen van dit werk, de talloze suggesties en het beantwoorden van mijn vragen.

Daarnaast richt ik ook graag een woordje van dank aan mijn co-promotor, Steffi De Pelsmaeker, voor het veelvuldig nalezen van deze literatuurstudie, voor het aanbrengen van correcties en voor het aanreiken van nieuwe informatie en ideeën die hebben gemaakt dat ik weer verder kon op de momenten dat ik op een dood punt beland leek te zijn.

Ik bedank ook graag mijn ouders voor het mogelijk maken van deze studies en om steeds opnieuw naar mijn verhalen te luisteren en mij aan te moedigen om steeds mijn uiterste best te doen. Tenslotte wil ik ook mijn vriend, mijn zus en mijn medestudenten bedanken voor alle steun die ik de afgelopen jaren van hen heb gekregen.

INHOUDSOPGAVE

Voorwoord

Inhoudsopgave

| | |
|--|--------------|
| Samenvatting | p. 1 |
| Inleiding | p. 2 |
| Literatuurstudie | p. 3 |
| 1. AANGEBOREN VERSUS ADAPTIEVE IMMUNITEIT _____ | p. 3 |
| 2. GESCHIEDENIS _____ | p. 3 |
| 3. INDELING VAN NK CELLEN _____ | p. 4 |
| 3.1 Anatomische lokalisatie..... | p. 4 |
| 3.2 Subsets van NK cellen..... | p. 5 |
| 3.3 Priming van NK cellen..... | p. 6 |
| 4. FUNCTIES VAN NK CELLEN _____ | p. 7 |
| 4.1 Cytotoxiciteit van NK cellen..... | p. 7 |
| 4.1.1 Herkennen van target cellen..... | p. 7 |
| 4.1.2 Mechanisme van cytotoxiciteit..... | p. 9 |
| 4.2 Moduleren van de adaptieve immuunrespons..... | p. 11 |
| 4.2.1 Interactie tussen NK cellen en antigeen-presenterende cellen..... | p. 11 |
| 4.2.2 Interactie tussen NK cellen en T cellen..... | p. 14 |
| 4.2.3 Interactie tussen NK cellen en B cellen..... | p. 15 |
| 4.2.4 Interactie tussen NK cellen en macrofagen..... | p. 15 |
| 4.2.5 Interactie tussen NK cellen en endotheelcellen..... | p. 16 |
| 4.3 Geheugenfunctie van NK cellen..... | p. 16 |
| 4.4 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen..... | p. 18 |
| 4.4.1 Kenmerken van antigeen-presenterende cellen..... | p. 18 |
| 4.4.2 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen bij de mens..... | p. 20 |
| 4.4.3 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen bij de muis..... | p. 21 |
| 4.4.4 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen bij andere diersoorten..... | p. 22 |
| Bespreking | p. 23 |
| Referentielijst | p. 25 |
| Bijlagen | p. 31 |

SAMENVATTING

Het immuunsysteem wordt klassiek opgedeeld in de aangeboren (aspecifieke) immuniteit enerzijds en de verworven (adaptieve, specifieke) afweer anderzijds. De natural killer cel (NK cel), die het hoofdonderwerp uitmaakt van deze literatuurstudie, wordt klassiek ingedeeld bij de cellen van de aangeboren immuniteit omdat ze in staat is om zonder voorafgaande immunisatie doelcellen te vernietigen. Naast deze cytotoxische capaciteit, kunnen NK cellen ook diverse cytokines produceren. Afhankelijk van hun maturiteit en differentiatie zijn er NK cel subtypes, bij mensen anders dan bij muizen, die hetzij vooral cytotoxische capaciteit vertonen, hetzij vooral cytokines produceren.

De best gekende en eerst beschreven functie van NK cellen is de cytotoxiciteit; de capaciteit om doelcellen af te doden. NK cellen zijn in staat om op verschillende manieren doelcellen te herkennen door veranderingen ter hoogte van hun celoppervlak, onder meer een verlaagde expressie van MHC klasse I moleculen, de aanwezigheid van lichaamsvreemde moleculen en/of een verhoogde expressie van door stress geïnduceerde moleculen.

Daarnaast werd vastgesteld dat NK cellen in staat zijn om op verschillende manieren de adaptieve immuunrespons te beïnvloeden. Dit gebeurt door middel van interacties tussen NK cellen en antigeen-presenterende cellen, T cellen, B cellen, macrofagen en endotheelcellen. Bovendien zijn er bij mens en muis indicaties dat NK cellen ook in staat zijn om zich te differentiëren naar langlevende geheugencellen, net zoals T en B cellen.

Meer recent heeft men nog een directere invloed van NK cellen op de adaptieve immuniteit vastgesteld. Men heeft immers aangetoond dat NK cellen eigenschappen kunnen bezitten die typisch zijn voor antigeen-presenterende cellen; namelijk de expressie van MHC klasse II moleculen en co-stimulatorische signalen. Deze eigenschappen lijken echter diersoort specifiek te zijn en moeilijk te extrapoleren van de ene naar de andere diersoort. Zo werd MHC klasse II expressie waargenomen bij humane, muriene, porciene en caniene NK cellen, doch dat het steeds om *de novo* synthese gaat is onwaarschijnlijk. Co-stimulatorische moleculen werden reeds aangetoond op de celmembranen van humane en muriene NK cellen.

Sleutelwoorden: Functies – Immuniteit – NK cel

INLEIDING

Om in leven te blijven, is het van cruciaal belang dat dieren beschikken over een goed functionerend immuunsysteem dat weerstand kan bieden tegen allerhande pathogenen zoals onder andere bacteriën, virussen en parasieten. In de loop der tijden is dus ook het immuunsysteem mee geëvolueerd tot een complexe eenheid die een optimale bescherming biedt aan het individu. De verschillende componenten van de immuniteit zijn in staat om informatie aan elkaar door te geven en om de immunreactie te sturen in een welbepaalde richting. Bovendien wordt er ook een geheugen opgebouwd waardoor er bij een volgend contact met hetzelfde pathogeen een snellere en efficiëntere reactie kan opgebouwd worden.

Het grote aantal oppervlakte-moleculen en oplosbare moleculen (cytokines) die de cellen van het immuunsysteem tot expressie kunnen brengen en de daaraan gekoppelde interacties die tussen de verschillende cellen ontstaan, spreken tot de verbeelding. Steeds meer onderzoek wordt verricht naar de manier waarop deze interacties tot stand komen, hoe ze gereguleerd worden en hoe dit alles de immunreactie beïnvloedt. De inzichten die bekomen worden, zorgen er niet alleen voor dat we steeds meer begrijpen hoe een immunrespons exact tot stand komt, maar kunnen er ook voor zorgen dat we efficiënter kunnen ingrijpen in dit proces. Denk bijvoorbeeld aan vaccinaties of therapieën voor auto-immune aandoeningen en zelfs tumorale processen.

Recent zijn er indicaties dat natural killer (NK) cellen, die klassiek tot de aangeboren immuniteit behoren, de adaptieve immunrespons zeer sterk kunnen beïnvloeden, onder meer door antigeen presentatie en daarenboven ook eigenschappen van de adaptieve immunrespons kunnen vertonen, zoals een geheugenfunctie.

Deze literatuurstudie zal, naast het geven van een algemeen overzicht over NK cellen, zich vooral richten op de invloed van NK cellen op de adaptieve immunrespons.

LITERATUURSTUDIE

1. AANGEBOREN VERSUS ADAPTIEVE IMMUNITEIT

Klassiek wordt het immuunsysteem opgesplitst in twee onderdelen: de aangeboren (aspecifieke) afweer enerzijds en de verworven (adaptieve, specifieke) afweer anderzijds. De aangeboren afweer wordt daarbij gezien als een eerstelijns bescherming tegenover allerhande pathogenen en bestaat uit diverse leukocyten (o.a. macrofagen, natural killer (NK) cellen, neutrofielen, eosinofielen, basofielen en mastcellen) en humorale componenten (o.a. proteïnen van het complement systeem en de acute fase respons). Algemene eigenschappen van de aangeboren immuniteit omvatten de beperkte mogelijkheid om verschillende pathogenen van elkaar te onderscheiden (aspecifiek), een snelle respons en afwezigheid van een geheugen (identieke respons bij een nieuw contact met hetzelfde pathogeen). Ook de verworven afweer bestaat uit een cellulaire component (T en B lymfocyten) en een humorale component (antistoffen gesecreteerd door B cellen). Deze tak van de immuniteit ontwikkelt zich verder tijdens een infectie via herkenning van antigenen met klonale expansie van de cellen en vorming van een geheugen tot gevolg. De cellen en de humorale component van het adaptieve immuunsysteem zijn zo in staat om bij een volgende challenge met hetzelfde antigeen sneller en efficiënter te reageren.

2. GESCHIEDENIS

NK cellen werden ontdekt in de jaren 1970. Takasugi *et al.* (1973) onderzocht de reactiviteit van lymfocyten ten opzichte van kankercellen [1]. Men bracht gecultiveerde kankercellen enerzijds in contact met lymfocyten van mensen met hetzelfde type van kanker en anderzijds met lymfocyten van gezonde mensen. In tegenstelling tot wat men verwachtte, bleken lymfocyten van gezonde mensen even reactief, zo niet nog reactiever, tegenover de kankercellen. Deze resultaten en verdere studies [2-4] deden vermoeden dat er een aparte populatie van lymfocyten bestaat die zonder voorafgaande immunisatie doelcellen kan vernietigen. Deze aparte populatie cytotoxische cellen, die duidelijk verschillend was van de reeds gekende cytotoxische T cellen, kreeg de naam 'natural killer cells'.

Men trachtte deze cellen verder te karakteriseren en beschreef hun fenotype, specificiteit en de manier waarop NK cellen gestuurd werden. Het bleek echter moeilijk om specifieke merkers te vinden voor NK cellen, daarom definieerde men NK cellen vaak op basis van het ontbreken van T- en B cel merkers [5]. Hierdoor was het echter moeilijk om de volledige wetenschappelijke wereld te overtuigen van hun werkelijke bestaan. Vele wetenschappers meenden intussen dat de waargenomen cytotoxiciteit *in vitro* het gevolg was van artefacten [6]. In 1979 kon men echter aantonen dat de NK activiteit was gecorreleerd met een relatief kleine populatie van lymfocyten, die 'large granular lymphocytes' (LGLs) genoemd werden [7, 8]. Daardoor konden zowel bij humane als bij muriene NK cellen unieke merkers worden vastgesteld [9, 10], waardoor het mogelijk werd om zuivere NK cel populaties te isoleren en er functionele analyses mee uit te voeren. De NK activiteit werd in het bijzonder gecorreleerd met de resistentie tegenover tumorgroei *in vivo* [11].

Eind jaren 1980 werden NK cellen dan ook algemeen aanvaard als een aparte lymfocytenpopulatie met unieke functionele en morfologische eigenschappen [12]. Naast de capaciteit van NK cellen om weerstand te bieden tegen tumoren [13], werden ook antivirale eigenschappen vastgesteld [14]. Bovendien werd ook de capaciteit van NK cellen om cytokines te produceren opgemerkt [15]. Als verklaring voor de hoge specificiteit waarmee NK cellen geactiveerd worden, ontdekte men tenslotte de unieke capaciteit van NK cellen om de densiteit van zowel stress-geïnduceerde lichaamseigen factoren, 'pathogen-associated molecular patterns' (PAMPs) als normale lichaamseigen factoren zoals 'major histocompatibility complex class I' (MHC klasse I) op het celoppervlak van target cellen te identificeren [6].

Naast deze ondertussen goed gekende en gekarakteriseerde functies van NK cellen, zijn er recent indicaties dat NK cellen ook de adaptieve immuunrespons kunnen aansturen en zelfs een geheugen- en antigeen-presenterende functie op zich kunnen nemen.

3. INDELING NK CELLEN

3.1 Anatomische lokalisatie

NK cellen komen op verschillende plaatsen in het lichaam voor. Onder fysiologische omstandigheden maken NK cellen bij de mens 10-40% van alle leukocyten uit ter hoogte van de long en de lever, 6% in het bloed, 1-5% in de milt en de lymfeknopen en een kleine fractie ter hoogte van de huid en de darm [16]. Dit is beduidend lager dan de hoeveelheid T lymfocyten, die in sommige weefsels tot 50% van de totale lymfocytenpopulatie kunnen uitmaken [17].

Daarnaast kan inflammatie zorgen voor een redistributie van NK cellen binnenin weefsels en tussen verschillende weefsels. NK cellen worden dan voornamelijk aangetrokken naar zones die rijk zijn aan T en B lymfocyten waardoor interacties tussen NK cellen en cellen van de adaptieve immuniteit mogelijk worden [18-23]. Om te kunnen reageren op inflammatie, brengen NK cellen chemokine receptoren tot expressie. Men ziet een grote gelijkenis tussen de receptoren op humane NK cellen en muriene NK cellen; bij beide species worden de C-C chemokine receptoren (CCR) type 2 (CCR2) en type 5 (CCR5) en de C-X-C chemokine receptor (CXCR) type 3 (CXCR3) en de C-X₃-C chemokine receptor (CX₃CR) type 1 (CX₃CR1) tot expressie gebracht die respectievelijk interageren met volgende chemokines: chemokine C-C motief ligand 2 (CCL2), CCL3-5, CCL7, CCL8 en CCL13, chemokine C-X-C motief ligand 9-11 (CXCL9-11) en chemokine C-X₃-C motief ligand 1 (CX₃CL1). Een verschil wordt wel gezien in de CCR7 expressie, dewelke wel aanwezig is op humane CD56^{bright} NK cellen, doch niet op de gerelateerde muriene CD11b^{lo}CD27^{hi} NK cellen. Dit zou een verklaring kunnen vormen voor een sterk verschillende concentratie aan NK cellen in de lymfeknopen; bij de mens is 5% van de lymfocyten in de lymfeknopen een NK cel, bij de muis is dit slechts 0,5%. De expressie van de receptoren verandert ook naargelang het maturatie stadium: muriene CD11b^{hi}CD27^{lo} en humane CD56^{dim} NK cellen verliezen de CXCR3 receptor, maar brengen dan weer de CX₃CR1 receptor tot expressie [24]. Het aantrekken van NK cellen vanuit het bloed naar de lymfeknopen is ook afhankelijk van CD62L (L-selectine), dat bindt met geglycosyleerde L-selectine liganden op de 'high endothelial venules' (HEVs) ter hoogte van de lymfeknopen [25].

Daarnaast werd zowel op muriene als op humane NK cellen de 'sphingosine 1-phosphate 5' (S1P₅) receptor geïdentificeerd als een belangrijke component voor de 'homing' van NK cellen. Deze receptor wordt verworven tijdens maturatie van NK cellen. Muizen die deficiënt zijn voor deze receptor stapelen NK cellen op ter hoogte van het beenmerg en hebben een tekort aan NK cellen in het bloed, de milt en de long [26].

