บทความปริทัศน์ (Review Article)

ข้อมูลใหม่กับกลไกการออกฤทธิ์และสหสัมพันธ์ทางคลินิกของแกรนูไลซิน

เนตรนภิส วรรณิสสร[1*], ประทีป วรรณิสสร[2]

Granulysin, an update on mechanism of action and clinical correlation

Netnaphis Warnnissorn[1*], Prateep Warnnissorn[2]

[1] Department of Biochemistry, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok Province 65000

[2] Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Naresuan University, Phitsanulok Province 65000

* Corresponding author, E-mail: netnatum@gmail.com

Naresuan Phayao J. 2015;8(2):113-121.

บทคัดย่อ

แกรนูไลซินเป็นโปรตีนพบในเซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติหรือเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม มีคุณสมบัติต้านจุลชีพประกอบด้วยต้านจุลชีพเกิดโรคในเซลล์และต้านมะเร็ง กลไกต้านจุลชีพประกอบด้วย 1) การแทงทะลุสิ่งหุ้มจุลชีพ 2) การฆ่าด้วยความเครียดออกซิเดชันหลังจากแกรนูไลซินส่งแกรนไซม์บีเข้าในเซลล์จุลชีพลดฤทธิ์เอนไซม์ความเครียดต้านออกซิเดชั่น และ 3) ฆ่าโดยแกรนูไลซินและเพอฟอรินในเซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติ ขณะที่การฆ่าจุลชีพในเซลล์ต้องการเพอฟอริน เพื่อส่งแกรนูไลซินและแกรนไซบีเข้าไปเซลล์เจ้าบ้าน ภายในเซลล์แกรนูไลซินปล่อยแกรนไซม์บีเข้าไปในจุลชีพ แกรนไซม์บีลดฤทธิ์กลไกความเครียดออกซิเดชัน กระตุ้นสายพันธุ์เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน และทำให้จุลชีพตายด้วยความเครียดออกซิเดชัน กลไกต้านมะเร็งประกอบด้วย 1) แกรนูไลซินทะลุเข้าเซลล์มะเร็งแล้วโจมตีไมโทคอนเดรีย ปลุกฤทธิ์แคสเปส 9 แคสเปส 3 นำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์ และ 2) เซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติใช้เพอฟอรินเพื่อส่งแกรนูไลซินเข้าไปในเซลล์มะเร็ง ทำลายร่างแหเอนโดพลาซึม ปลุกฤทธิ์แคสเปส 7 นำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์ แกรนูไลซินเกี่ยวข้องกับโรคติดเชื้อ มะเร็ง และโรคภูมิต้านทานต่อตนเอง ความรู้ใหม่ของแกรนูไลซินและกลไกการออกฤทธิ์อาจมีประโยชน์สำหรับการป้องกันและเยียวยาโรคในอนาคต

คำสำคัญ: แกรนูไลซิน, เซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติ, จุลชีพ, มะเร็ง, กระบวนการตายของเซลล์

Abstract

Granulysin is a protein found in natural killer (NK) cells or cytotoxic T lymphocytes. Its properties are antimicrobial, including against intracellular pathogen, and anticancer. The mechanisms of antimicrobial include 1) perforating the envelop of microbes, 2) oxidative stress killing after granulysin sends granzyme B into bacterial cells, inactivating antioxidative stress enzymes and increase reactive oxygen species, and 3) killing by granulysin and perforin from NK cells. While intracellular bacterial killing requires perforin to send granulysin and granzyme B into the host cell. In the cell granulysin delivers granzyme B into the bacteria. Granzyme B inactivates antioxidative stress mechanisms, raises reactive oxygen species and bacteria die of oxidative stress. Anticancer mechanisms are 1) granulysin cleavage into tumor cells to attack mitochondria, activates caspase 9 and caspase 3 that lead to apoptosis, and 2) NK cells use perforin to send granulysin

[1] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

[2] ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

รับต้นฉบับวันที่ 23 มีนาคม 2558, รับลงตีพิมพ์วันที่ 20 มิถุนายน 2558

into tumor cells damaging endoplasmic reticulum and activate caspase 7 that also lead to apoptosis. Granulysin is associated with infectious diseases, cancers and autoimmune diseases. The update knowledge of granulysin and its mechanism of action might be useful for preventing and curing diseases in the future.

