

УДК 612.017.1 + 616.15-097

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК И ИХ HLA-ЛИГАНДОВ В РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Соколова Ю.В., Бубнова Л.Н., Павлова И.Е., Бессмельцев С.С.

*Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии,
Санкт-Петербург, e-mail: July_sokolova@mail.ru*

Проведен сопоставительный анализ частот встречаемости KIR-генов, групп HLA-лигандов и KIR/HLA комбинаций в русской популяции Северо-Западного региона Российской Федерации и в других кавказоидных популяциях. Нами было обнаружено преобладание C1/C2 (59%) гетерозиготности над C1 (34%) и C2 (7%) гомозиготностью. Имея сходные черты с другими кавказоидными популяциями в распределении KIR-генов, русская популяция существенно отличается от большинства из них по распределению групп HLA-лигандов для этих рецепторов, что приводит к различиям в частоте встречаемости отдельных пар KIR/HLA, в частности, более высокой частоте встречаемости функционально активных пар KIR2DL2/3 + HLA-C1 по сравнению с другими кавказоидными популяциями.

Ключевые слова: иммуноглобулинподобные рецепторы киллерных клеток, лиганд, KIR/HLA комбинация, частота встречаемости, русская популяция

DISTRIBUTION OF KILLER CELL IMMUNOGLOBULIN-LIKE RECEPTORS AND THEIR HLA LIGAND IN THE RUSSIAN POPULATION

Sokolova Y.V., Bubnova L.N., Pavlova I.E., Bessmeltsev S.S.

*Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology,
St.-Petersburg, e-mail: July_sokolova@mail.ru*

The aim of this study was to compare the frequencies of KIR, their known HLA ligands and KIR/HLA combinations in the Russian population of the Northwest region of the Russian Federation and other European populations. HLA-C typing demonstrated prevalence of the C1/C2 heterozygosity (59%) over the C1 homozygosity (34%) and C2 homozygosity (7%). The frequency of KIR genes in our population shares several general features with other Caucasoid populations, but there are some differences in the distribution of the their HLA-ligand, that result in KIR/HLA combinations diversity. Particularly, the frequency of the functional KIR2DL2/3 + HLA-C1 pairs were significantly higher as compared to other Caucasoid populations.

Keywords: killer cell immunoglobulin-like receptor, ligand, KIR/HLA combination, frequency, Russian population

Иммуноглобулинподобные рецепторы киллерных клеток (KIR) взаимодействуя со своими лигандами – антигенами главного комплекса гистосовместимости (HLA) I класса, играют ключевую роль в регуляции функциональной активности натуральных киллерных клеток (NK), которые, являясь важнейшим компонентом врожденного иммунитета, обеспечивают быструю элиминацию трансформированных и инфицированных клеток, сохраняя при этом толерантность к неповрежденным клеткам организма [10]. Связывание HLA-лигандов с ингибирующими KIR-рецепторами (iKIR) приводит к подавлению функциональной активности NK-клеток, а с активирующими (aKIR) – к ее усилению.

Так же, как и система HLA, система KIR-генов обладает чрезвычайно высоким уровнем полиморфизма [4]. Полиморфизм KIR-генов и сочетания KIR-HLA являются важным иммуногенетическим фактором, играющим существенную роль в предрасположенности и/или резистентности к инфекционным, аутоиммунным и онкологическим заболеваниям. Поскольку KIR-локус расположен на хромосоме 19, а HLA-локус –

на хромосоме 6, наследование генов, кодирующих рецепторы и их лиганды, происходит независимо друг от друга, что приводит к большому разнообразию комбинаций KIR/HLA у отдельных лиц. В то же время ряд исследований подтверждает наличие корреляции между частотой встречаемости KIR-генов и соответствующих HLA-лигандов, что свидетельствует о возможной коэволюции этих не связанных между собой локусов [7, 2]. Существуют достаточно выраженные межпопуляционные различия в частоте встречаемости как KIR-генов и их HLA-лигандов, так и функционально значимых комбинаций KIR/HLA, сформировавшиеся, по всей видимости, под действием разнообразных факторов отбора в определенных климатогеографических условиях.

Целью настоящего исследования явилось изучение распределения KIR-генов, HLA-лигандов и KIR/HLA комбинаций в русской популяции Северо-Западного региона Российской Федерации.