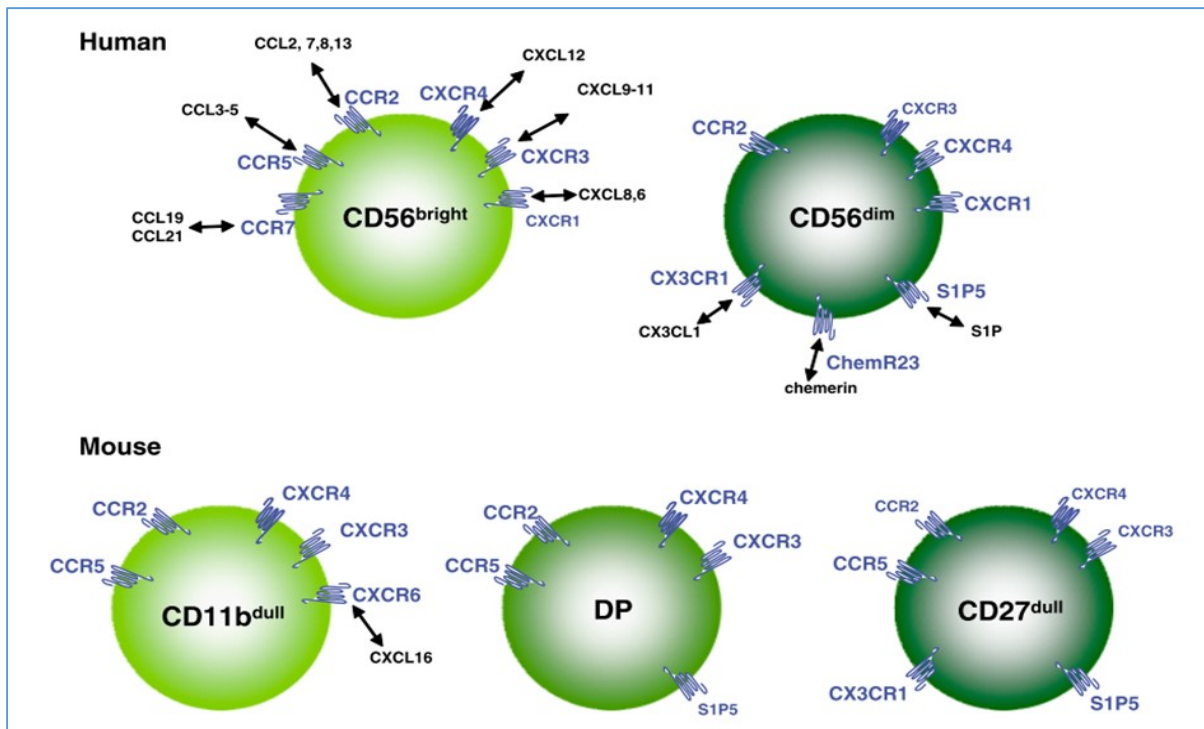
3.2 Subsets van NK cellen

Bij humane NK cellen kan men een onderscheid maken tussen verschillende subgroepen van NK cellen op basis van de expressie van de adhesiemolecule CD56. Dit verschil in densiteit van CD56 op het celoppervlak gaat samen met de expressie van andere cytokine en chemokine receptoren waardoor de verschillende subgroepen reageren op andere chemokines en cytokines. Daardoor wordt er ook een verschil gezien in de 'homing' van de NK cellen en een verschil in functie. NK cellen met een hoge expressie aan CD56 (CD56^{bright}) brengen de CCR7 en de CXCR3 receptoren tot expressie en komen terecht in lymfeknopen en tonsillen. Deze cellen zijn weinig cytotoxisch, maar beschikken over de capaciteit om hoge gehalten aan cytokines, zoals interferon γ (IFN- γ), tumor necrosis factor β (TNF- β) en interleukines (IL), namelijk IL-10 en IL-13, te produceren na stimulatie. Ter hoogte van het bloed en de milt vindt men dan weer NK cellen met een lage expressie van CD56 (CD56^{dim}). Deze cellen brengen dan weer de CXCR1 en CX₃CR1 receptoren tot expressie en beschikken, in tegenstelling tot de CD56^{bright} populatie, wel over een grote hoeveelheid aan cytolytische eiwitten zoals perforine en granzyme [27].

Een dergelijk onderscheid kan ook bij muriene NK cellen gebeuren, doch niet op basis van CD56. Muriene NK cellen verschillen, naar gelang hun fase in de ontwikkeling, op vlak van expressie van CD11b en CD27 en ook dit resulteert in een verschillende lokalisatie van de cellen. De meest immature NK cellen hebben een lage expressie van zowel CD11b als van CD27 (CD11b^{lo}CD27^{lo}). Daarna worden ze positief voor CD27 (CD11b^{lo}CD27^{hi}). Deze cellen zijn voornamelijk terug te vinden ter hoogte van het beenmerg en lymfeknopen. Daarna worden de NK cellen dubbel positief (CD11b^{hi}CD27^{hi}) en vindt men ze homogeen verspreid in het lichaam terug. De meest mature NK cellen zijn positief voor CD11b en vertonen een lage expressie van CD27 (CD11b^{hi}CD27^{lo}), deze cellen worden voornamelijk ter hoogte van de milt, de long, de lever en in de bloedbaan teruggevonden [28]. Net zoals bij humane NK cellen kan er ook bij muriene NK cellen een functioneel onderscheid gemaakt worden tussen de verschillende subgroepen. Zo zijn de CD11b^{lo}CD27^{hi} NK cellen niet cytotoxisch, noch in staat om IFN- γ te produceren. De CD11b^{hi}CD27^{hi} NK cellen zijn functioneel meer actief dan de CD11b^{hi} CD27^{lo} NK cellen, zowel wat betreft cytotoxiciteit en cytokineproductie als op vlak van proliferatie. Bij muizen NK cellen zouden de twee belangrijkste functies van NK cellen dus niet verdeeld zijn over twee subpopulaties, zoals wel bij de mens het geval is [29].

Het feit dat humane NK cel subsets onderscheiden worden op basis van andere merkers dan muriene NK cellen zorgt ervoor dat het moeilijk is om vergelijkingen te maken tussen deze twee species. Daarenboven is de cytotoxische activiteit samen met de cytokine producerende activiteit bij muriene NK cellen voornamelijk aanwezig in één subgroep, terwijl deze eigenschappen bij humane NK cellen over twee subgroepen verspreid zijn. Toch maakt men, ondanks enkele verschillen, vaak de vergelijking tussen de muriene CD11b^{lo}CD27^{hi} en de humane CD56^{bright} NK cellen [30]. Er zijn immers ook veel gelijkenissen tussen deze twee celtypes. Zo vertonen beide groepen een gelijkaardige

weefsel distributie (nl. ter hoogte van de lymfeknopen), hebben ze slechts een lage concentratie aan cytolytische eiwitten (namelijk perforine), hebben ze een verhoogde proliferatieve capaciteit en hebben ze ook een lagere expressie van de inhiberende receptoren (KIR of Ly49) die verantwoordelijk zijn voor de 'missing self-recognition' (zie 4.1.1) [29, 30]. In de thymus bij de muis heeft men bovendien CD127⁺ (IL-7 receptor alpha) NK cellen gevonden die zeer sterk lijken op de humane CD56^{bright} NK cellen; ze hebben namelijk een lage cytotoxiciteit, ze kunnen grote hoeveelheden cytokines produceren na stimulatie en stapelen zich ook op ter hoogte van lymfeknopen. Bovendien brengen uitsluitend de CD56^{bright} humane NK cellen in het perifeer bloed CD127 tot expressie [31].



FIGUUR 1: De expressie van chemotactische receptoren op de verschillende subpopulaties van natural killer cellen bij de mens en bij de muis.

Het patroon van chemotactische receptoren op NK cellen bij de mens (boven) en bij de muis (onder). [24]

3.3 Priming van NK cellen

In tegenstelling tot wat de naam doet vermoeden, heeft men recentelijk aanwijzingen dat een groot deel van de geïsoleerde NK cellen uit humaan perifeer bloed of de lever van muizen geen echte killer activiteit hebben. Een groot deel van de cellen bevat immers weinig granzyme B en perforine waardoor ze slechts een gering cytotoxisch potentieel hebben [32]. NK cellen hebben dus nood aan een voorbereidend signaal voordat ze ten volle actief kunnen worden (priming). Men heeft aangetoond dat bij muizen *in vivo* CD11c^{high} DC nodig waren opdat NK cellen zouden reageren op virale en bacteriële pathogenen. Nadat NK cellen gestimuleerd werden via hun toll-like receptor, kwamen ze in de lokale lymfeknopen in contact met DC. Hierdoor ontstond een populatie van effector NK cellen in de periferie. Deze interactie tussen DC en NK cellen was afhankelijk van de herkenning van IFN type I door de DC, waardoor de DC IL-15 produceerden en presenteerden aan rustende NK cellen. Het IL-15 afkomstig van CD11c^{high} DC was noodzakelijk, doch voldoende om de NK cellen te primen [33].

4. FUNCTIES VAN NK CELLEN

4.1 Cytotoxiciteit van NK cellen

4.1.1 Herkennen van target cellen

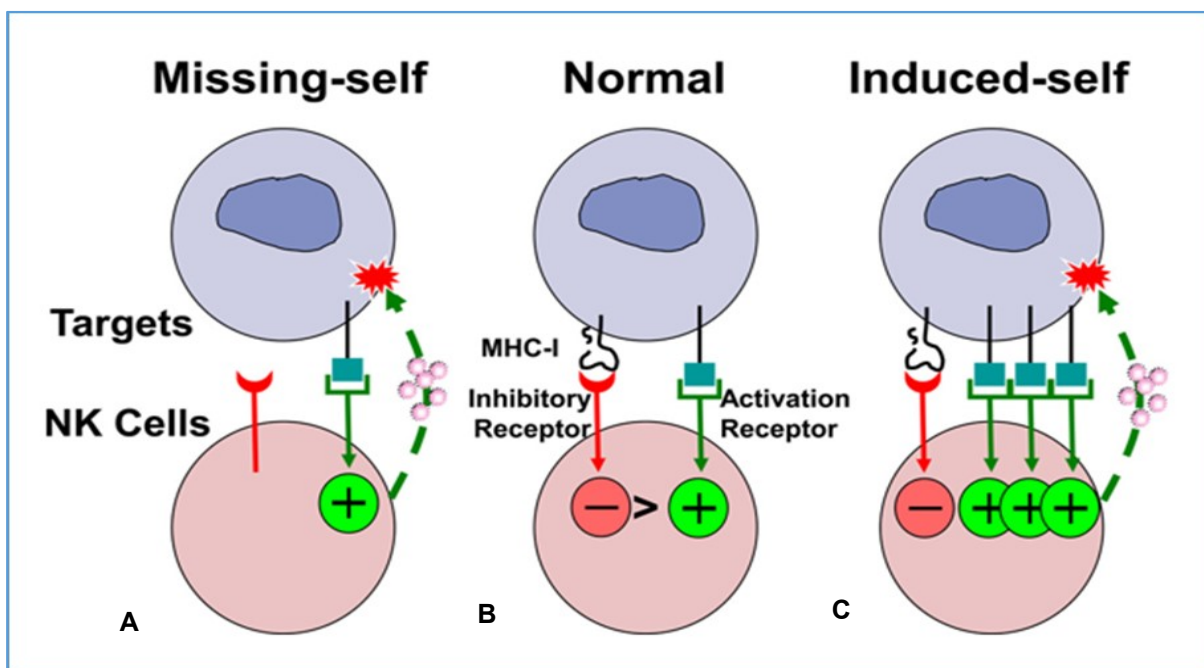
NK cellen zijn in staat om celdood te induceren bij een groot gamma aan abnormale cellen zoals virus-geïnficeerde cellen, cellen waarop antistoffen gebonden zijn, tumorcellen en cellen in cellulaire stress en dit zonder de aanwezigheid van enige voorafgaande specifieke immunisatie. Daardoor worden deze cellen beschouwd als belangrijke bewakers van het immuunsysteem [34]. Hierbij is het uiteraard van cruciaal belang dat de gezonde, normale, lichaamseigen cellen gespaard blijven van de spontane cytotoxiciteit van de NK cellen. De NK cel beschikt dus over een aantal mechanismen om gezonde cellen te onderscheiden van de cellen die vernietigd moeten worden. Hierbij zijn een hele reeks van oppervlakte receptoren belangrijk die interageren met liganden op target cellen, waarbij een onderscheid gemaakt wordt tussen activerende en inhiberende receptoren. Het is de balans tussen die activerende en inhiberende signalen die uiteindelijk zal bepalen of er al dan niet een NK respons optreedt (Figuur 2) [35]. NK cel activatie kan leiden tot eliminatie van de cellen door NK cel-gemedieerde cytotoxiciteit (direct) en/of tot de productie van pro-inflammatoire cytokines, zoals IFN- γ , 'tumor necrosis factor α ' (TNF- α) en macrofaag inflammatoir proteïne 1 β (MIP-1 β) die andere immuuncellen zullen stimuleren/recruter (indirect) [34].

Een eerste mechanisme is de zogenaamde 'missing self-recognition' [36-38] (Figuur 2: A). Dit mechanisme steunt vooral op het feit dat alle gezonde lichaamseigen cellen een bepaalde densiteit aan MHC klasse I moleculen op hun plasmamembraan tot expressie brengen. De NK cel brengt inhiberende receptoren tot expressie, 'killer immunoglobuline-like receptors' (KIRs) bij de mens, Ly49 receptoren bij de muis en CD94/NKG2A bij beide species, die interageren met MHC klasse I moleculen zodat de gezonde cellen geïdentificeerd kunnen worden [30, 39, 40]. Wanneer er een daling is van MHC klasse I moleculen op het oppervlak van een cel, bijvoorbeeld na virusinfectie of tumorale onttaarding, resulteert dit in een verlaagd inhiberend signaal en wordt de NK cel geactiveerd. Daarnaast worden nog een aantal andere constitutieve lichaamseigen signalen gedetecteerd door inhiberende receptoren op NK cellen. Deze zogenaamde 'non-MHC self' moleculen zijn o.a. Clr-b en CD48 bij de muis en LLT-1 bij de mens, die respectievelijk interageren met de NKR-P1B en 2B4-receptor op muriene NK cellen en NKR-P1A op humane NK cellen. Daarnaast brengen zowel humane als muriene NK cellen de 'T cell immunoglobulin and ITIM domain' (TIGIT) receptor tot expressie die nectine-2 en de 'poliovirus receptor' (PVR) herkent als ligand [41]. Wanneer de NK cel deze moleculen detecteert via deze TIGIT receptor, geeft dit ook een inhiberend signaal [30, 42].

Een tweede manier om het onderscheid tussen gezonde en geïnficeerde cellen te maken is de 'non-self recognition' [43]. De NK cellen herkennen moleculen die door pathogenen geïnduceerd worden en in normale omstandigheden niet aanwezig zijn op het celoppervlak van lichaamseigen cellen. Zo herkennen muizen NK cellen via de Ly49H activerende receptor de m157-molecule van het muriene cytomegalovirus (MCMV) [44]. Daarnaast bezitten NK cellen de zogenaamde 'natural cytotoxicity receptors' (NCRs); NKp46, NKp44 en NKp30 [45], die ook in staat zijn om lichaamsvreemde moleculen te herkennen en NK cellen te activeren. Zo worden bijvoorbeeld hemagglutinine eiwitten van influenza en parainfluenza herkend door NKp46 [46].

Bovendien zijn NK cellen ook in staat om cellen waaraan antistoffen gebonden zijn te detecteren door middel van de FcγRIIIA (CD16) receptor en daarop te reageren met een antistof-afhankelijke celgemedeerde cytotoxiciteit (ADCC) en cytokineproductie [47]. NK cellen beschikken daarnaast ook over Toll-like receptoren waarmee PAMPs herkend kunnen worden [48].

'Stress-induced self recognition' is een derde mechanisme waarmee NK cellen abnormale cellen identificeren (Figuur 2: C). Dit betekent dat NK cellen lichaamseigen moleculen detecteren die onder normale omstandigheden niet of zeer zwak tot expressie komen op lichaamseigen cellen, maar waarvan de expressie verhoogd wordt naarmate de cel zich in een meer gestresseerde toestand bevindt, waardoor de NK cel uiteindelijk wordt geactiveerd. Zo heeft de NKG2D receptor op NK cellen bij de mens de stress-geïnduceerde MHC klasse I-achtige moleculen zoals 'MHC class I chain-related protein' (MIC) A en B als liganden [49, 50] en bij de muis 'retinoic acid early-inducible protein' (RAE) 1β en het 'minor histocompatibility antigen' H60 [51].



FIGUUR 2: De balans tussen signalen naar activerende en inhiberende receptoren bepaalt de respons van NK cellen.