Keywords: Granulysin, natural killer cell, microorganism, cancer, apoptosis

บทนำ

ปี พ.ศ. 2540 ค้นพบสารในถุงขนส่งสารคัดหลั่ง (granule) ของเซลล์เม็ดเลือดขาวบางกลุ่ม มีคุณสมบัติแยกสลาย (lytic) เซลล์มะเร็ง เรียกชื่อสารตามตำแหน่งพบและคุณสมบัติว่า แกรนูไลซิน (granulysin) [1] ปี พ.ศ. 2541 รายงานแกรนูไลซินสามารถกระตุ้นเซลล์มะเร็งสู่กระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis) [2] ออกฤทธิ์ต้านจุลชีพเกิดโรค [3] เข้าใจบทบาทของแกรนูไลซินเกี่ยวกับการวินิจฉัยและการรักษาโรค

ลักษณะของแกรนูไลซิน

ยีนแกรนูไลซินพบบนโครโมโซม 2 แอกซอน 6 ของมนุษย์ แต่ไม่พบในหนู (mouse) แกรนูไลซินมี 2 ประเภท คือแกรนูไลซินโปรตีนน้ำหนัก 15 กิโลดาลตัน (kilodalton) และ 9 กิโลดาลตัน สำหรับแกรนูไลซิน 15 กิโลดาลตันสร้างเร็ว และระยะครึ่งชีวิต (half-life) สั้น ส่วนแกรนูไลซิน 9 กิโลดาลตัน สร้างช้าจากการตัดปลายด้านหมู่อัลฟาอะมิโนอิสระ (N-terminal) และปลายด้านหมู่คาร์บอกซิลิกอิสระ (C-terminal) ของแกรนูไลซิน 15 กิโลดาลตัน ดังนั้นแกรนูไลซิน 9 กิโลดาลตันมีคุณสมบัติค่อนข้างเสถียรกว่า 15 กิโลดาลตัน โครงสร้างแกรนูไลซินเป็นประจุบวก (cationic) ประกอบด้วยโปรตีนรวมกลุ่ม 5 เกลียว (5-helix bundle) คงความเสถียรด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ระหว่างโมเลกุล 2 พันธะ แกรนูไลซินอยู่ในกลุ่ม saposin-like lipid binding proteins เรียกว่า SAPLIP [4] หมายถึงโปรตีนหลากหลายขนาด ทำปฏิกิริยากับเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย ก่อรูปซับซ้อนของไขมันหรือโปรตีนที่อาจแทงทะลุเพื่อฆ่าเซลล์เป้าหมาย [5]

เซลล์สร้างและหลั่งแกรนูไลซิน

เซลล์เพชรฆาตตามธรรมชาติ (natural killer - NK) และเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม (cytotoxic T lymphocyte – CTL) สร้างแกรนูไลซินทั้งสองประเภท แต่ interleukin-15 (IL-15) กระตุ้นการสร้างแกรนูไลซิน เมื่อกระตุ้นเซลล์เพชฌฆาตสามารถหลั่งแกรนูไลซิน 15 กิโลดาลตัน และ 9 กิโลดาลตัน ออกมานอกเซลล์ในส่วนแขวนลอย (supernatant) มีสัดส่วนของแกรนูไลซิน 15 มากกว่า 9 กิโลดาลตัน แต่การกระตุ้นนี้ไม่ส่งผลให้เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมหลั่งแกรนูไลซินออกนอกเซลล์ [6]