Материалы и методы исследования

Для изучения распределения KIR-генов и HLA-лигандов в русской популяции было проведено обследование 100 потенциальных доноров Респу-

бликанского Регистра доноров костного мозга/гемопотических стволовых клеток (Санкт-Петербург) в возрасте от 20 до 60 лет.

Геномную ДНК для проведения молекулярного типирования выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью коммерческого набора реагентов фирмы «Protrans» (Германия). Концентрация выделенной ДНК составляла 50–100 нг/мкл.

Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами (PCR-SSP). Для определения количества и состава KIR-генов использовали наборы «KIR Genotyping SSP Kit» (Invitrogen). Группы HLA-лигандов: HLA-C1, -C2 и -Bw4+ определяли при помощи наборов «KIR HLA ligand kit» (Olerup-SSP). Для определения HLA-A3/A11 и специфичностей HLA-B и -C дополнительно проводили молекулярное типирование с использованием наборов «PROTRANS HLA-A*/B*/Cw*» (Protrans).

Визуализацию продуктов, полученных в результате полимеразной цепной реакции, проводили посредством электрофореза в горизонтальном 2%-м агарозном геле. Интерпретацию полученных результатов осуществляли с помощью таблиц, прилагаемых к набору праймеров.

Частоту встречаемости KIR-генов, HLA-лигандов и комбинаций KIR/HLA (2DL1 + C2, 2DS1 + C2, 2DL2/3 + C1, 2DS2 + C1, 3DL1 + Bw4, 3DS1 + Bw4, 3DL2 + A*03/*11) определяли методом прямого подсчета. Статистическую значимость различий в частоте встречаемости оценивали с использованием критерия χ^2 с поправкой по Бонферрони.

Результаты исследования и их обсуждение

Все обследованные нами доноры имели по меньшей мере одну пару iKIR/HLA, что свидетельствует об исключительной значимости рестриктированного по антигенам HLA I класса ингибиторного сигнала

для регуляции функциональной активности NK-клеток. В то же время 36% лиц в русской популяции не имели пар aKIR/HLA, а у 23% вообще отсутствовали экспрессируемые активирующие KIR-рецепторы.

Двухдоменные молекулы KIR связываются с антигенами HLA I класса локуса C. Лигандами для KIR2DL1-рецепторов являются аллотипы HLA-C, несущие в позиции 80 остаток лизина (HLA-C2). KIR2DL2 и KIR2DL3, которые сегрегируют как аллельные варианты одного гена, кодируют молекулы, взаимодействующие с аллотипами HLA-C, имеющими остаток аспарагина в позиции 80 (HLA-C1) [5]. Активирующие двухдоменные KIR-рецепторы имеют последовательность внеклеточных доменов, сходную с их ингибирующими аналогами, и могут связываться с теми же самыми лигандами, что было подтверждено многочисленными исследованиями. KIR2DS1 связывается с HLA-C2, а KIR2DS2 – с HLA-C1 антигенами [9]. Частота встречаемости функционально значимых пар 2DKIR/HLA в русской популяции Северо-Западного региона Российской Федерации представлена в табл. 1.

В соответствии с результатами генотипирования групп HLA-лигандов для двухдоменных KIR-рецепторов все обследованные доноры были разделены на три группы: C1/C2 гетерозиготы – 59%, C1 гомозиготы – 34% и C2 гомозиготы – 7%. Обращает на себя внимание более высокая частота гетерозиготных лиц, по сравнению с другими европейскими популяциями, и более низкая – гомозиготных, особенно по аллелям HLA группы C2 [6].