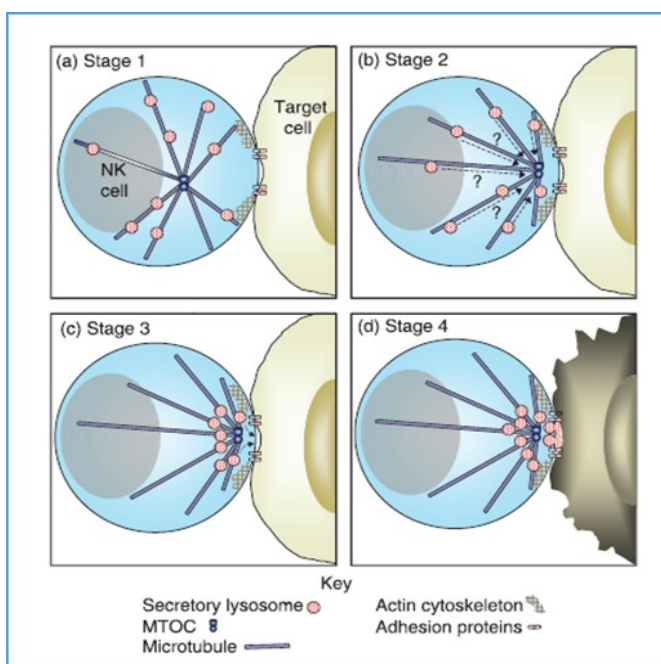
NK cellen brengen receptoren tot expressie die liganden herkennen op target cellen. **B:** Onder normale omstandigheden, zorgen de inhiberende receptoren die binden met MHC klasse I (in het rood) voor signalen die krachtiger zijn dan de activerende signalen die worden overgebracht door activerende receptoren (in het groen). **A:** Wanneer er minder MHC klasse I tot expressie wordt gebracht, zoals gebeurt bij de 'missing-self' herkenning van target cellen, zetten de activerende receptoren de NK cellen aan tot cytolyse van de target cel via exocytose van granules. **C:** Wanneer een cel in cellulaire stress is, worden de liganden voor de NKG2D activerende receptor tot expressie gebracht, zoals gebeurt bij de 'induced-self' herkenning van target cellen. Hierdoor wordt het activerende signaal groter dan het inhiberende signaal dat gegenereerd wordt door de MHC klasse I herkenning.

In deze figuur wordt de cytolyse van target cellen door middel van exocytose van granules weergegeven. Geactiveerde NK cellen zijn daarnaast ook in staat om target cellen te elimineren via receptoren (vb. TRAIL en FasL) en om cytokines te produceren (niet getoond in deze figuur). [52]

4.1.2 Mechanisme van cytotoxiciteit

Wanneer een NK cel contact maakt met een normale cel, dan zorgt de interactie met normale lichaamseigen moleculen zoals de MHC klasse I moleculen op de cel ervoor dat er via de inhiberende receptoren een negatief signaal wordt doorgegeven naar de NK cel via de 'immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs' (ITIMs) van die receptor. Op die manier worden de activerende impulsen tegengewerkt, waardoor de NK cel niet geactiveerd zal worden. Wanneer er geen of een te lage concentratie aan MHC klasse I moleculen tot expressie wordt gebracht, dan worden de activerende signalen niet geneutraliseerd en zal er een activerend signaal worden gestuurd via activerende receptoren die via zogenaamde adaptor eiwitten beschikken over 'immunoreceptor tyrosine-based activation motifs' (ITAMs) waardoor de NK cel zal worden geactiveerd [53].

NK cellen zijn in staat om target cellen af te doden door middel van cytotoxische granules waarin onder meer perforine en granzymes opgeslagen worden [54]. Wanneer de NK cel een target cel identificeert en daardoor geactiveerd wordt, dan worden deze granules via exocytose uitgescheiden en wordt de inhoud ervan vrijgesteld. Om te vermijden dat deze cytotoxische granules gezonde cellen beschadigen, is dit exocytose proces sterk gereguleerd en gepolariseerd in de richting van de target cel (Figuur 3). Als eerste vormt er zich een lytische immunologische synaps tussen de NK cel en de target cel waarbij er een herschikking is van het actine cytoskelet van de NK cel. Daarna worden het microtubuli organiserend centrum (MTOC) en de granules gepolariseerd in de richting van de lytische synaps. Als derde stap vindt een proces plaats dat men 'docking' noemt: de granules komen tegen de plasmamembraan te liggen. Tenslotte fusioneert de membraan van de granules met de plasmamembraan van de NK cel met loslating van de cytotoxische inhoud van de granules in de synaptische spleet als gevolg [55]. Het perforine dat hierbij vrijgesteld wordt, zorgt voor kleine transmembranaire poriën t.h.v. het oppervlak van de target cel. Daardoor kunnen dan de granzymes binnendringen in de cel. Granzymes zijn proteasen die caspases verknippen zodat deze geactiveerd worden en het 'caspase-activated deoxyribonuclease' activeren. Dit DNase verknipt het DNA in de kern van de target cel en veroorzaakt op die manier apoptose of osmotische lyse van de cel [54, 56].



FIGUUR 3: exocytose van de cytotoxische granules

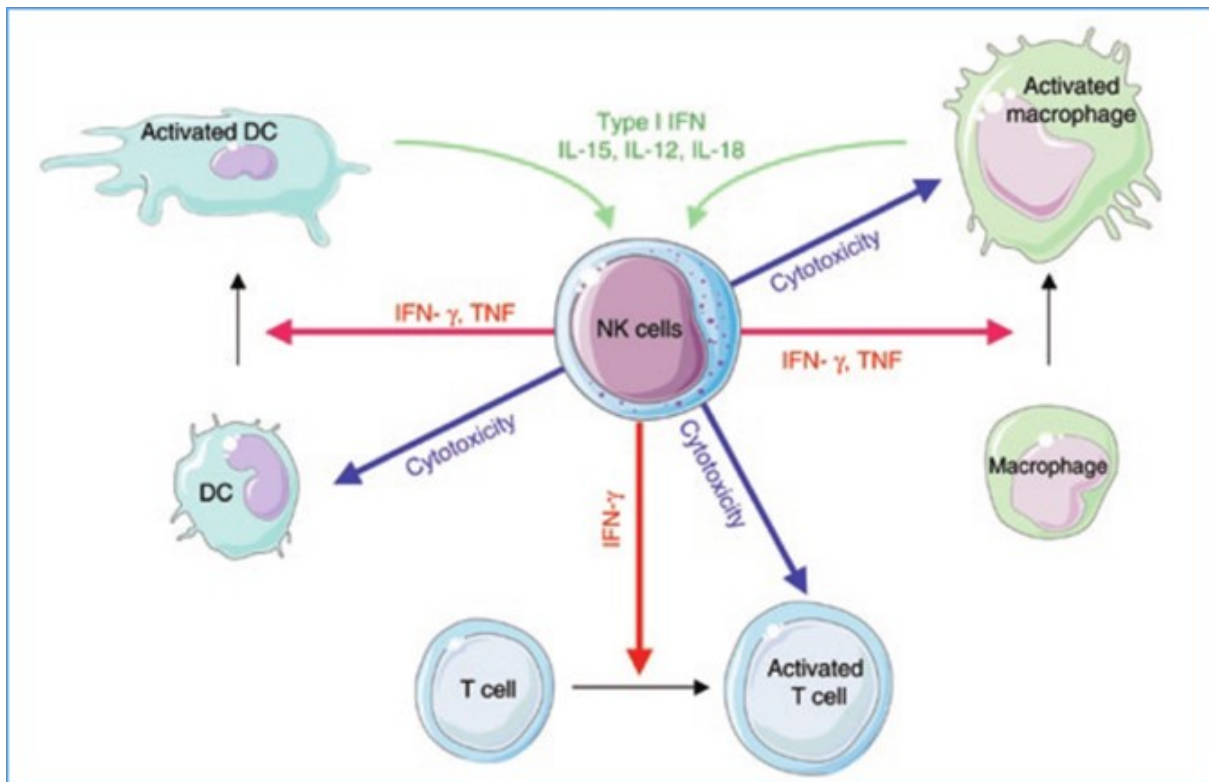
(a) Fase 1: wanneer de NK cel een target cel herkent, wordt er een lytische immunologische synaps gevormd waar de twee cellen met elkaar in contact komen en het actineskelet van de NK cel wordt herschikt. **(b)** Fase 2: het microtubuli organiserend centrum (MTOC) wordt gevormd en de granules worden gepolariseerd in de richting van de lytische synaps. **(c)** Fase 3: de secretorische granules komen dicht tegen de plasmamembraan te liggen, dit noemt men 'docking'. **(d)** Fase 4: de lysosomen fusioneren met de plasmamembraan, waardoor de cytotoxische inhoud ervan uitgestoten wordt ter hoogte van de synaptische spleet in de richting van de target cel. [55]

NK cellen kunnen echter ook op een passieve wijze abnormale cellen en cellen in stress vernietigen, door gebruik te maken van de intrinsieke apoptotische capaciteit van de target cel. Wanneer een cel in cellulaire stress verkeert, zoals bijvoorbeeld hypoxie, dan worden zogenaamde 'death receptors' (DRs), zoals Fas en DR5, opgereguleerd op het oppervlak van de cel. Wanneer deze DRs in contact komen met hun liganden, zoals respectievelijk Fas Ligand en 'TNF-related apoptosis-inducing ligand' (TRAIL), die tot expressie komen op het oppervlak van NK cellen, dan wordt er een signaalcascade geactiveerd die uiteindelijk zal leiden tot apoptose van de target cel [57].

Bovendien beschikken NK cellen ook over een antistof-afhankelijke manier om target cellen af te doden. Hiervoor beschikt de meerderheid van de circulerende NK cellen over de CD16 receptor; een lage affiniteits Fc receptor, waardoor er 'antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity' (ADCC) kan optreden tegenover cellen die met IgG antistoffen geopsoniseerd zijn [58]. Deze NK gemedieerde ADCC kan op verschillende manieren gebeuren: exocytose van cytotoxische granules, opregulatie van de death receptors of indirect via het vrijstellen van pro-inflammatoire cytokines zoals IFN- γ [59].

Daarnaast kunnen NK cellen ook indirect een effect uitoefenen op hun target cellen. Ze zijn immers in staat om een breed gamma aan cytokines, chemokines en groeifactoren te produceren, zoals IFN- γ , TNF- α , transforming growth factor β (TGF- β), MIP-1 β , CCL5 en granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) [34, 60]. IFN- γ is een zeer belangrijk en potent cytokine in de NK cel functie. Het helpt bij het voorkomen van tumor metastasen en beperkt de groei van tumoren door middel van het induceren van een anti-angiogenetische factor (IP-10) [61]. Daarnaast zorgt IFN- γ ook voor een verhoogde cytotoxische capaciteit van NK cellen door middel van het opreguleren van de expressie van adhesie moleculen of door het verhogen van de gevoeligheid van tumor cellen voor de cytotoxiciteit van de NK cel. IFN- γ zorgt ook voor een polarisatie van de adaptieve immuunrespons naar een T helper 1 respons, die belangrijk is bij de verdere immuunrespons tegen intracellulaire pathogenen en tumoren. Daarenboven stimuleren deze cytokines ook de differentiatie, de activatie en/of de chemotaxis van andere immuuncellen (zie 4.2) [62].

4.2 Moduleren van de adaptieve immuunrespons



FIGUUR 4: Moduleren van de immuniteit door NK cellen.

Nadat NK cellen geprimeerd zijn door onder andere IL-15, IFN type I, IL-12 en IL-18 (groene pijlen), zorgen ze voor een stimulatie (rode pijlen) van de maturatie en de activatie van DC, macrofagen en T cellen door middel van oppervlaktereceptoren en cytokines. Daartegenover zijn NK cellen ook in staat om immature DC, geactiveerde T cellen en gehyperactiveerde macrofagen af te doden (blauwe pijlen). [30]

4.2.1 Interactie tussen NK cellen en antigeen-presenterende cellen

Om een efficiënte immuunrespons op gang te kunnen brengen, is het voor het lichaam belangrijk dat de componenten van de aangeboren immuniteit kunnen communiceren met de componenten van de verworven immuniteit. Zo zijn ook NK cellen in staat om functies van cellen van de adaptieve immuniteit te moduleren. Vooreerst is er een belangrijke interactie tussen NK cellen en de belangrijkste populatie antigeen-presenterende cellen (APC): de dendritische cellen (DC) (Figuur 4).

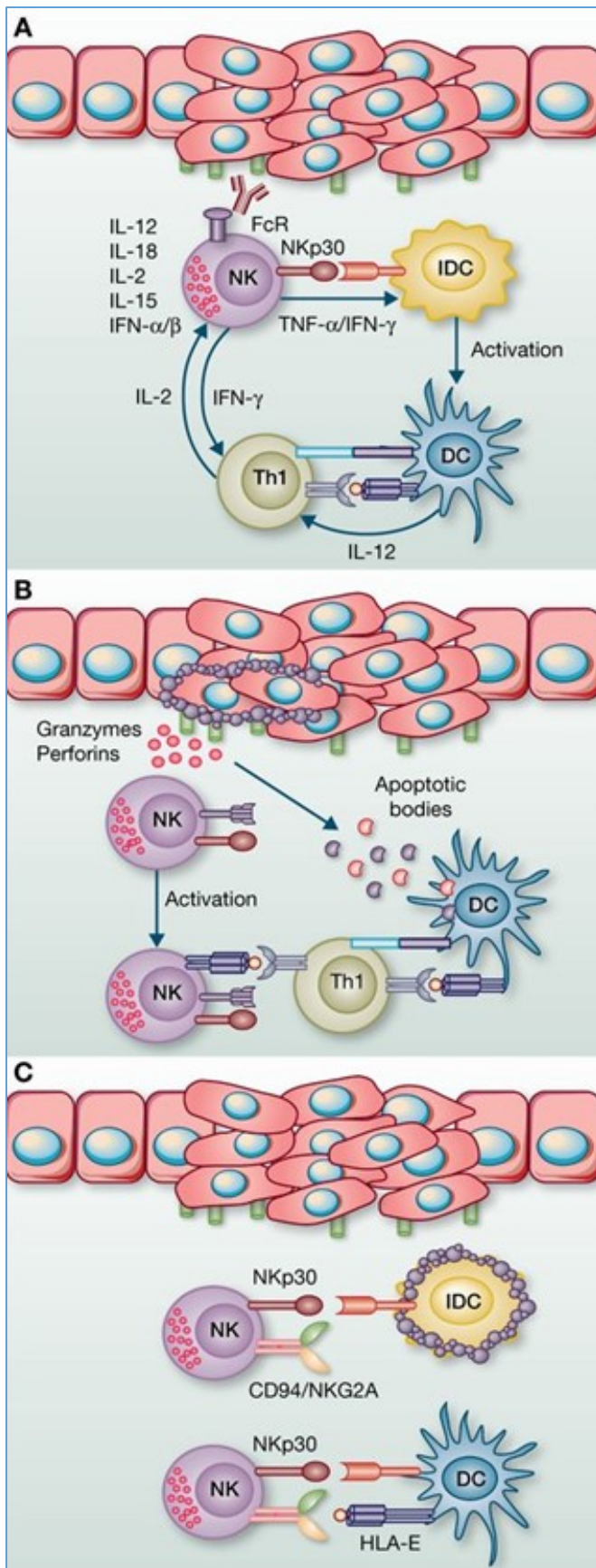
NK cellen beschikken over de capaciteit om immature DC af te doden, doch mature DC zijn resistent aan de NK cel cytotoxiciteit [63] (Figuur 5: C). Hierbij zouden Nkp30 en 'DNAX accessory molecule' 1 (DNAM-1) van belang zijn. Echter, zowel immature als mature DC brengen liganden voor deze receptoren tot expressie, wat betekent dat er een bijkomend mechanisme bij betrokken moet zijn [64].

Bij humane NK cellen heeft men gezien dat de capaciteit om immature DC af te doden beperkt was tot NK cellen die een gebrek hadden aan de expressie van inhiberende KIRs specifiek voor self-MHC klasse I allelen, maar daarentegen de HLA-E specifieke inhiberende CD94/NKG2A receptor tot expressie brachten. Immature DC zijn gevoelig aan de cytotoxiciteit van dergelijke NK cellen omdat ze slechts een lage expressie vertonen van de HLA-E inhiberende receptor. Mature DC zijn hiertegen beschermd omdat zij wel een voldoende hoge expressie van HLA-E hebben [64]. De functionele homoloog van HLA-E bij de muis is Qa-1b [65]. Dit mechanisme zorgt voor een DC selectie en op die manier wordt het type van de adaptieve immuunrespons die zal worden opgestart beïnvloed. Immers, DC die onvoldoende MHC klasse I moleculen tot expressie brengen, kunnen bij hun contact met T cellen leiden tot een Th2-respons of tot de inductie van tolerantie van de T cellen ten opzichte van het antigeen [66]. Dit mechanisme wordt 'DC editing' genoemd [67].