ตำแหน่งพบแกรนูไลซินในเซลล์

*ย้อมติดสี*แกรนูไลซิน 9 และ 15 กิโลดาลตันในถุงขนส่งสารคัดหลั่งของ*เซลล์ (granule) ต่างตำแหน่งและพบ*แกรนูไลซิน 9 กิโลดาลตันตรงตำแหน่งเดียวกับเพอฟอริน (perforin) และ lysosome-associated membrane protein 1 (LAMP1) แกรนูไลซินเป็นโปรตีนในถุงขนส่งสารคัดหลั่งของ*เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมและเซลล์เพชรฆาตตามธรรมชาติ* แกรนูไลซินก่อรูรั่วตรงเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมาย ส่วนแกรนไซม์บี (granzyme B) ทำงานร่วมกับเพอฟอรินและกระตุ้นเซลล์เป้าหมายไปสู่กระบวนการตายของเซลล์ อาจปลุกฤทธิ์แคสเปส 3 (cysteine aspartic acid specific protease-3) และแคสเปส 7 และ/หรือตัดย่อยหรือแยก Bid (BH3 interactin-domain death agonist, proapoptotic Bcl-2 family member) องค์ประกอบสำคัญควบคุมกระบวนการตายของเซลล์ สำหรับ LAMP1 หรือ CD107a เป็นตัวบ่งชี้ (marker) ของการแตกออกของถุงขนส่งสารคัดหลั่ง (degranulation) ในเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีสารก่อภูมิต้านทาน (antigen) ชนิด CD8+ บนผนังเซลล์และเซลล์เพชฌฆาต

ถุงขนส่งสารคัดหลั่งของเซลล์กักเก็บแกรนูไลซิน 9 และ 15 กิโลดาลตัน ต่างตำแหน่งกัน ส่วนแกรนูไลซิน 9 กิโลดาลตันน่าหลั่งพร้อมกับเพอฟอรินและแกรนไซม์บีเพื่อทำลายเซลล์เป้าหมาย ด้วยพบสารเหล่านี้ตรงตำแหน่งเดียวกัน สำหรับแกรนูไลซิน 15 กิโลดาลตันมีคุณสมบัติกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวประเภทไม่มีถุงขนส่งสารคัดหลั่ง (monocyte) ไปเป็นกิ่งก้านของเซลล์ประสาท (dendritic cell) [6]

กลไกทำลายจุลชีพ

แกรนูไลซินปต้านจุลชีพเกิดโรคด้วยการทำลายจุลชีพนอกเซลล์และในเซลล์ รวมถึงการจับจุลชีพแบบจำเพาะ ทั้งนี้แกรนูไลซิน แกรนูไลซินกับแกรนไซม์บีและแกรนูไลซินในเซลล์เพชรฆาตเป็นตัวต้านจุลชีพนอกเซลล์ ขณะที่แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์ (recombinant) ความเข้มข้น 25 ถึง 100 ไมโครโมล ทำให้สิ่งหุ้มจุลชีพบวมผิดปกติเพื่อทำลายจุลชีพเกิดโรค [3] ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรก่อเกิดการทะลุสิ่งหุ้มจุลชีพ [7] แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์ร่วมกับแกรนไซม์บีชีวสังเคราะห์ความเข้มข้นเกือบถึงตาย (sublethal dose) 0.1 ถึง 0.4 ไมโครโมล ฆ่าแบคทีเรียผ่านแกรนูไลซินบนพื้นผิวสิ่งหุ้มส่งแกรนไซม์บีเข้าไปในจุลชีพ เพื่อทำลาย electron transport chain complex I และสร้าง superoxide, peroxide และความเครียดออกซิเดชัน (reactive oxygen species) อื่น ร่วมกับทำลายเอนไซม์ความเครียดต้านออกซิเดชัน เช่น superoxide dismutase และ catalase [8]

หากแกรนูไลซินทำงานร่วมกับเพอฟอรินสามารถต้านจุลชีพเกิดโรคมากขึ้น อาศัยเซลล์เพชฌฆาตสัมผัสกับจุลชีพและกระตุ้นตัวรับสิ่งเป็นพิษต่อเซลล์ตามธรรมชาติ (natural cytotoxicity receptor) ตัวรับเซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติ (natural killer cell receptor) ประกอบด้วย NKp30, NKp44, NKp46 และ NK group 2 member D (NKG2D) กระตุ้นต่อไปยังสื่อสัญญาณในเซลล์เป็นต้นว่า เอนไซม์ทำหน้าที่เคลื่อนย้ายกลุ่มฟอสเฟตปลุกฤทธิ์การแบ่งตัวของเซลล์ (p38 mitogen-activated protein kinase - p 38 MAPK) และเอนไซม์ทำหน้าที่เคลื่อนย้ายกลุ่มฟอสเฟตส่งสัญญาณนอกเซลล์ (extracellular-signal-regulated kinases - ERKs) รวมถึง เอนไซม์ทำหน้าที่เคลื่อนย้ายกลุ่มฟอสเฟตจับกับการตัดปลายด้านหมู่อัลฟาอะมิโนเป็นอิสระและยีน JUN (c-Jun N-terminal kinases - JNKs) ส่งผลให้สร้างแกรนูไลซินและเพอฟอรินเพิ่มขึ้น เซลล์เพชฌฆาตตามจับจุลชีพด้วยสิ่งคล้ายท่อขนาดเล็กมาก (nanotube-like) และพบถุงขนส่งสารคัดหลั่งเพอฟอรินในเซลล์มีปริมาณมากใกล้จุลชีพ หากใช้อาร์เอ็นเอสายคู่ตัดอาร์เอ็นเอของเซลล์เพชรฆาตเพื่อยับยั้งการแสดงออกของยีนแทรกแซงสายสั้น (small interfering RNA – siRNA) เป็นผลให้เซลล์เพชรฆาตต้านจุลชีพน้อยลง [7]