Таблица 1

Частота встречаемости активирующих и ингибирующих двухдоменных KIR-рецепторов, их HLA-лигандов и KIR/HLA комбинаций

KIR-гены	2DL1	2DS1	2DL2/3	2DL2	2DL3	2DS2
F(%)	96,0	40,0	100,0	47,0	85,0	47,0
HLA-лиганды	HLA-C2			HLA-C1		
F(%)	66,0			93,0		
KIR + HLA	2DL1 + HLA-C2	2DS1 + HLA-C2	2DL2/3 + HLA-C1	2DL2 + HLA-C1	2DL3 + HLA-C1	2DS2 + HLA-C1
F(%)	63,0	30,0	93,0	44,0	78,0	43,0

В русской популяции наиболее часто встречающейся комбинацией iKIR/HLA было сочетание KIR2DL2/3 + HLA-C1 (93%), что несколько выше частоты данной пары в других кавказоидных популяциях (около 80%). KIR2DL2 и KIR2DL3 представляют собой группы аллельных вариантов гена KIR2DL2/3, из которых для KIR2DL2-рецепторов характерна более высокая сила связывания со своими лигандами. Частота встречаемости пары KIR2DL2 + HLA-C1 в русской популяции со-

ставляла 44%, а пары KIR2DL3 + HLA-C1 – 78%. Причем у 15% лиц присутствовала только комбинация KIR2DL2 + HLA-C1, у 49% – KIR2DL3 + HLA-C1, а 29% имели обе пары лиганд-рецептор.

Из 96 практически здоровых лиц обследованной группы, имеющих в своем генотипе ингибирующий ген KIR2DL1, 33 человека не имели лиганда для этого рецептора. В то же время из 66 лиц, имеющих аллели HLA I класса локуса C, входящих в группу HLA-C2, у 3 человек не было соответствую-

ющего рецептора. Таким образом, частота встречаемости функционально активного рецептора KIR2DL1 в русской популяции составила 63%, что соответствует другим кавказоидным популяциям (около 60%) [1, 6].

Частота встречаемости функционально значимых пар активирующих двухдоменных KIR-рецепторов со своими HLA-лигандами была существенно ниже, чем для ингибирующих и составила 30% для KIR2DS1 + HLA-C2 и 43% для KIR2DS2 + HLA-C1.

Трехдоменный ингибирующий рецептор KIR3DL1 взаимодействует с аллелями HLA-B, которые содержат эпитоп Bw4. Эти аллели подразделяются на две группы: HLA-Bw4T80, несущие в позиции 80

остаток треонина, и HLA-Bw4I80, имеющие в данной позиции остаток изолейцина. Причем антигены HLA-Bw4I80 имеют более высокую силу связывания с рецептором, чем HLA-Bw4T80 [5]. Активирующий рецептор KIR3DS1 имеет выраженное сходство с KIR3DL1 в строении экстрацеллюлярных доменов и, по всей видимости, взаимодействует с HLA-Bw4I80 [3]. Лигандами для структурного ингибирующего рецептора KIR3DL2 являются антигены HLA-A3 и HLA-A11.

Частота встречаемости функционально значимых пар 3DKIR/HLA в обследованной нами русской популяции Северо-Западного региона Российской Федерации представлена в табл. 2.

Таблица 2

Частота встречаемости активирующих и ингибирующих трехдоменных KIR-рецепторов, их HLA-лигандов и KIR/HLA комбинаций в русской популяции

KIR-гены		3DL1			3DS1			3DL2	
F(%)		96			35			100,0	
HLA-лиганды	HLA-Bw4	HLA-Bw4 T80	HLA-Bw4 I80	HLA-Bw4	HLA-Bw4 T80	HLA-Bw4 I80	HLA-A*03/11	HLA-A*03	HLA-A*11
F(%)	61,0	35,0	31,0	61,0	35,0	31,0	35,0	24,0	12,0
KIR + HLA	3DL1 + HLA-Bw4	3DL1 + HLA-Bw4 T80	3DL1 + HLA-Bw4 I80	3DS1 + HLA-Bw4	3DS1 + HLA-Bw4 T80	3DS1 + HLA-Bw4 I80	3DL2 + HLA-A*03/11	3DL2 + HLA-A*03	3DL2 + HLA-A*11
F(%)	60,0	35,0	30,0	22,0	17,0	8,0	35,0	24,0	12,0

Трехдоменный ингибирующий рецептор KIR3DL1 был обнаружен у 96% обследованных, но при этом его лиганды присутствовали только у 61% лиц в популяции, и общая частота встречаемости функционально активного рецептора составила всего 60%. Среди них KIR/HLA комбинации, содержащие аллели двух подгрупп данной группы лигандов: HLA-Bw4I80 и HLA-Bw4T80, которые отличаются по силе взаимодействия с рецептором, распределялись приблизительно поровну – 30 и 35% соответственно. При этом две функционально активные пары: KIR3DL1 + HLA-Bw4I80 и KIR3DL1 + HLA-Bw4T80 имелись только у 5% лиц в популяции. У 36% лиц с наличием данного рецептора не было соответствующего лиганда и у одного индивидуума отсутствовал рецептор при наличии лиганда.