Na activatie produceren NK cellen, voornamelijk deze met een CD83⁺CCR7⁺CD56⁺ fenotype bij de mens [68], pro-inflammatoire cytokines zoals IFN- γ en TNF- α . Deze cytokines zijn in staat om de overleving, de functie en de maturatie van APCs te stimuleren [69]. Ze induceren namelijk de maturatie van DC tot type-1 gepolariseerde DC, dewelke veel IL-12 produceren na contact met T-helper cellen. Dit draagt bij tot de ontwikkeling van een beschermende cytotoxische T cel respons (Figuur 5: A). Daarenboven zorgt TNF- α voor een hogere expressie aan co-stimulatorische moleculen op DC, wat op zijn beurt bijdraagt tot de productie van IL-12 door de DC [70]. Daarnaast zouden de antigenen van target cellen die door NK cellen zijn vernietigd, kunnen worden opgenomen, verwerkt en gepresenteerd door DC, waardoor er een sterkere stimulatie is van het immuunsysteem. Bovendien promoten NK cellen ook de presentatie van antigenen door DC aan cytotoxische CD8⁺ T cellen [71] (Figuur 5: B).

NK cellen zijn dus in staat om de functies van DC te stimuleren, doch ook het omgekeerde is waar. DC produceren immers IFN type I dat de effector functies van NK cellen stimuleert [70, 72]. Daarnaast produceren geactiveerde DC ook IL-2, IL-12, IL-15 en IL-18 die de overleving, de maturatie en de proliferatie van NK cellen bevorderen [22, 73]. Zo zorgt het IL-12 gesecreteerd door myeloïede DC (mDC) voor een grotere productie van IFN- γ en TNF- α door NK cellen en draagt het bij tot een hogere cytotoxische capaciteit van deze cellen [74]. Ook het IFN- α geproduceerd door plasmacytoïede DC (pDC), die bovendien ook zelf door NK cellen gestimuleerd kunnen worden [75], activeert NK cellen en verhoogt hun cytotoxiciteit [76]. Ook contactafhankelijke factoren zoals NKp30, NKp46, NKG2D, 2B4 en CD27 kunnen zorgen voor een stijging in de NK cytotoxiciteit, cytokineproductie en proliferatie [64].

Er bestaat dus een reciproke stimulatie tussen NK cellen en DC. Dit veroorzaakt een soort vicieuze cirkel waardoor er een sterke stimulatie is van de immuunrespons en er een krachtige T cel respons optreedt. Echter, ook remmende invloeden zijn aanwezig opdat dit hele systeem niet zou escaleren. Zo doden NK cellen geïnfecteerde cellen af, waardoor het oorzakelijk agens niet de kans krijgt om zich verder te verspreiden. Daardoor wordt ook de inflammatoire reactie beperkt. Bovendien produceren zowel humane als murine NK cellen ook IL-10. Dit cytokine is in staat antigeen presentatie en cytokine productie van APC te onderdrukken, waardoor ook de T cel respons afgeremd wordt. Zo dragen NK cellen bij tot het vermijden van een excessieve T cel reactie [77].



A : NK cellen geactiveerd via cytokines, via antistoffen d.m.v. 'antibody dependent cell cytotoxicity' (ADCC) of via binding met activerende receptoren produceren IFN- γ en TNF- α . Deze cytokines bevorderen de maturatie van IL-12 producerende DC, wat leidt tot een effectieve inductie van polarisatie richting de Th1-respons.

B : Vrijgekomen antigenen van target cellen die door NK cellen zijn vernietigd, kunnen worden opgenomen, verwerkt en gepresenteerd door DC. Bovendien kunnen NK cellen de expressie van MHC klasse II moleculen op hun celoppervlak verhogen en zo zelf antigenen presenteren.

C : NK cellen beschikken over de capaciteit om immature DC (IDC) af te doden via hun NKp30 receptor, doch mature DC zijn resistent aan de NK cel cytotoxiciteit omdat ze een voldoende hoge expressie van HLA-E moleculen hebben ter hoogte van hun celmembraan.

FIGUUR 5: Natural Killer cel afhankelijke activatie van dendritische cellen [64]

4.2.2 Interactie tussen NK cellen en T cellen

In bepaalde gevallen kunnen NK cellen een stimulerende invloed uitoefenen op de activiteit van T cellen (Figuur 4). Zo kan het IFN- γ dat geproduceerd wordt door NK cellen ervoor zorgen dat CD4⁺ T cellen gestimuleerd worden om zich te differentiëren tot Th1-cellen [78, 79]. Daarnaast zorgt IFN- γ er ook voor dat DC IL-12 produceren en op die manier CD8⁺ T cellen activeren in afwezigheid van de hulp van CD4⁺ T cellen [80, 81]. Wanneer het immuunsysteem getriggerd wordt, migreren NK cellen naar de drainerende lymfoïde organen en interageren met DC en/of T cellen. Op die manier kunnen NK cellen DC activeren en zo proliferatie en differentiatie van T cellen veroorzaken [73]. Bij bepaalde infecties, onder andere met *M. tuberculosis*, werd aangetoond dat NK cellen regulatorische T cellen vernietigen en zodoende de activiteit van de effector T cellen verhogen [82].

Toch zorgen NK cellen in de meeste gevallen voor een negatieve beïnvloeding van de T cel activiteit. Zo werd aangetoond dat NK cellen in staat zijn om geactiveerde T cellen af te doden (Figuur 4), tenzij ze voldoende expressie van MHC klasse I moleculen vertonen ter hoogte van hun celoppervlak [83]. Experimenten bij muizen [83-86], zowel *in vitro* als *in vivo*, suggereren dat NK cellen geactiveerde T cellen vernietigen door middel van de NKG2D receptor die interageert met liganden die tot expressie komen op T cellen op het moment van hun activatie. Daardoor zou de reactie van de T cellen gecontroleerd kunnen worden bij virale infecties en auto-immuniteit. Bovendien zou op die manier waarschijnlijk ook de 'graft-versus-host'-reactie bij transplantaties beperkt kunnen worden. Een gelijkaardig mechanisme werd *in vitro* geobserveerd bij humane NK cellen [84, 87]. NK cellen kunnen ook immunosuppressieve cytokines produceren, zoals IL-10 [88], wat ervoor zorgt dat Th1 reacties gelimiteerd worden en dat expansie van CD8⁺ T cellen verhinderd wordt [69]. Dit gebeurt onder andere bij infectie met het muriene cytomegalovirus (MCMV) [89], waardoor er een suppressie is van de antivirale T cel respons [88].

De NK cel gemedieerde suppressie van T cellen is mogelijks bedoeld om immunopathologie te voorkomen wanneer T cellen overmatig zouden reageren bijvoorbeeld tijdens een systemische infectie [89, 90] of om potentieel gevaarlijke auto-reactieve T cellen te verhinderen om deel te nemen aan de immunorespons [91]. Zo zorgen NK cellen mede voor de preventie van auto-immuniteit. Daarnaast maakt dit mechanisme ook allograft tolerantie mogelijk. Bovendien is dit mechanisme waarschijnlijk ook tijdens de dracht zeer belangrijk. Er werd immers vastgesteld dat er tijdens de dracht een accumulatie is van een subpopulatie van NK cellen, de deciuale NK cellen (dNK), ter hoogte van het endometrium. Deze subpopulatie van NK cellen zou een centrale rol spelen in de weefselhomeostase en in het remodeleren van de endometriale vascularisatie wat nodig is voor de embryo implantatie en een succesvolle dracht [92]. Daarnaast zorgt de interactie van dNK cellen met myeloïde cellen voor de ontwikkeling van regulatorische T cellen, wat nodig blijkt voor de onderdrukking van de immuniteit van het moederdier tegenover de foetus tijdens de dracht [93].

Ook bij chronische virale infecties blijkt de interactie tussen NK cellen en T cellen van cruciaal belang. Zo leidt een chronische infectie met het lymphocytair choriomeningitis virus (LCMV) bij de muis tot uitputting van de virus-specifieke T cellen wat zorgt voor het ontstaan van een persistente infectie [94]. Echter, een dergelijke chronische infectie met LCMV kon niet worden uitgelokt bij NK deficiënte muizen. Bij deze muizen leidt de verhoging van de antivirale T cel reactie uiteindelijk tot een eliminatie van het virus [90]. Ook bij de mens zouden NK cellen bijdragen tot het optreden van een systemische chronische virale infectie en immunopathologie bij infectie met het hepatitis C virus (HCV) [90].

De NK cel gemedieerde inhibitie van T cellen wordt echter wel onder controle gehouden. Zo kunnen geactiveerde T cellen zichzelf beschermen tegen NK cel cytotoxiciteit door middel van het opreguleren van liganden (bijvoorbeeld Qa-1) voor bepaalde inhiberende receptoren op NK cellen, namelijk de NKG2A receptor [95] en de 2B4 receptor [96]. Bovendien zou het IFN type I thymocyten [97] en perifere virus-specifieke T cellen gedurende een virusinfectie (aangetoond bij de muis) [98] kunnen beschermen tegen de cytotoxiciteit van NK cellen. Echter, IFN type I is ook een sterke activator van de NK cel activiteit en er is verder nog niet geweten of ook andere celtypes, zoals APC en B cellen beschermd worden door IFN type I.

Daarnaast kunnen NK cellen ook op een MHC klasse II afhankelijke manier de CD4⁺ T cel reactie rechtstreeks beïnvloeden door als antigeen-presenterende cel te fungeren [99] (Figuur 5: B). Dit wordt verder in deze literatuurstudie meer uitvoerig besproken (zie 4.4).

4.2.3 Interactie tussen NK cellen en B cellen

De onderdrukking van CD4⁺ T cellen door NK cellen heeft waarschijnlijk effecten op de aard van de T cel afhankelijke humorale immuunrespons, zoals de minder uitgebreide vorming van het germinale centrum in de secundaire lymfoïde organen [69]. Daarnaast is er ook bewijs dat NK cellen op een directe manier de B cel functies reguleren. Zo promoten muriene NK cellen de verandering van het isotype antistoffen die geproduceerd worden door B cellen, zowel op een IFN- γ afhankelijke als IFN- γ onafhankelijke manier [100, 101]. Ook humane NK cellen zouden de antistof productie door B cellen *in vitro* kunnen stimuleren, zowel via cytokineproductie [102] als via CD40-CD40L interacties [103]. Daarenboven ondersteunen NK cellen ook B cel activatie en antistof productie nadat muizen geïmmuniseerd werden met afgedode *Brucella abortus* kiemen [104], met antigeen-presenterende tumor cellen [105] of met proteïne-achtige antigenen zoals ovalbumine [106].

Echter, in bepaalde contexten zouden NK cellen ook kunnen zorgen voor een suppressie van de B cel respons. Zo zouden IL-2 geactiveerde NK cellen de productie van immunoglobulines door B cellen beperken wanneer deze *in vitro* gestimuleerd werden met antigenen [107, 108]. Daarnaast kan ook een inhibitie van de B cel respons worden bekomen door middel van het beletten van de ontwikkeling van CD4⁺ folliculaire helper T cellen. Dit zou gebeuren op een perforine- afhankelijke manier en leiden tot een kleiner germinaal centrum, een lagere hoeveelheid specifieke plasmacellen en een zwakke inductie van neutraliserende antistoffen [109].

4.2.4 Interactie tussen NK cellen en macrofagen

Ook tussen NK cellen en macrofagen komen interacties voor (Figuur 4). Zowel direct contact tussen deze twee celtypes (via onder andere NKG2D, 2B4, NKp46 en DNAM-1 receptoren op NK cellen en hun respectievelijke liganden op macrofagen, afhankelijk van de omstandigheden) als indirect contact via cytokines (IL-12, IL-15, IL-18 en IL-23) zorgt voor een stijging van de cytotoxiciteit en een verhoogde cytokine productie door NK cellen (INF- γ en TNF- α) [110]. Bovendien wordt naast de NK cel ook de macrofaag activiteit gestimuleerd na deze interactie. Bij de muis werd ook aangetoond dat de interactie tussen de NK receptor NKG2A en de Qa1 ligand op de macrofaag ervoor zorgt dat de macrofaag kan ontsnappen aan lyse door NK cellen [111].

4.2.5 Interactie tussen NK cellen en endotheelcellen

Vaak wordt tijdens de immuunrespons het vasculaire endotheel beschadigd, wat kan leiden tot negatieve effecten van de immuunrespons zoals vasculopathie en orgaanfalen. Op de celmembraan van NK cellen werden enkele receptoren waargenomen die kunnen leiden tot adhesie aan de endotheelcellen: VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$ integrine) dat bindt met het endotheliale VCAM-1, CD62L (L-selectine) dat bindt met addressines en CX3CR1 dat bindt met het membraangebonden CX3CL1 op het endotheel. CX3CL1 activeert bovendien NK cellen en zorgt op die manier voor het vernietigen van endotheelcellen, wat suggereert dat NK cellen betrokken kunnen zijn bij de pathogenese van vasculaire schade tijdens de immuunreactie [112].

Toch zouden NK cellen ook angiogenese kunnen promoten in andere situaties, zoals tijdens de zwangerschap. Zo ziet men een aanrijking van uteriene NK cellen die pro-angiogenetische factoren vrijstellen zoals 'vascular endothelial growth factor' (VEGF), 'placental growth factor' (PLGF) en NKG5 ter hoogte van het endometrium tijdens de dracht bij verschillende diersoorten [113].

4.3 Geheugenfunctie van NK cellen

T en B cellen zijn in staat om zich te differentiëren tot langlevende geheugencellen, die sneller en krachtiger kunnen reageren wanneer er opnieuw een reactie nodig is tegen een antigeen waartegen er eerder reeds een immuunreactie ontwikkeld werd. Deze eigenschap werd beschouwd als zijnde uitsluitend weggelegd voor de cellen van het verworven immuunsysteem. Echter, men heeft nu ook langlevende NK cellen geïdentificeerd (geheugen NK cellen) die in staat zijn om efficiënter te reageren dan naïeve NK cellen wanneer ze voor de tweede maal aan hetzelfde antigeen worden blootgesteld; ze hebben namelijk een hogere cytotoxiciteit en beschikken over een grotere capaciteit om IFN- γ te produceren [114-116]. Men heeft deze geheugen NK cellen al geïdentificeerd bij zowel de mens als de muis, en dit na verschillende soorten van infecties/immunisaties [47] waaronder diverse virusinfecties, o.a. met het MCMV [116], het humaan cytomegalovirus (HCMV) [117], het influenzavirus, het vesiculair stomatitis virus (VSV) en het humaan immunodeficiëntie virus type 1 (HIV-1) [118]. Recent werd ook het bestaan van geheugen NK cellen bij primaten ontdekt: ze zijn in staat om gedurende jaren antigeen-specifieke reacties te genereren en dit zowel na infectie als na vaccinatie [119]. Ook in het colostrum van varkens werden NK cellen gevonden met kenmerken die erop wijzen dat deze cellen geheugen NK cellen zijn, zo waren deze cellen CD45A⁻ en brachten ze MHC klasse II tot expressie [120].