Частота встречаемости активирующего трехдоменного рецептора KIR3DS1 в русской популяции составила 35%, его предполагаемого лиганда HLA-Bw4I80 – 31%. Из числа обследованных лиц 42% не име-

ли ни данного рецептора, ни его лиганда, а 8% лиц имели и лиганд, и рецептор. Таким образом, только 8% лиц в русской популяции имели функционально активный KIR3DS1-рецептор.

Несмотря на то, что ингибирующий ген KIR3DL2 является структурным и присутствует во всех гаплотипах, HLA-лиганды для этого рецептора были определены у 35% обследуемых. Из них 18% имели один HLA-A*03, 10% – один HLA-A*11 и 7% имели два лиганда. Следовательно, только у трети популяции KIR3DL2 рецептор является функционально активным.

Нами был проведен сравнительный анализ распределения частоты встречаемости KIR-генов, HLA-лигандов и KIR/HLA комбинаций в русской популяции Северо-Западного региона Российской Федерации с аналогичными показателями других кавказоидных популяций (табл. 3, 4). В качестве групп сравнения были использованы данные совместных многоцентровых исследований [1, 2, 7].

Таблица 3

Распределение KIR-генов в различных популяциях кавказоидов [1, 2, 7]

Популяции	KIR-гены						
	2DL1	2DS1	2DL2	2DL3	2DS2	3DL1	3DS1
Россия ($n = 100$)	96,0	40,0	47,0	85,0	47,0	96,0	35,0
Чехия ($n = 125$)	95,0	44,6	58,7	85,1	57,0	93,4	38,8
Португалия ($n = 38$)	100,0	31,6	57,9	94,7	57,9	89,5	31,6
Италия ($n = 50$)	100,0	42,0	50,0	94,0	50,0	94,0	46,0
Норвегия ($n = 363$)	97,5	40,5	41,6	92,8	42,4	95,9	41,6
США (кавказоиды) ($n = 255$)	95,3	41,2	53,3	87,1	53,7	94,9	38,8
Испания ($n = 100$)	94,0	39,0	57,0	85,0	58,0	91,0	39,0
Северная Ирландия ($n = 223$)	97,3	39,5	51,1	90,1	52,0	97,8	39,5
Англия ($n = 99$)	99,0	40,4	47,5	88,9	53,5	96,0	36,4
Дания ($n = 50$)	98,0	36,7	52,0	96,0	52,0	98,0	38,0
Финляндия ($n = 35$)	100,0	54,5	39,4	97,0	39,4	90,9	53,1*

Примечание: * – различия в сравнении с русской популяцией статистически значимы ($p < 0,05$).

Таблица 4

Распределение HLA-лигандов в различных популяциях кавказоидов [1, 2, 7]

Популяции	HLA-лиганды		
	HLA-C1	HLA-C2	HLA-Bw4
Россия ($n = 100$)	93,0	66,0	61,0
Чехия ($n = 125$)	63,2**	36,8**	66,9
Португалия ($n = 38$)	48,7**	51,3	68,4
Италия ($n = 50$)	50,0**	50,0	72,0
Норвегия ($n = 363$)	65,8**	34,2**	54,4
США (кавказоиды) ($n = 255$)	59,8**	40,2**	57,6
Испания ($n = 100$)	60,0**	40,0*	58,0
Северная Ирландия ($n = 223$)	68,9**	31,1**	50,8
Англия ($n = 99$)	58,6**	41,4*	66,7
Дания ($n = 50$)	82,0	62,0	50,0
Финляндия ($n = 35$)	77,1	62,9	51,4

Примечания:

* – различия в сравнении с русской популяцией статистически значимы ($p < 0,001$);

** – различия в сравнении с русской популяцией статистически значимы ($p < 0,0001$).

Как видно из представленной таблицы, распределение ингибирующих KIR-генов в русской популяции соответствует такому в других популяциях кавказоидов (см. табл. 3). То же было показано нами при сравнении с другими популяциями [8].

Анализ частот встречаемости групп HLA-лигандов для двухдоменных KIR-рецепторов выявил значительные отличия русской от других кавказоидных популяций. В обследованной нами группе была обнаружена более высокая частота встречаемости аллелей группы HLA-C1, по сравнению с другими представленными популяциями, за исключением Дании и Финляндии (рис. 1). Имеющиеся в нашем распоряжении данные о распределении со-

четаний KIR2DL2/3 + HLA-C1 показали различия с популяциями Чехии ($\chi^2 = 4,90$; $p < 0,05$) и кавказоидов США ($\chi^2 = 8,49$; $p < 0,01$).

Кроме того, была выявлена более высокая, по сравнению с большинством кавказоидных популяций, частота встречаемости аллелей, входящих в группу HLA-C2, которые несут в позиции 80 остаток лизина и служат лигандами для KIR2DL1 и KIR2DS1 (рис. 2). HLA-лиганды этой группы также имеют высокую частоту встречаемости в популяциях Дании и Финляндии. У жителей Италии и Португалии они встречаются несколько реже, чем в русской популяции, но это различие не достигает статистической значимости.

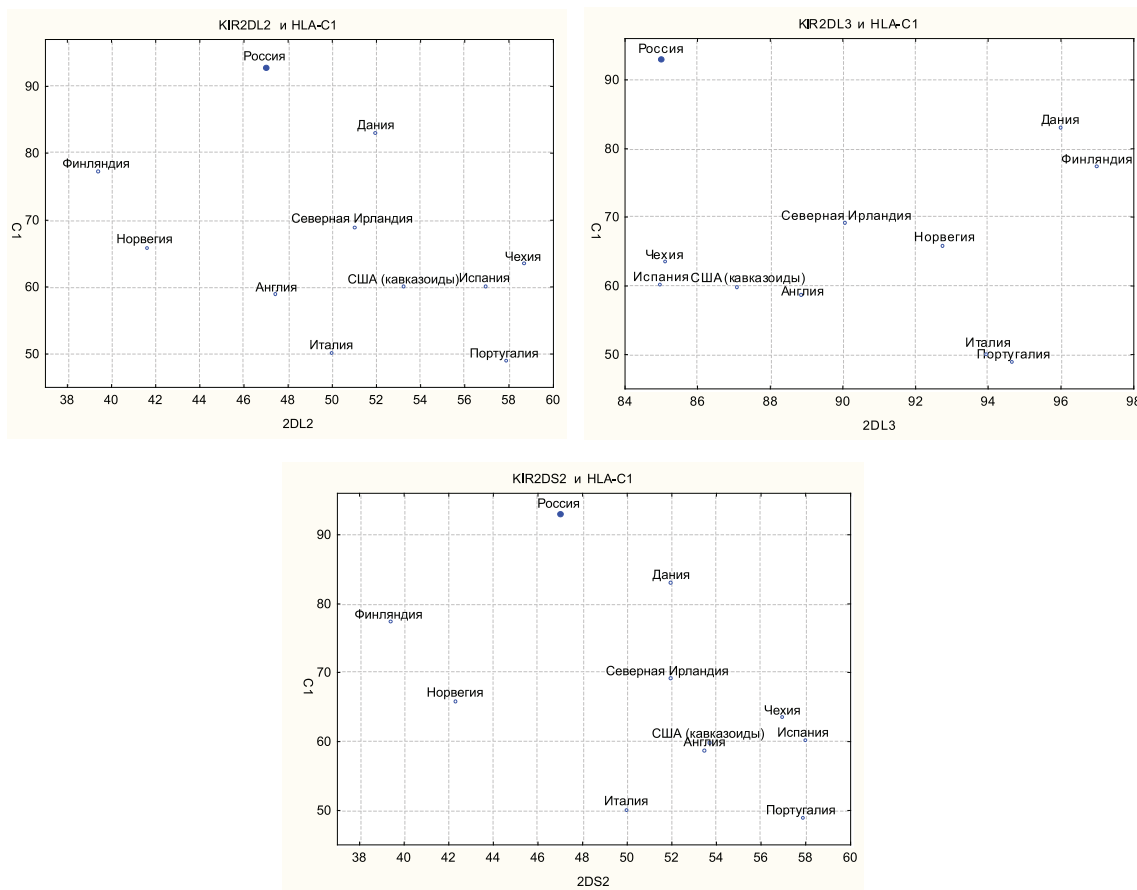


Рис. 1. Сопоставление частот встречаемости генов KIR2DL2/3, KIR2DS2 и HLA-C1 в русской и других кавказоидных популяциях [1, 2, 7]