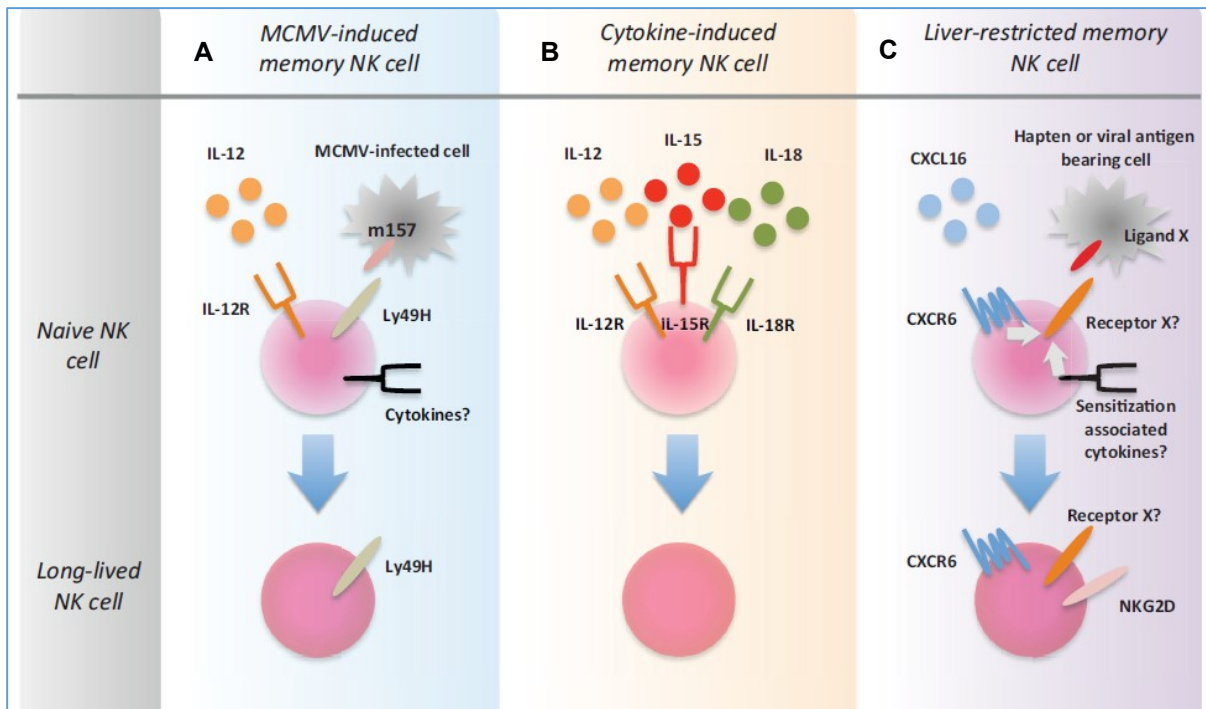
Tot op heden werden er drie verschillende manieren vastgesteld waarop geheugen NK cellen kunnen ontstaan [121] (Figuur 6). Ten eerste heeft men geheugen NK cellen terug gevonden na infectie van muizen van de C57BL/6-lijn (ongeveer 50% van de de NK cellen van de muizen van deze lijn brengen de activerende Ly49H-receptor tot expressie) met MCMV (Figuur 6: A). Tijdens een activatie en expansiefase van de NK cellen zijn er pro-inflammatoire cytokines aanwezig, waaronder IL-12, IL-18 en IL-33, die ontstaan na binding van het antigeen met de NK receptor (Ly49H-m157 bij de muis na infectie met MCMV) samen met co-stimulatorische signalen (o.a. DNAM-1) die leiden tot de expressie van een transcriptiefactor (Zbtb32), die essentieel is voor de proliferatie en de beschermende functie van de antigeen-specifieke NK cellen. Daarna is ook de contractie en overlevingsfase van de NK cellen van belang. Deze contractiefase ontstaat wanneer een groot deel van de effector NK cellen de expressie van het 'pro-survival molecule' Bcl-2 doet dalen. Hierdoor ontstaat dan een Bim-gemedieerde pro-apoptotische signalisatie waardoor bepaald wordt hoeveel cellen uiteindelijk

zullen uitgroeien tot geheugen cellen. NK cellen met een KMRG1⁻ fenotype zouden uiteindelijk de werkelijke specifieke geheugencellen genereren, terwijl de cellen met een KLRG1⁺ fenotype voornamelijk effector cellen zouden zijn [122].

Daarnaast kunnen geheugen NK cellen ook gevormd worden enkel en alleen door contact met cytokines (Figuur 6: B). Men heeft vastgesteld dat het activeren van NK cellen met verschillende cytokines, zoals IL-12, IL-15 en IL-18, aanleiding kan geven tot langlevende NK cellen die een sterkere respons geven nadat ze opnieuw worden gestimuleerd met IL-12 of na stimulatie van de activerende NK cel receptoren [123]. Deze vorm van geheugen die niet gebaseerd is op de aanwezigheid van een antigeen, wordt niet waargenomen bij de cellen van het adaptieve immuunsysteem (T en B cellen) [121].

Tenslotte werd ook een lever-gebonden NK geheugen vastgesteld [121] (Figuur 6: C). Hierbij werd gebruik gemaakt van een model voor haptene-geïnduceerde contact overgevoeligheid. Hoewel men tot voor kort dacht dat enkel T en B lymfocyten konden leiden tot een haptene-geïnduceerde contact overgevoeligheid, kon ook een haptene-specifieke overgevoeligheidsreactie worden uitgelokt bij muizen deficiënt aan T en B cellen. Doch, deze reactie kon niet worden opgewekt bij muizen die bovendien deficiënt waren aan NK cellen [124]. Men bracht daarenboven ook NK cellen van gesensitiseerde muizen over naar Rag2^{-/-}//2rg^{-/-} muizen, die zelf geen lymfocyten, noch NK cellen kunnen aanmaken. Bij deze muizen kon ook de overgevoeligheidsreactie tegenover het haptene worden opgewekt, op voorwaarde dat de NK cellen die gedoneerd werden door de gesensitiseerde muis afkomstig waren uit de lever. Muizen die NK cellen gedoneerd kregen vanuit de milt van gesensitiseerde muizen of NK cellen van niet gesensitiseerde individuen, vertoonden geen reactie. Verder onderzoek heeft uitgewezen dat de aanwezigheid van de chemokine receptor 6 (CXCR6) op NK cellen noodzakelijk is om het geheugen van NK cellen uit te bouwen. Deze receptor is enkel aanwezig op ongeveer de helft van de hepatische NK cellen [118].

Er wordt momenteel veel onderzoek verricht naar de verdere karakteristieken van de 'memory-like' NK cellen en naar de precieze mechanismen die bijdragen tot het ontstaan van deze geheugen NK cellen. Ook mogelijke toepassingen, onder andere met betrekking tot vaccinatie, worden momenteel onderzocht, maar een bespreking hiervan valt buiten de doelstellingen van deze literatuurstudie.



FIGUUR 6: drie verschillende manieren waarop NK cellen zich kunnen differentiëren tot geheugen cel .

A : MCMV- geïnduceerde NK geheugen cellen ontstaan na de herkenning van het m157 proteïne door de activerende Ly49-receptor. Hiervoor is IL-12 en binding met de IL-12R nodig. Mogelijks zijn ook bijkomende co-stimulatorische signalen, zoals cytokines of adhesie moleculen nodig. **B** : cytokine- geïnduceerde NK geheugen cellen ontstaan na contact met IL-12, IL-15 en IL-18. Hiervoor is er geen sensitisatie met antigenen nodig. **C** : lever-gebonden NK geheugen cellen is afhankelijk van sensitisatie met haptenen of specifieke antigenen en van CXCL16. [121]

4.4 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen

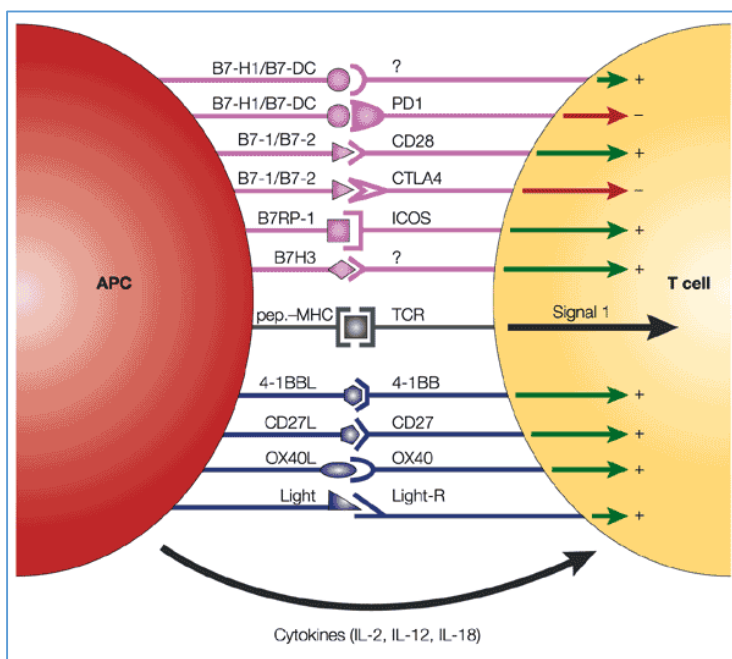
4.4.1 Kenmerken van antigeen-presenterende cellen

De opbouw van een antigeen-specifieke immuunreactie begint met het presenteren van het antigeen door antigeen-presenterende cellen (APC) aan naïeve T cellen. De professionele APC kunnen antigenen presenteren via zowel MHC klasse I als MHC klasse II om op die manier respectievelijk CD8⁺ cytotoxische T cellen of CD4⁺ T-helper cellen te activeren. Deze activatie van naïeve T cellen gebeurt ter hoogte van de secundaire lymfoïde organen zoals de lymfeknopen. De belangrijkste professionele APC zijn de macrofaag, de B cel en – vooral – de dendritische cel (DC).

De DC zijn de meest gespecialiseerde APC en zorgen waarschijnlijk voor de initiële activatie van de T cellen [125]. Deze cellen zijn de krachtigste mediators voor het induceren van de maturatie van naïeve CD4⁺ T cellen en CD8⁺ T cellen tot respectievelijk T-helper cellen en cytotoxische T cellen. Voordat DC in staat zijn om T cellen te activeren, zijn er twee signalen nodig. Het eerste daarvan is antigeen-specifiek. De antigenen worden door de DC verwerkt tot peptiden en op de MHC molecule aangebracht. Dit complex van antigeen gepresenteerd via MHC wordt dan door specifieke naïeve T cellen herkend via hun unieke T cel receptor (signaal 1).

Daarnaast is er ook nood aan een co-stimulatorisch signaal (signaal 2) [126]. Hoewel men initieel dacht dat er slechts één soort co-stimulatorisch signaal bestond, namelijk de interactie tussen CD80 (B7-1) op de APC met CD28 op de T cel, heeft meer recent onderzoek geleid tot de identificatie van diverse andere co-stimulatorische signalen, waarvan er sommige stimulerend en andere inhiberend zijn [126] (Figuur 7). De co-stimulatorische signalen kunnen ingedeeld worden in 2 groepen: de immunoglobuline (Ig) familie enerzijds en de TNF-familie anderzijds [127]. Inflammatoire cytokines (zoals TNF- α of IL-1) of bacteriële componenten (zoals lipopolysachariden) ter hoogte van de plaats van infectie kunnen leiden tot een verhoogde expressie van MHC en een opregulatie van co-stimulatorische moleculen (o.a. B7) op de plasmamembraan van de DC en leiden tot een migratie van de DC vanuit de perifere weefsels naar de secundaire lymfoïde organen, waar de eigenlijke priming van de T cellen gebeurt [128]. De combinatie van het antigeen-specifieke signaal (antigeen gepresenteerd via MHC op de DC herkend door de TCR van de T cel) en het antigeen-aspecifieke co-stimulatorisch signaal (o.a. B7 op de DC herkend door CD28 op de T cel) zal zorgen voor activatie en proliferatie van de correcte T cellen [129].

Naast de interactie via de TCR en de costimulatorische signalen, spelen ook cytokines een bepalende rol in de activatie en differentiatie van T cellen tijdens de immuunrespons (signaal 3). Welke cytokines aanwezig zijn, is afhankelijk van de omstandigheden waarin de DC geprimed zijn. Na contact met een pathogeen zorgen bioactieve componenten, afgeleid van het specifieke pathogeen, ervoor dat DC geprimed worden in de expressie van Th cel polariserende moleculen waardoor de T cellen waarmee ze interageren differentiëren tot Th type 1 (Th1), Th type 2 (Th2) of regulatorische T cellen (Treg). Zo zorgen IL-12, IL-23, IL-27, IFN type I en ICAM-1 (een adhesie-molecule op het celoppervlak) voor differentiatie van Th cellen tot Th1 cellen. 'Monocytic chemotactic protein 1 (MCP1 of CCL2) en OX40L zorgen dan weer voor een differentiatie tot Th2 cellen. Tenslotte zorgen IL-10 en TGF- β ervoor dat de Th cellen zich zullen differentiëren tot Treg cellen [130]. Deze differentiatie bepaalt in welke richting de immuunrespons zal worden verder gezet. Th1 cellen produceren IFN- γ , IL-2 en TNF- β en bevorderen fagocytose en de cellulaire immuniteit, terwijl Th2 cellen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 en IL-13 produceren en de eosinofiele reactie en de humorale immuniteit bevorderen [131].



FIGUUR 7: de verschillende co-stimulatorische signalen tussen antigeen - presenterende cellen (APC) en T cellen.

In het grijs: de interactie tussen de T cel receptor (TCR) en de MHC klasse II molecule op de APC waarop een antigeen gebonden is (signaal 1). In het paars: de interactie tussen de T cel en de APC via de co-stimulatorische signalen behorende tot de immunoglobuline familie (signaal 2). In het blauw: de interactie tussen de T cel en de APC via de co-stimulatorische signalen behorende tot de TNF-familie (signaal 2). Zwarte pijl: cytokines die functioneren als een extra modifierend signaal (signaal 3). [126]

4.4.2 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen bij de mens

MHC klasse I is in principe aanwezig op alle gekernde cellen in het lichaam. MHC klasse II expressie is echter meer restrictief. Om antigenen aan CD4⁺ T cellen te kunnen presenteren en CD4⁺ T cellen te activeren, moet een cel beschikken over MHC klasse II moleculen op haar celmembraan en moet er bovendien een co-stimulatorisch signaal aanwezig zijn. Continue expressie van MHC klasse II moleculen komt enkel voor bij echte APC en wordt bij deze cellen geregeld door het 'class II transactivator' (CIITA) gen [132]. In 1980 werd in een studie geconcludeerd dat NK cellen geen MHC klasse II moleculen tot expressie brachten [133]. Ook in een andere studie verklaarde men de invloed van NK cellen op de T cel respons niet door middel van MHC klasse II expressie op NK cellen, maar constateerde men dat NK cellen een extra co-stimulatorisch signaal kunnen geven aan de door de DC geactiveerde T cellen en dat NK cellen op die manier de T cel respons beïnvloedden. Dit signaal wordt gegenereerd door middel van een interactie tussen de 2B4-receptor op de NK cel en CD48 op de T cel [134]. Echter, andere studies tonen een meer rechtstreekse interactie tussen NK cellen en T cellen. Immers, men heeft aangetoond dat ook geactiveerde humane NK cellen HLA-DR, een type MHC klasse II receptor, tot expressie brengen [135].

In een latere studie, waarin NK cel klonen van 3 donoren werden getest op het presenteren van oplosbare proteïnen aan antigeen-specifieke T cel klonen [136], werd geconcludeerd dat NK cellen het tetanus toxoïd (TT), het huisstofmijt allergeen 'Der p I' en het peptide '3-13' afgeleid van het 'heat shock protein' van *Mycobacterium Leprae* konden presenteren aan CD4⁺ T cellen via een MHC klasse II- afhankelijk proces. Doch, het volledige *Mycobacterium Leprae* antigeen kon niet worden gepresenteerd door de NK cellen. Men besloot hieruit dat NK cellen efficiënt kunnen functioneren als APC, hoewel ze misschien beperkt zijn in de types van antigenen die ze kunnen verwerken [136]. Verder werd in deze studie geopperd dat NK cellen cytokines, zoals IFN- γ en IL-3, kunnen produceren met een invloed op T cellen, die niet worden gesynthetiseerd door monocyten of B cellen. Dit zou mogelijks kunnen betekenden dat de antigeen-specifieke respons van T cellen verschillend zou kunnen zijn naargelang van het type cel dat dienst doet als APC [136]. Een andere studie toonde aan dat humane CD56⁺ NK cellen die MHC klasse II moleculen tot expressie brachten, het superantigeen staphylococcal enterotoxin B (SEB) konden presenteren aan T cellen, en dit door middel van een MHC klasse II- afhankelijke pathway [137]. Superantigenen worden geproduceerd door verschillende bacteriën en virussen. Ze zijn verschillend van de klassieke antigenen omdat ze aan de buitenkant van de MHC klasse II moleculen binden. Ze worden dus niet geïnternaliseerd, noch verwerkt tot peptiden. Het presenteren van SEB door NK cellen aan T cellen is dus onafhankelijk van een efficiënte antigeen verwerking [138].

Naast de expressie van MHC klasse II en de capaciteit om antigenen te verwerken en te presenteren op hun celmembraan, hebben NK cellen ook nood aan een co-stimulatorisch signaal om een effectieve interactie met de T cel tot stand te brengen. Eén van de co-stimulatorische signalen die kunnen optreden tijdens een immuunrespons is de interactie tussen OX40 op de geactiveerde T cel en OX40 Ligand (OX40L) op de APC. Deze interactie zorgt voor de expansie en overleving van antigeen-specifieke geactiveerde T cellen.

Hoewel men er van uit ging dat de OX40L enkel tot expressie komt op professionele APC, heeft men deze ligand nu aangetoond op meerdere cellen, waaronder de NK cel [139]. Vers geïsoleerde en opgezuiverde humane NK cellen brengen geen OX40L tot expressie. Echter, onderzoek wees uit dat OX40L geïnduceerd werd op humane NK cellen die geactiveerd werden door IL-2, IL-12 of IL-15 na stimulatie van de activerende NKG2D-receptor, via de lage affiniteit receptor voor IgG (CD16) of via de 'killer cell Ig-like' receptor 2DX2. Incubatie van NK cellen met IL-2, IL-12, IL-15 in combinatie met stimulatie van de CD16 receptor, induceerde OX40L op meer dan 60% van de NK cellen. Bovendien werd de expressie van CD86 (B7-2) op NK cellen geïnduceerd na incubatie met IL-2. Deze resultaten doen vermoeden dat NK cellen direct CD4⁺ T cel proliferatie kunnen stimuleren door middel van presentatie van antigenen aan deze cellen: ze bezitten immers de vereiste co-stimulatorische moleculen (zoals OX40L en B7-2) en ze hebben de capaciteit om antigenen te presenteren via MHC klasse II moleculen op hun celmembraan [140]. Verder werd ook beschreven dat geactiveerde NK cellen CD70 en B7-H3 (beiden co-stimulatorische moleculen) tot expressie brengen [141]. Bovendien werd gezien dat MHC klasse II en CD86 geïnduceerd werden op NK cellen nadat ze target cellen vernietigd hadden. Dit wijst erop dat het vernietigen van target cellen mogelijk een bijkomende pathway kan vormen waarlangs humane NK cellen MHC klasse II kunnen opreguleren en co-stimulatorische moleculen tot expressie kunnen brengen. Men denkt hierbij dat NK cellen in staat zijn om eerst een pathogeen/geïnfecteerde cel af te doden, vervolgens geactiveerd worden en tenslotte antigenen afkomstig van het pathogeen verwerken en presenteren om op die manier de respons van CD4⁺ T cellen te stimuleren [141].

Al deze vaststellingen suggereren dat er een vorm van directe interactie plaats kan vinden tussen T cellen en NK cellen die voorheen onbekend was en wijzen er dus op dat humane NK cellen onder specifieke omstandigheden antigeen-presenterende eigenschappen kunnen vertonen [141].

4.4.3 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen bij de muis

In tegenstelling tot bij humane NK cellen, is de expressie van MHC klasse II en de functie ervan bij muriene NK cellen minder goed gekend en meer controversieel [99]. Bepaalde subpopulaties van geactiveerde muriene NK cellen blijken echter MHC klasse II tot expressie te brengen. Dit zou erop kunnen wijzen dat ook bij de muis NK cellen in staat zijn om op een direct manier de T cel respons te reguleren [142-144]. Bij verder onderzoek naar de NK cellen die MHC klasse II moleculen tot expressie brachten, bleek dat men geen transcripten kon terugvinden van genen die coderen voor MHC klasse II moleculen. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de expressie van MHC klasse II moleculen op muriene NK cellen onafhankelijk gebeurt van de regulatie door transcriptie. MHC klasse II positieve NK cellen, moeten dus hun MHC klasse II moleculen op een andere manier verkrijgen. Men bevestigde dat geactiveerde NK cellen deze moleculen verkrijgen door interactie met DC [99].

Er zijn 3 manieren beschreven waarop intercellulaire proteïne overdracht kan gebeuren tussen leukocyten: via nanotubuli, via exosomen en via trogocytose [145-147]. De overdracht van MHC klasse II moleculen tussen DC en NK gebeurt via de laatste manier. Trogocytose is een mechanisme waarbij lymfocyten oppervlaktemoleculen van de APC waarmee ze verbonden zijn, kunnen onttrekken via de immunologische synaps. Fragmenten van de plasmamembraan worden overgebracht van de APC naar de lymfocyt, waardoor er nieuwe subpopulaties van cellen ontstaan, onafhankelijk van hun genetische basis. Deze uitwisseling gebeurt tussen twee levende cellen; het gaat dus niet om fagocytose.

Het fenomeen is reeds vastgesteld bij T cellen, B cellen en NK cellen, zowel *in vitro* als *in vivo*. In verband met de trogocytose bij NK cellen, stelde men vast dat de MHC klasse I binding met de NKRs van de NK cellen niet betrokken was in het proces, doch wel de plasmamembraan en het actine cytoskelet van de twee cellen [99, 146].

Daarnaast werd ook nagegaan of deze MHC klasse II positieve NK cellen ook co-stimulatorische moleculen tot expressie brengen, wat een voorwaarde is om naïeve T cellen te stimuleren. Men zag dat geactiveerde muriene NK cellen CD80 en CD86 tot expressie brachten, doch aan zeer lage concentraties. Deze MHC II positieve NK cellen bleken de T cel proliferatie en de productie van IL-2 door T cellen te onderdrukken nadat deze door DC waren gestimuleerd. Op basis van deze resultaten kon worden gesteld dat bij de muis MHC klasse II positieve NK cellen, met hun lage expressie van co-stimulatorische moleculen, CD4⁺ T cel reacties onderdrukken. Een mogelijke gevolg hiervan zou kunnen zijn dat deze NK cellen anergie induceren bij de T cellen [99].

4.4.4 Antigeen-presenterende eigenschappen van NK cellen bij andere diersoorten

Hoewel NK cellen van de mens en van de muis sterk van elkaar verschillen, zowel qua fenotype als qua functies, werden reeds bij beide species aanwijzingen gevonden die wijzen in de richting van een antigeen-presenterende capaciteit. Echter, als gevolg van deze heterogeniteit tussen verschillende species is het onmogelijk om eigenschappen van NK cellen van de ene diersoort zomaar naar de andere te extrapoleren en rijst de vraag in welke mate NK cellen van andere diersoorten ook antigeen-presenterende functies op zich kunnen nemen.

Bij porciene NK cellen werd aangetoond dat na *in vitro* stimulatie met een cocktail van cytokines (nl. IL-2, IL-12 en IL-18) MHC klasse II geïnduceerd kon worden op de NK cellen, doch de exacte functie van deze MHC klasse II expressie blijft ongekend [148]. Bovendien werd er een stijging van MHC klasse II expressie waargenomen wanneer porciene NK cellen in contact werden gebracht met plasmacytoïde dendritische cellen (pDC) die geïnfecteerd waren met 'classical swine fever virus' (CSFV). Dit zou een gevolg kunnen zijn van de hoge gehalten aan IFN- α die door deze pDC werden vrijgesteld [149]. Er wordt aangenomen dat niet geactiveerde porciene NK cellen een lage expressie vertonen van MHC klasse II moleculen, die na activatie echter sterk zou toenemen [149]. Zo zouden MHC klasse II⁺ NK cellen een teken zijn van activatie [149], zoals ook beschreven is voor porciene T cellen [150]. Voor geactiveerde CD8⁺ T cellen en $\gamma\delta$ - T cellen die MHC klasse II moleculen tot expressie brengen, werd reeds aangetoond dat ze kunnen functioneren als antigeen-presenterende cellen [151, 152], voor geactiveerde porciene NK cellen is dit vooralsnog niet bewezen. Bij het varken werd bovendien een stijging van het aantal MHC klasse II⁺ T cellen waargenomen, waarbij de expressie van MHC klasse II een merker zou kunnen zijn voor geheugen T cellen. Dit zou ook bij het paard, waar een leeftijdsafhankelijke stijging van het aantal MHC klasse II⁺ T cellen werd waargenomen, het geval zijn [153].

Aangezien bij de hond niet de typische NK cel merkers tot expressie komen en geen andere NK cel merkers beschikbaar zijn, is het moeilijk om echte NK cellen bij de hond te definiëren en te onderzoeken. Desondanks kon men aantonen dat subsets van caniene non-T non-B lymfocyten die ook niet van monocyttaire oorsprong waren, MHC klasse II moleculen tot expressie konden brengen [154].

BESPREKING

Sinds hun ontdekking in 1973 worden NK cellen klassiek ingedeeld in het luik van de aangeboren afweer, waarbij deze cellen vooral gekend staan voor hun cytotoxische en cytokine-producerende eigenschappen. Echter, door steeds meer diepgaand onderzoek naar deze cellen, werden steeds nieuwe functies aangetoond, zoals antigeen presentatie en zelfs ook functies die oorspronkelijk geacht werden voorbehouden te zijn aan cellen van de verworven afweer zoals een geheugen functie. Functies zoals de antigeen-presenterende eigenschappen zijn vooral aangetoond *in vitro*, o.a. op basis van de aanwezigheid van bepaalde moleculen op het celoppervlak van de NK cellen. Op welke manier NK cellen deze moleculen *in vivo* gebruiken is moeilijk in te schatten, wat ook leidt tot verschillende interpretaties door verschillende auteurs. Zo wordt bijvoorbeeld de expressie van MHC klasse II moleculen op NK cellen door sommigen aanzien als een bewijs voor de mogelijke antigeen-presenterende functie van NK cellen [136, 137], terwijl anderen het interpreteren als een 'ménage à trois' waarbij de presentatie van antigenen door NK cellen via MHC klasse II enkel een extra beïnvloedende factor is tijdens de activatie van T cellen door de dendritische cellen [134]. Bovendien wordt de interpretatie nog bemoeilijkt door het feit dat er grote verschillen zijn in expressie van verschillende moleculen afhankelijk van de diersoort. Zo is de aanwezigheid van co-stimulatorische moleculen op een cel een absolute must om effectief te kunnen optreden als antigeen-presenterende cel en om effectief de T cel te kunnen activeren. Deze co-stimulatorische signalen zijn duidelijk aangetoond op humane NK cellen (o.a. OX40L, B7-2, CD70 en B7-H3, CD86) [139-141], maar hoewel op muriene NK cellen ook co-stimulatorische moleculen werden waargenomen (nl. CD80 en CD86), kwamen deze slechts in zeer lage mate tot expressie, zodat ze eerder een onderdrukkende dan wel een activerende invloed op de T cel zouden hebben [99]. Deze resultaten doen vermoeden dat NK cellen bij de mens wel degelijk een antigeen-presenterende functie op zich kunnen nemen, terwijl het bij de muis waarschijnlijk eerder gaat om het (negatief) beïnvloeden van de activatie van T cellen door DC. Bij het varken is dan weer vastgesteld dat MHC klasse II continu tot expressie worden gebracht op NK cellen, zij het in zeer beperkte hoeveelheden [149], waarbij de expressie sterk kan toenemen na activatie van de NK cellen. De *in vivo* functie van deze MHC klasse II expressie is tot op heden nog niet opgehelderd [148]. Het onderzoek naar NK cellen bij andere diersoorten is veel minder intensief en er is bij andere diersoorten dan ook weinig geweten. Bovendien is het, gezien de grote verschillen tussen humane en muriene NK cellen, niet mogelijk om zomaar gegevens te extrapoleren van de ene naar de andere diersoort.

Door de ontdekking van eigenschappen van de adaptieve immuniteit bij NK cellen, namelijk de mogelijkheid om zich om te vormen tot langlevende 'memory-like' NK cellen, lijkt de grens tussen aangeboren en adaptieve immuniteit te vervagen. Immers, gezien deze nieuwe eigenschappen aangetoond zijn bij NK cellen, is het niet ondenkbaar dat ook andere cellen van de aangeboren immuniteit dergelijke functies ook bezitten [47]. Recent werd inderdaad aangetoond dat monocyt/macrofagen 'getraind' kunnen worden, zodat ze een sterkere immunreactie teweeg zullen brengen na een tweede contact met een pathogeen. Hoewel macrofagen geen klonale expansie ondergaan, zorgt de activatie via hun 'pathogen recognition receptors' (PRR) ervoor dat er epigenetische modificaties optreden na blootstelling aan 'pathogen-associated molecular patterns' (PAMPs) en 'damage-associated molecular patterns' (DAMPs). Op die manier ontwikkelen ze een specifiek geheugen waardoor er een verhoogde gevoeligheid is, zelfs voor pathogenen die niet met het oorspronkelijke pathogeen gerelateerd zijn, maar die liganden voor dezelfde PRR tot expressie

brengen als het oorspronkelijke pathogeen. Naast monocyt/macrofagen zijn waarschijnlijk alle myeloïde en lymfoïde cellen (waaronder NK cellen, DC, 'innate lymfoid cells' (ILCs) en $\gamma\delta$ T cellen) in staat om een dergelijke 'training' te ondergaan [155]. Desalniettemin is er nog steeds een duidelijke lijn te trekken tussen de twee compartimenten van de immuniteit op basis van de receptoren die de cellen tot expressie brengen. Cellen van de aangeboren afweer hebben immers slechts één type receptor die genetisch bepaald en onveranderlijk is, terwijl cellen van de adaptieve immuniteit in staat zijn om via VDJ-recombinatie hun receptoren genetisch te modificeren [47]. Toch hebben deze ontdekkingen ervoor gezorgd dat wetenschappers op een andere manier zijn gaan kijken naar de immuniteit; de aangeboren immuniteit werd immers vaak aanzien als inferieur en minder flexibel dan de verworven afweer, naar waar dan ook de meeste interesse uitging. Thans beseft men dat de cellen van de aangeboren immuniteit, en zeker de NK cel, een zeer belangrijke rol spelen in het sturen van de immuunrespons. Bovendien kunnen NK cellen target cellen herkennen die door middel van een verlaagde MHC klasse I expressie ontsnappen aan de adaptieve immuniteit [58].

Door het vele wetenschappelijk onderzoek dat de voorbije decennia uitgevoerd werd in verband met NK cellen, is de kennis die we hebben over deze cellen sterk toegenomen. Gezien de belangrijke coördinerende functies die deze cellen uitoefenen *in vivo*, werkt men tegenwoordig aan het implementeren van de verworven kennis in de ontwikkeling van nieuwe behandelingen in de geneeskunde. Momenteel wordt immunotherapie met NK cellen reeds succesvol toegepast in de behandeling van, voornamelijk hematologische, kankers bij de mens [34, 58]. In de toekomst kan men NK cellen misschien gebruiken om betere resultaten te behalen met vaccinaties: NK cellen zouden immers een hoofdrol kunnen spelen bij het ontstaan van een levenslange bescherming tegen infectie na vaccinatie [69]. Daarnaast zou immunotherapie met NK cellen ook gebruikt kunnen worden om een meer effectieve behandeling te kunnen bieden bij onder andere virale infecties, zwangerschapsproblemen, auto-immuniteit en allergieën. Op die manier zou het fundamentele onderzoek naar NK cellen uiteindelijk kunnen bijdragen tot een verbetering van de gezondheid van patiënten in de praktijk [58].