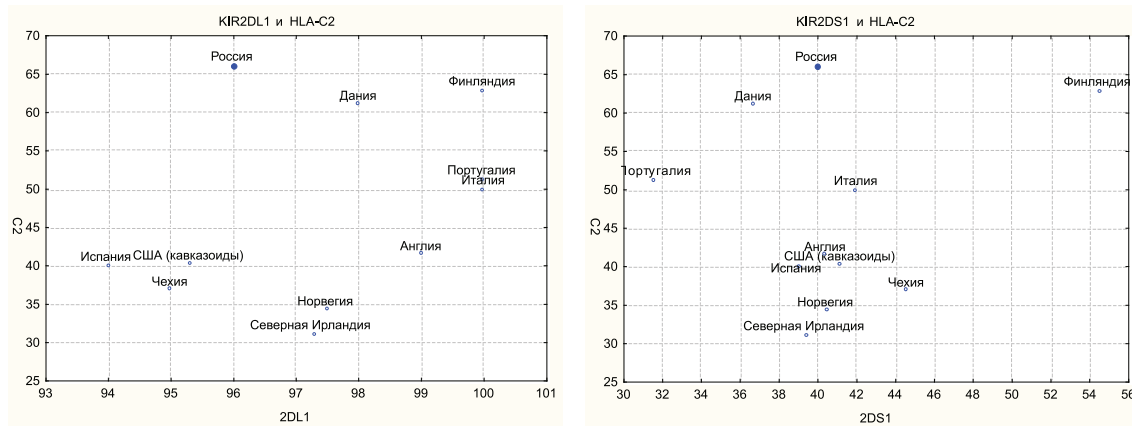


Рис. 2. Сопоставление частот встречаемости генов KIR2DL1, KIR2DS1 и HLA-C2 в русской и других кавказоидных популяциях [1, 2, 7]

Не было выявлено статистически значимых отличий в распределении HLA-Bw4 по сравнению с большинством других кавказоидных популяций (рис. 3).

Заключение

Полученные нами данные позволили выявить следующие особенности распределения иммуноглобулинподобных рецепто-

ров киллерных клеток и их HLA-лигандов в русской популяции:

1. Частоты встречаемости KIR-генов и пар KIR-рецептор/HLA-лиганд могут существенно различаться друг от друга. Так, частота гена KIR2DL1 составляет 96%, а пары KIR2DL1 + HLA-C2 – 63% ($\chi^2 = 33,41$; $p_c < 0,0001$); гена KIR3DL1 – 96%, а комбинации KIR3DL1 + HLA-Bw4 –

60% ($\chi^2 = 37,76; p_c < 0,0001$); гена KIR3DL2 – 100%, а сочетания KIR3DL2 + HLA-A3/11 – 35% ($\chi^2 = 96,30; p_c < 0,0001$). Таким образом, встречаемость функционально активного KIR-рецептора может быть значительно

ниже, чем кодирующего его гена, что необходимо учитывать при оценке вклада KIR-системы в развитие иммунного ответа, определении предрасположенности или резистентности к ряду заболеваний.