REFERENTIELIJST

1. Takasugi, M., M.R. Mickey, and P.I. Terasaki, *Reactivity of lymphocytes from normal persons on cultured tumor cells*. *Cancer Res*, 1973. **33**(11): p. 2898-902.
2. Kiessling, R., et al., "*Natural*" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol*, 1975. **5**(2): p. 117-21.
3. Kiessling, R., E. Klein, and H. Wigzell, "*Natural*" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol*, 1975. **5**(2): p. 112-7.
4. Herberman, R.B., M.E. Nunn, and D.H. Lavrin, *Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic acid allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity*. *Int J Cancer*, 1975. **16**(2): p. 216-29.
5. Habu, S., et al., *Surface markers on natural killer cells of the mouse*. *Eur J Immunol*, 1979. **9**(12): p. 938-42.
6. Ortaldo, J.R., R.H. Wiltrot, and C.W. Reynolds, *Natural killer activity: early days, advances, and seminal observations*. *Crit Rev Oncog*, 2014. **19**(1-2): p. 1-13.
7. Timonen, T., et al., *Human natural cell-mediated cytotoxicity against fetal fibroblasts. III. Morphological and functional characterization of the effector cells*. *Cell Immunol*, 1979. **48**(1): p. 121-32.
8. Timonen, T., et al., *Fractionation, morphological and functional characterization of effector cells responsible for human natural killer activity against cell-line targets*. *Cell Immunol*, 1979. **48**(1): p. 133-48.
9. Ortaldo, J.R., et al., *Determination of surface antigens on highly purified human NK cells by flow cytometry with monoclonal antibodies*. *J Immunol*, 1981. **127**(6): p. 2401-9.
10. Reynolds, C.W., et al., *Natural killer activity in the rat. II. Analysis of surface antigens on LGL by flow cytometry*. *J Immunol*, 1981. **127**(6): p. 2204-8.
11. Grimm, E.A., et al., *Lymphokine-activated killer cell phenomenon. Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes*. *J Exp Med*, 1982. **155**(6): p. 1823-41.
12. Zanoni, I., et al., *Self-tolerance, dendritic cell (DC)-mediated activation and tissue distribution of natural killer (NK) cells*. *Immunol Lett*, 2007. **110**(1): p. 6-17.
13. Herberman, R.B. and H.T. Holden, *Natural killer cells as antitumor effector cells*. *J Natl Cancer Inst*, 1979. **62**(3): p. 441-5.
14. Rager-Zisman, B. and B.R. Bloom, *Natural killer cells in resistance to virus-infected cells*. *Springer Semin Immunopathol*, 1982. **4**(4): p. 397-414.
15. Djeu, J.Y., et al., *Positive self regulation of cytotoxicity in human natural killer cells by production of interferon upon exposure to influenza and herpes viruses*. *J Exp Med*, 1982. **156**(4): p. 1222-34.
16. Yokoyama, W.M., S. Kim, and A.R. French, *The dynamic life of natural killer cells*. *Annu Rev Immunol*, 2004. **22**: p. 405-29.
17. Battaglia, A., et al., *Lymphocyte populations in human lymph nodes. Alterations in CD4+ CD25+ T regulatory cell phenotype and T-cell receptor V β repertoire*. *Immunology*, 2003. **110**(3): p. 304-312.
18. Grégoire, C., et al., *Intrasplenic trafficking of natural killer cells is redirected by chemokines upon inflammation*. *European Journal of Immunology*, 2008. **38**(8): p. 2076-2084.
19. Salazar-Mather, T.P., R. Ishikawa, and C.A. Biron, *NK cell trafficking and cytokine expression in splenic compartments after IFN induction and viral infection*. *J Immunol*, 1996. **157**(7): p. 3054-64.
20. Wald, O., et al., *IFN-gamma acts on T cells to induce NK cell mobilization and accumulation in target organs*. *J Immunol*, 2006. **176**(8): p. 4716-29.
21. Bajénoff, M., et al., *Stromal Cell Networks Regulate Lymphocyte Entry, Migration, and Territoriality in Lymph Nodes*. *Immunity*, 2006. **25**(6): p. 989-1001.
22. Ferlazzo, G., et al., *Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. **101**(47): p. 16606-11.
23. Bajenoff, M., et al., *Natural killer cell behavior in lymph nodes revealed by static and real-time imaging*. *J Exp Med*, 2006. **203**(3): p. 619-31.

24. Gregoire, C., et al., *The trafficking of natural killer cells*. Immunol Rev, 2007. **220**: p. 169-82.
25. Chen, S., et al., *Suppression of tumor formation in lymph nodes by L-selectin-mediated natural killer cell recruitment*. J Exp Med, 2005. **202**(12): p. 1679-89.
26. Walzer, T., et al., *Natural killer cell trafficking in vivo requires a dedicated sphingosine 1-phosphate receptor*. Nat Immunol, 2007. **8**(12): p. 1337-44.
27. Cooper, M.A., T.A. Fehniger, and M.A. Caligiuri, *The biology of human natural killer-cell subsets*. Trends Immunol, 2001. **22**(11): p. 633-40.
28. Hayakawa, Y. and M.J. Smyth, *CD27 dissects mature NK cells into two subsets with distinct responsiveness and migratory capacity*. J Immunol, 2006. **176**(3): p. 1517-24.
29. Inngjerdingen, M., et al., *Natural killer cell subsets in man and rodents*. Tissue Antigens, 2011. **78**(2): p. 81-8.
30. Vivier, E., et al., *Functions of natural killer cells*. Nat Immunol, 2008. **9**(5): p. 503-10.
31. Vosshenrich, C.A., et al., *A thymic pathway of mouse natural killer cell development characterized by expression of GATA-3 and CD127*. Nat Immunol, 2006. **7**(11): p. 1217-24.
32. Long, E.O., *Ready for Prime Time: NK Cell Priming by Dendritic Cells*. Immunity, 2007. **26**(4): p. 385-387.
33. Lucas, M., et al., *Dendritic cells prime natural killer cells by trans-presenting interleukin 15*. Immunity, 2007. **26**(4): p. 503-17.
34. Bodduluru, L.N., et al., *Natural killer cells: the journey from puzzles in biology to treatment of cancer*. Cancer Lett, 2015. **357**(2): p. 454-67.
35. Vivier, E., J.A. Nunes, and F. Vely, *Natural killer cell signaling pathways*. Science, 2004. **306**(5701): p. 1517-9.
36. Yokoyama, W.M. and W.E. Seaman, *The Ly-49 and NKR-P1 gene families encoding lectin-like receptors on natural killer cells: the NK gene complex*. Annu Rev Immunol, 1993. **11**: p. 613-35.
37. Moretta, A., et al., *Receptors for HLA class-I molecules in human natural killer cells*. Annu Rev Immunol, 1996. **14**: p. 619-48.
38. Raulet, D.H., et al., *Specificity, tolerance and developmental regulation of natural killer cells defined by expression of class I-specific Ly49 receptors*. Immunol Rev, 1997. **155**: p. 41-52.
39. Parham, P., *MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival*. Nat Rev Immunol, 2005. **5**(3): p. 201-14.
40. Yokoyama, W.M. and B.F. Plougastel, *Immune functions encoded by the natural killer gene complex*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(4): p. 304-16.
41. Li, M., et al., *T-cell immunoglobulin and ITIM domain (TIGIT) receptor/poliovirus receptor (PVR) ligand engagement suppresses interferon-gamma production of natural killer cells via beta-arrestin 2-mediated negative signaling*. J Biol Chem, 2014. **289**(25): p. 17647-57.
42. Kumar, V. and M.E. McNerney, *A new self: MHC-class-I-independent natural-killer-cell self-tolerance*. Nat Rev Immunol, 2005. **5**(5): p. 363-74.
43. Cheng, M., et al., *NK cell-based immunotherapy for malignant diseases*. Cell Mol Immunol, 2013. **10**(3): p. 230-52.
44. Shifrin, N., D.H. Raulet, and M. Ardolino, *NK cell self tolerance, responsiveness and missing self recognition*. Semin Immunol, 2014. **26**(2): p. 138-44.
45. Moretta, A., et al., *Natural cytotoxicity receptors that trigger human NK-cell-mediated cytotoxicity*. Immunol Today, 2000. **21**(5): p. 228-34.
46. Mandelboim, O., et al., *Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells*. Nature, 2001. **409**(6823): p. 1055-60.
47. Vivier, E., et al., *Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells*. Science, 2011. **331**(6013): p. 44-9.
48. Sivori, S., et al., *CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(27): p. 10116-21.
49. Cerwenka, A. and L.L. Lanier, *Ligands for natural killer cell receptors: redundancy or specificity*. Immunol Rev, 2001. **181**: p. 158-69.
50. Raulet, D.H. and N. Guerra, *Oncogenic stress sensed by the immune system: role of natural killer cell receptors*. Nat Rev Immunol, 2009. **9**(8): p. 568-80.
51. Diefenbach, A., et al., *Ligands for the murine NKG2D receptor: expression by tumor cells and activation of NK cells and macrophages*. Nat Immunol, 2000. **1**(2): p. 119-26.
52. Elliott, J.M. and W.M. Yokoyama, *Unifying concepts of MHC-dependent natural killer cell education*. Trends Immunol, 2011. **32**(8): p. 364-72.

53. MacFarlane, A.W.t. and K.S. Campbell, *Signal transduction in natural killer cells*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2006. **298**: p. 23-57.
54. Trambas, C.M. and G.M. Griffiths, *Delivering the kiss of death*. *Nat Immunol*, 2003. **4**(5): p. 399-403.
55. Topham, N.J. and E.W. Hewitt, *Natural killer cell cytotoxicity: how do they pull the trigger?* *Immunology*, 2009. **128**(1): p. 7-15.
56. Pardo, J., et al., *The biology of cytotoxic cell granule exocytosis pathway: granzymes have evolved to induce cell death and inflammation*. *Microbes Infect*, 2009. **11**(4): p. 452-9.
57. Ames, E. and W.J. Murphy, *Advantages and clinical applications of natural killer cells in cancer immunotherapy*. *Cancer Immunol Immunother*, 2014. **63**(1): p. 21-8.
58. Campbell, K.S. and J. Hasegawa, *Natural killer cell biology: An update and future directions*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013. **132**(3): p. 536-544.
59. Wang, W., et al., *NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy*. *Front Immunol*, 2015. **6**: p. 368.
60. Langers, I., et al., *Natural killer cells: role in local tumor growth and metastasis*. *Biologics*, 2012. **6**: p. 73-82.
61. Angiolillo, A.L., et al., *Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo*. *J Exp Med*, 1995. **182**(1): p. 155-62.
62. Purdy, A.K. and K.S. Campbell, *Natural killer cells and cancer: regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR)*. *Cancer Biol Ther*, 2009. **8**(23): p. 2211-20.
63. Piccioli, D., et al., *Contact-dependent stimulation and inhibition of dendritic cells by natural killer cells*. *J Exp Med*, 2002. **195**(3): p. 335-41.
64. Van Elssen, C.H., et al., *Natural killer cells: the secret weapon in dendritic cell vaccination strategies*. *Clin Cancer Res*, 2014. **20**(5): p. 1095-103.
65. O'Callaghan, C.A., *Natural killer cell surveillance of intracellular antigen processing pathways mediated by recognition of HLA-E and Qa-1b by CD94/NKG2 receptors*. *Microbes Infect*, 2000. **2**(4): p. 371-80.
66. Langenkamp, A., et al., *Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of TH1, TH2 and nonpolarized T cells*. *Nat Immunol*, 2000. **1**(4): p. 311-6.
67. Morandi, B., et al., *Dendritic cell editing by activated natural killer cells results in a more protective cancer-specific immune response*. *PLoS One*, 2012. **7**(6): p. e39170.
68. Mailliard, R.B., et al., *IL-18-induced CD83+CCR7+ NK helper cells*. *J Exp Med*, 2005. **202**(7): p. 941-53.
69. Rydyznski, C.E. and S.N. Waggoner, *Boosting vaccine efficacy the natural (killer) way*. *Trends Immunol*, 2015. **36**(9): p. 536-46.
70. Gerosa, F., et al., *Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells*. *J Exp Med*, 2002. **195**(3): p. 327-33.
71. Ferlazzo, G. and B. Morandi, *Cross-Talks between Natural Killer Cells and Distinct Subsets of Dendritic Cells*. *Front Immunol*, 2014. **5**: p. 159.
72. Andoniou, C.E., et al., *Interaction between conventional dendritic cells and natural killer cells is integral to the activation of effective antiviral immunity*. *Nat Immunol*, 2005. **6**(10): p. 1011-9.
73. Cooper, M.A., et al., *NK cell and DC interactions*. *Trends Immunol*, 2004. **25**(1): p. 47-52.
74. Walzer, T., et al., *Natural-killer cells and dendritic cells: "l'union fait la force"*. *Blood*, 2005. **106**(7): p. 2252-8.
75. Della Chiesa, M., et al., *Multidirectional interactions are bridging human NK cells with plasmacytoid and monocyte-derived dendritic cells during innate immune responses*. *Blood*, 2006. **108**(12): p. 3851-8.
76. Biron, C.A., et al., *Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines*. *Annu Rev Immunol*, 1999. **17**: p. 189-220.
77. Perona-Wright, G., et al., *Systemic but not local infections elicit immunosuppressive IL-10 production by natural killer cells*. *Cell Host Microbe*, 2009. **6**(6): p. 503-12.
78. Martin-Fontecha, A., et al., *Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN-gamma for T(H)1 priming*. *Nat Immunol*, 2004. **5**(12): p. 1260-5.
79. Morandi, B., et al., *NK cells of human secondary lymphoid tissues enhance T cell polarization via IFN-gamma secretion*. *Eur J Immunol*, 2006. **36**(9): p. 2394-400.
80. Mocikat, R., et al., *Natural killer cells activated by MHC class I(low) targets prime dendritic cells to induce protective CD8 T cell responses*. *Immunity*, 2003. **19**(4): p. 561-9.
81. Adam, C., et al., *DC-NK cell cross talk as a novel CD4+ T-cell-independent pathway for antitumor CTL induction*. *Blood*, 2005. **106**(1): p. 338-44.

82. Dhiman, R., et al., *NK1.1+ cells and IL-22 regulate vaccine-induced protective immunity against challenge with Mycobacterium tuberculosis*. J Immunol, 2012. **189**(2): p. 897-905.
83. Rabinovich, B.A., et al., *Activated, but not resting, T cells can be recognized and killed by syngeneic NK cells*. J Immunol, 2003. **170**(7): p. 3572-6.
84. Cerboni, C., et al., *Antigen-activated human T lymphocytes express cell-surface NKG2D ligands via an ATM/ATR-dependent mechanism and become susceptible to autologous NK-cell lysis*. Blood, 2007. **110**(2): p. 606-15.
85. Lang, P.A., et al., *Natural killer cell activation enhances immune pathology and promotes chronic infection by limiting CD8+ T-cell immunity*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(4): p. 1210-5.
86. Soderquest, K., et al., *Cutting edge: CD8+ T cell priming in the absence of NK cells leads to enhanced memory responses*. J Immunol, 2011. **186**(6): p. 3304-8.
87. Nielsen, N., et al., *Cytotoxicity of CD56(bright) NK cells towards autologous activated CD4+ T cells is mediated through NKG2D, LFA-1 and TRAIL and dampened via CD94/NKG2A*. PLoS One, 2012. **7**(2): p. e31959.
88. Brooks, D.G., et al., *Interleukin-10 determines viral clearance or persistence in vivo*. Nat Med, 2006. **12**(11): p. 1301-9.
89. Lee, S.H., et al., *Activating receptors promote NK cell expansion for maintenance, IL-10 production, and CD8 T cell regulation during viral infection*. J Exp Med, 2009. **206**(10): p. 2235-51.
90. Waggoner, S.N., et al., *Natural killer cells act as rheostats modulating antiviral T cells*. Nature, 2012. **481**(7381): p. 394-8.
91. Shi, F.D. and L. Van Kaer, *Reciprocal regulation between natural killer cells and autoreactive T cells*. Nat Rev Immunol, 2006. **6**(10): p. 751-60.
92. Jabrane-Ferrat, N. and J. Siewiera, *The up side of decidual natural killer cells: new developments in immunology of pregnancy*. Immunology, 2014. **141**(4): p. 490-7.
93. Vacca, P., et al., *Crosstalk between decidual NK and CD14+ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(26): p. 11918-23.
94. Wherry, E.J., et al., *Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection*. Immunity, 2007. **27**(4): p. 670-84.
95. Lu, L., et al., *Regulation of activated CD4+ T cells by NK cells via the Qa-1-NKG2A inhibitory pathway*. Immunity, 2007. **26**(5): p. 593-604.
96. Waggoner, S.N., et al., *Absence of mouse 2B4 promotes NK cell-mediated killing of activated CD8+ T cells, leading to prolonged viral persistence and altered pathogenesis*. J Clin Invest, 2010. **120**(6): p. 1925-38.
97. Hansson, M., et al., *Effect of interferon and interferon inducers on the NK sensitivity of normal mouse thymocytes*. J Immunol, 1980. **125**(5): p. 2225-31.
98. Crouse, J., et al., *Type I interferons protect T cells against NK cell attack mediated by the activating receptor NCR1*. Immunity, 2014. **40**(6): p. 961-73.
99. Nakayama, M., et al., *Natural killer (NK)-dendritic cell interactions generate MHC class II-dressed NK cells that regulate CD4+ T cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108**(45): p. 18360-5.
100. Gao, N., T. Dang, and D. Yuan, *IFN-gamma-dependent and -independent initiation of switch recombination by NK cells*. J Immunol, 2001. **167**(4): p. 2011-8.
101. Gao, N., P. Jennings, and D. Yuan, *Requirements for the natural killer cell-mediated induction of IgG1 and IgG2a expression in B lymphocytes*. Int Immunol, 2008. **20**(5): p. 645-57.
102. Becker, J.C., et al., *Human natural killer clones enhance in vitro antibody production by tumour necrosis factor alpha and gamma interferon*. Scand J Immunol, 1990. **32**(2): p. 153-62.
103. Blanca, I.R., et al., *Human B cell activation by autologous NK cells is regulated by CD40-CD40 ligand interaction: role of memory B cells and CD5+ B cells*. J Immunol, 2001. **167**(11): p. 6132-9.
104. Gao, N., et al., *Regulatory role of natural killer (NK) cells on antibody responses to Brucella abortus*. Innate Immun, 2011. **17**(2): p. 152-63.
105. Krebs, P., et al., *NK-cell-mediated killing of target cells triggers robust antigen-specific T-cell-mediated and humoral responses*. Blood, 2009. **113**(26): p. 6593-602.
106. Satoskar, A.R., et al., *NK cell-deficient mice develop a Th1-like response but fail to mount an efficient antigen-specific IgG2a antibody response*. J Immunol, 1999. **163**(10): p. 5298-302.
107. Arai, S., et al., *Suppressive effect of human natural killer cells on pokeweed mitogen-induced B cell differentiation*. J Immunol, 1983. **131**(2): p. 651-7.

108. Kuwano, K., et al., *Suppressive effect of human natural killer cells on Epstein-Barr virus-induced immunoglobulin synthesis*. J Immunol, 1986. **137**(5): p. 1462-8.
109. Rydzynski, C., et al., *Generation of cellular immune memory and B-cell immunity is impaired by natural killer cells*. Nat Commun, 2015. **6**: p. 6375.
110. Michel, T., F. Hentges, and J. Zimmer, *Consequences of the crosstalk between monocytes/macrophages and natural killer cells*. Front Immunol, 2012. **3**: p. 403.
111. Zhou, Z., et al., *Macrophages help NK cells to attack tumor cells by stimulatory NKG2D ligand but protect themselves from NK killing by inhibitory ligand Qa-1*. PLoS One, 2012. **7**(5): p. e36928.
112. Yoneda, O., et al., *Fractalkine-mediated endothelial cell injury by NK cells*. J Immunol, 2000. **164**(8): p. 4055-62.
113. Croy, B.A., et al., *Uterine natural killer cells: a specialized differentiation regulated by ovarian hormones*. Immunol Rev, 2006. **214**: p. 161-85.
114. Paust, S. and U.H. von Andrian, *Natural killer cell memory*. Nat Immunol, 2011. **12**(6): p. 500-8.
115. Sun, J.C. and L.L. Lanier, *NK cell development, homeostasis and function: parallels with CD8(+) T cells*. Nat Rev Immunol, 2011. **11**(10): p. 645-57.
116. Sun, J.C., J.N. Beilke, and L.L. Lanier, *Adaptive immune features of natural killer cells*. Nature, 2009. **457**(7229): p. 557-61.
117. Muntasell, A., et al., *Adaptive reconfiguration of the human NK-cell compartment in response to cytomegalovirus: a different perspective of the host-pathogen interaction*. Eur J Immunol, 2013. **43**(5): p. 1133-41.
118. Paust, S., et al., *Critical role for the chemokine receptor CXCR6 in NK cell-mediated antigen-specific memory of haptens and viruses*. Nat Immunol, 2010. **11**(12): p. 1127-35.
119. Osorio, J., *Innate immunity: Memory NK cells identified in primates*. Nat Rev Immunol, 2015. **15**(9): p. 526-527.
120. Hlavova, K., H. Stepanova, and M. Faldyna, *The phenotype and activation status of T and NK cells in porcine colostrum suggest these are central/effector memory cells*. Vet J, 2014. **202**(3): p. 477-82.
121. Min-Oo, G., et al., *Natural killer cells: walking three paths down memory lane*. Trends Immunol, 2013. **34**(6): p. 251-8.
122. O'Sullivan, T.E., J.C. Sun, and L.L. Lanier, *Natural Killer Cell Memory*. Immunity, 2015. **43**(4): p. 634-45.
123. Cooper, M.A., et al., *Cytokine-induced memory-like natural killer cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(6): p. 1915-9.
124. O'Leary, J.G., et al., *T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells*. Nat Immunol, 2006. **7**(5): p. 507-16.
125. den Haan, J.M., R. Arens, and M.C. van Zelm, *The activation of the adaptive immune system: cross-talk between antigen-presenting cells, T cells and B cells*. Immunol Lett, 2014. **162**(2 Pt B): p. 103-12.
126. Pardoll, D.M., *Spinning molecular immunology into successful immunotherapy*. Nat Rev Immunol, 2002. **2**(4): p. 227-38.
127. Welten, S.P.M., C.J.M. Melief, and R. Arens, *The distinct role of T cell costimulation in antiviral immunity*. Current Opinion in Virology, 2013. **3**(4): p. 475-482.
128. Regnault, A., et al., *Fcγ receptor-mediated induction of dendritic cell maturation and major histocompatibility complex class I-restricted antigen presentation after immune complex internalization*. J Exp Med, 1999. **189**(2): p. 371-80.
129. Croft, M., *Co-stimulatory members of the TNFR family: keys to effective T-cell immunity?* Nat Rev Immunol, 2003. **3**(8): p. 609-20.
130. Kapsenberg, M.L., *Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization*. Nat Rev Immunol, 2003. **3**(12): p. 984-93.
131. Romagnani, S., *T-cell subsets (Th1 versus Th2)*. Ann Allergy Asthma Immunol, 2000. **85**(1): p. 9-18; quiz 18, 21.
132. Mach, B., et al., *Regulation of MHC class II genes: lessons from a disease*. Annu Rev Immunol, 1996. **14**: p. 301-31.
133. Ng, A.K., et al., *Natural cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity of human lymphocytes depleted of HLA-DR bearing cells with monoclonal HLA-DR antibodies*. J Immunol, 1980. **124**(5): p. 2336-40.
134. Assarsson, E., et al., *2B4 co-stimulation: NK cells and their control of adaptive immune responses*. Mol Immunol, 2005. **42**(4): p. 419-23.

135. Phillips, J.H., A.M. Le, and L.L. Lanier, *Natural killer cells activated in a human mixed lymphocyte response culture identified by expression of Leu-11 and class II histocompatibility antigens*. J Exp Med, 1984. **159**(4): p. 993-1008.
136. Roncarolo, M.G., et al., *Natural killer cell clones can efficiently process and present protein antigens*. J Immunol, 1991. **147**(3): p. 781-7.
137. D'Orazio, J.A. and J. Stein-Streilein, *Human natural killer (NK) cells present staphylococcal enterotoxin B (SEB) to T lymphocytes*. Clin Exp Immunol, 1996. **104**(2): p. 366-73.
138. Krakauer, T. and B.G. Stiles, *The staphylococcal enterotoxin (SE) family: SEB and siblings*. Virulence, 2013. **4**(8): p. 759-73.
139. Ishii, N., et al., *OX40-OX40 ligand interaction in T-cell-mediated immunity and immunopathology*. Adv Immunol, 2010. **105**: p. 63-98.
140. Zingoni, A., et al., *Cross-talk between activated human NK cells and CD4+ T cells via OX40-OX40 ligand interactions*. J Immunol, 2004. **173**(6): p. 3716-24.
141. Hanna, J., et al., *Novel APC-like properties of human NK cells directly regulate T cell activation*. J Clin Invest, 2004. **114**(11): p. 1612-23.
142. Spits, H. and L.L. Lanier, *Natural killer or dendritic: what's in a name?* Immunity, 2007. **26**(1): p. 11-6.
143. Vosshenrich, C.A., et al., *CD11cIcB220+ interferon-producing killer dendritic cells are activated natural killer cells*. J Exp Med, 2007. **204**(11): p. 2569-78.
144. Caminschi, I., et al., *Putative IKDCs are functionally and developmentally similar to natural killer cells, but not to dendritic cells*. J Exp Med, 2007. **204**(11): p. 2579-90.
145. Davis, D.M., *Intercellular transfer of cell-surface proteins is common and can affect many stages of an immune response*. Nat Rev Immunol, 2007. **7**(3): p. 238-43.
146. Joly, E. and D. Hudrisier, *What is trogocytosis and what is its purpose?* Nat Immunol, 2003. **4**(9): p. 815.
147. Rechavi, O., I. Goldstein, and Y. Kloog, *Intercellular exchange of proteins: the immune cell habit of sharing*. FEBS Lett, 2009. **583**(11): p. 1792-9.
148. Pintaric, M., W. Gerner, and A. Saalmuller, *Synergistic effects of IL-2, IL-12 and IL-18 on cytolytic activity, perforin expression and IFN-gamma production of porcine natural killer cells*. Vet Immunol Immunopathol, 2008. **121**(1-2): p. 68-82.
149. Franzoni, G., et al., *Partial Activation of natural killer and gammadelta T cells by classical swine fever viruses is associated with type I interferon elicited from plasmacytoid dendritic cells*. Clin Vaccine Immunol, 2014. **21**(10): p. 1410-20.
150. Gerner, W., T. Kaser, and A. Saalmuller, *Porcine T lymphocytes and NK cells--an update*. Dev Comp Immunol, 2009. **33**(3): p. 310-20.
151. Saalmüller, A. and S. Maurer, *Major Histocompatibility Antigen Class II Expressing Resting Porcine T Lymphocytes are Potent Antigen-Presenting Cells in Mixed Leukocyte Culture*. Immunobiology, 1994. **190**(1): p. 23-34.
152. Takamatsu, H.H., M.S. Denyer, and T.E. Wileman, *A sub-population of circulating porcine $\gamma\delta$ T cells can act as professional antigen presenting cells*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2002. **87**(3-4): p. 223-224.
153. Lunn, D.P., M.A. Holmes, and W.P. Duffus, *Equine T-lymphocyte MHC II expression: variation with age and subset*. Vet Immunol Immunopathol, 1993. **35**(3-4): p. 225-38.
154. Michael, H.T., et al., *Isolation and characterization of canine natural killer cells*. Vet Immunol Immunopathol, 2013. **155**(3): p. 211-7.
155. Gardiner, C.M. and K.H. Mills, *The cells that mediate innate immune memory and their functional significance in inflammatory and infectious diseases*. Semin Immunol, 2016.

BIJLAGEN

Bijlage I:

Receptoren van NK cellen bij de mens en bij de muis, met hun liganden [58]

| Receptor | Species | | Reported ligand(s) |
|--|---------|-------|---|
| | Human | Mouse | |
| Inhibitory receptors | | | |
| KIR2DL1 (CD158a) | X | | Group 2 HLA-C |
| KIR2DL2, KIR2DL3 (CD158b1, -b2) | X | | Group 1 HLA-C, some group 2 HLA-C and some HLA-B |
| KIR3DL1 (CD158e1) | X | | HLA-Bw4 |
| Ly49A (Klra1) | | X | H2-D ^d , H2-D ^b , H2-L ^d , H2-D ^b , H2-K ^b , H2-D ^p , H2-M3 |
| Ly49C (Klra3) | | X | H2-D ^b , H2-K ^b , H2-D ^d , H2-K ^d , H2-D ^k |
| Ly49E (Klra5) | | X | Urokinase plasminogen |
| Ly49G (Klra7) | | X | H2-D ^d , H2-K ^d , H2-L ^d , H2-D ^b , H2-D ^k , H2-D ^f |
| Ly49I (Klra9) | | X | H2-K ^b , H2-K ^d , H2-D ^k , H2-K ^k , m157 (MCMV) |
| NKG2A (CD159A)/CD94 | X | X | HLA-E (human), Qa-1 ^b (mouse) |
| LILRB1 (ILT2, LIR1, CD85j) | X | | HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-G, HLA-F, UL18 protein (human cytomegalovirus) |
| KLRG1 | X | X | E-, N-, and R-cadherin |
| NKR-P1A (CD161) | X | | LLT1 |
| NKR-P1B, NKR-P1D | | X | Ocil/Clr-b |
| Activating receptors | | | |
| NKp46 (NCR1; CD335) | X | X | Human: HSPG, heparin, VM, HA (IV, VV, ECTV), HN (SeV, NDV), PfEMP-1 (<i>Plasmodium falciparum</i>), <i>Fusobacterium nucleatum</i> Mouse: influenza-infected cells, <i>F nucleatum</i> |
| NKp30 (NCR3; CD337) | X | | B7-H6, BAT3, HSPG, HA (VV, ECTV), pp65 (HCMV), PfEMP-1 (<i>P falciparum</i>) |
| FcγRIIIA (CD16) | X | X | Fc of IgG immune complexes |
| NKG2D (CD314) | X | X | Human: MICA/B, ULBP1, ULBP2, ULBP3, ULBP4, ULBP5, ULBP6 Mouse: RAE-1a, RAE-1b, RAE-1d, RAE-1e, RAE-1g, H60a, H60b, H60c, MUTL1 |
| KIR2DS1 (CD158h) | X | | HLA-C2 |
| KIR2DS4 (CD158i) | X | | Some HLA-C1 and HLA-C2, HLA-A11 |
| KIR2DL4 (CD158d) | X | | HLA-G |
| NKp65 (KLRF2) | X | | KACL (keratinocyte-associated C-type lectin) |
| NKp80 (KLRF1) | X | | AICL (activation-induced C-type lectin) |
| DNAM-1 (CD226) | X | X | Nectin-2, PVR |
| NKG2C (CD159C)/CD94, NKG2E/CD94 | X | X | HLA-E (human), Qa-1 ^b (mouse) |
| Ly49D (Klra4) | | X | H2-D ^d , H2-D ^f , D ^{sp2} |
| Ly49H (Klra8) | | X | m157 (MCMV) |
| Ly49P (Klra16) | | X | H2-D ^d , H2-D ^k , m04 (MCMV) |
| NKR-P1F | | X | Clr-c, Clr-d/x, Clr-g |
| NKR-P1G | | X | Clr-dx, Clr-g, Clr-f |
| Activating/inhibitory receptors | | | |
| 2B4 (CD244) | X | X | CD48 |
| NKp44 (NCR2; CD336) | X | | PCNA, HSPG, heparin, E-protein (DV, WNV), HA (IV, SeV), HN (NDV), <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia farcinica</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

ECTV, Ectromelia virus; HA, hemagglutinin; HN, hemagglutinin-neuraminidase; HSPG, heparan sulfate proteoglycan; IV, influenza virus; NDV, Newcastle disease virus; SeV, Sendai virus; VM, vimentin; VV, vaccinia virus.