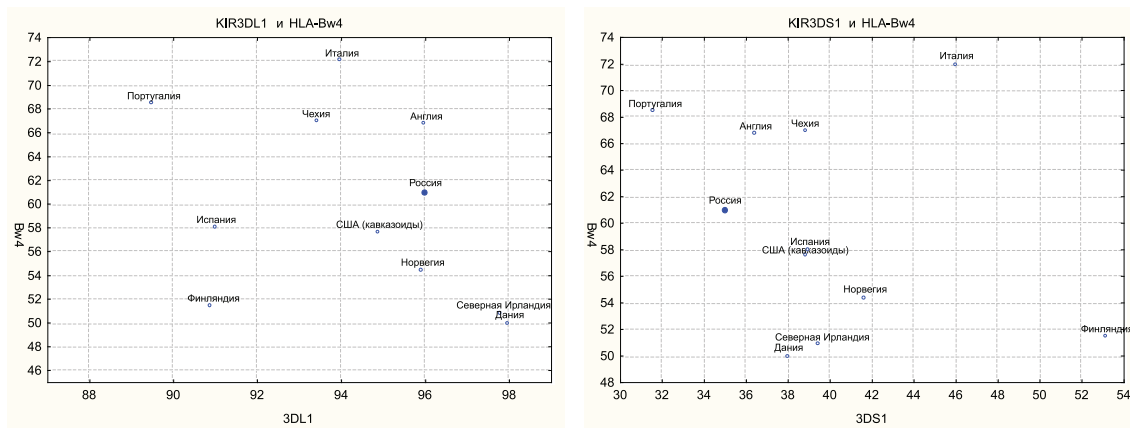


Рис. 3. Сопоставление частот встречаемости генов KIR3DL1, KIR3DS1 и HLA-Bw4 в русской и других кавказоидных популяциях [1, 2, 7]

2. Сопоставление полученных нами результатов с литературными данными показало, что распределение ингибирующих двухдоменных KIR-рецепторов в русской популяции, в целом, сходно с таковым в других популяциях кавказоидов. Однако обращает на себя внимание обнаруженная нами значительно более высокая, по сравнению с большинством европейских популяций, частота лиц, гетерозиготных по группам лигандов для этих рецепторов, и, особенно, более высокая частота аллотипов группы HLA-C1, что приводит к повышению частоты встречаемости функционально активных пар KIR2DL2/3 + HLA-C1. Эти данные необходимо учитывать при оценке генетически детерминированной особенней цитолитической активности естественных киллеров в русской популяции и изучении ассоциативных связей KIR-генов с различными заболеваниями.

Список литературы

1. Receptor-ligand analyses define minimal killer cell Ig-like receptor (KIR) in humans / Z. Du, D.W. Gjertson, E.F. Reed, R. Rajalingam // Immunogenetics. – 2007. – Vol. 59. – P. 1–15.
2. Report from the killer immunoglobulin-like receptor (KIR) anthropology component of the 15th International Histocompatibility Workshop: worldwide variation in the KIR loci and further evidence for the co-evolution of KIR and HLA / J.A. Hollenbach, A. Meenagh, C. Sleator, C. Alaez, et al. // Tissue Antigens. – 2010. – Vol. 76. – P. 9–17.
3. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS / M.P. Martin, X. Gao, J.H. Lee et al. // Nature Genetics. – 2002. – Vol.31. – P. 429–434.

4. Middleton D., Gonzalez F. The extensive polymorphism of KIR genes // Immunology. – 2009. – Vol. 129. – P. 8–19.

5. Parham P. MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival // Nature Reviews. Immunology. – 2005. – Vol.5. – P. 201–214.

6. Distribution of KIR genes in the Czech population / Y. Pavlova, L. Kolesar, I. Striz et al. // International Journal of Immunogenetics. – 2008. – Vol. 35. – P. 57–61.

7. Global diversity and evidence for coevolution of KIR and HLA / R.M. Single, M.P. Martin, X. Gao et al. // Nature Genetics. – 2007. – Vol.39, №9. – P. 1114–1119.

8. KIR genes in Russian population from Northwest region / I.V. Sokolova, L.N. Bubnova, I.E. Pavlova, S.S. Bessmeltsev // In: 2011 KIR Workshop. – Tammsvik, Sweden. – June 15-17, 2011, Abstracts B6, P. 20.

9. Recognition of peptide-MHC class I complexes by activating killer immunoglobulin-like receptors / C.A. Stewart, F. Laugier-Anfossi, F. Vely et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2005. – Vol. 102, №37. – P. 13224–13229.

10. Vilches C., Parham P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity // Annual Reviews of Immunology. – 2002. – Vol. 20. – P. 217–251.

Рецензенты:

Капустин С.И., д.б.н., руководитель лаборатории биохимии ФГУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА, г. Санкт-Петербург;

Калинина Н.М., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, начальник НИО клинической иммунологии Всероссийского центра экстренной радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 23.11.2011.