เซลล์เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์เพชรฆาตตามธรรมชาติ (natural killer lymphocyte) ประกอบด้วยเซลล์เพชรฆาตตามธรรมชาติและเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม เมื่อเซลล์เพชฌฆาตรู้จำเซลล์ติดจุลชีพเกิดโรค แกรนไซม์บีกระตุ้นเพอฟอรินปล่อยเอนไซม์ย่อยโปรตีนเข้าไปในเซลล์เป้าหมาย เพื่อกระตุ้นกระบวนการตายของเซลล์ สิ่งเกิดกับแบคทีเรียในเซลล์ยังไม่ชัดเจน

แบคทีเรียเหตุเกิดโรคทางเดินอาหารทรงแท่งแกรมลบ (*Escherichia coli*) แกรนไซม์แยกห่วงการขนส่งอิเล็กตรอนโซ่ซับซ้อนประเภทที่ 1 (granzyme cleave electron transport chain complex I) และโปรตีนต้านความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative stress defense protein) ก่อรูปออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาง่าย (reactive oxygen species - ROS) สามารถฆ่าแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว ส่วนการกวาดสิ่งแปลกปลอมด้วยออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาง่ายและการแสดงออกมากเกินของโปรตีนต้านอนุมูลอิสระต่อแบคทีเรีย กลับยับยั้งการตายของแบคทีเรีย ส่วนการแสดงออกแบบผ่าเหล่าของแกรนไซม์ไม่แยกโซ่ซับซ้อนแบคทีเรียยังคงตายแต่ช้ากว่า บอกเป็นนัยถึงแกรนไซม์ขัดขวางเส้นทางมีชีวิตของแบคทีเรียหลายเส้นทาง เมื่อศึกษาในหนูตัดต่อพันธุกรรมพบว่าแกรนูไลซินกำจัดแบคทีเรียทรงแท่งแกรมบวกและไม่สร้างสปอร์ (Listeria monocytogenes) ดีกว่าเซลล์เพชฌฆาต และมีบทบาทต่อต้านแบคทีเรียแบบคาดไม่ถึง [8]

แกรนูไลซินจับจุลชีพเกิดโรคแบบจำเพาะ ด้วยเพราะกรดอะมิโนอาร์จินีน (arginine) รอบโมเลกุลแกรนูไลซินเป็นประจุบวก จับกับหมู่ฟอสเฟต (phosphate) ของสิ่งห่อหุ้มจุลชีพเป็นประจุลบ พลังงานการจับของแกรนูไลซินต่อเยื่อหุ้มเซลล์ผลักดันและเกิดระบวนการสลายเซลล์ตามมา อธิบายด้วยหลักบรรจุแบบหลวมกระตุ้นการเคลื่อนแบบพานพับหรือกรรไกร (hinge or scissor motion) ต่อการสัมผัสกับพื้นผิวไม่ชอบน้ำ (hydrophobic surface) แกรนูไลซินผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ปริแตกจนเกิดเป็นอุโมงค์ [9] เกิดแรงระหว่างโมเลกุลของปฏิกิริยาโปรตีนต่อโปรตีนหรือโปรตีนต่อแบคทีเรีย ยังไม่ทราบชัดเกี่ยวกับเหตุพื้นเดิมของประสิทธิภาพทำให้แบคทีเรียแตกสลายระดับโมเลกุลเดี่ยว

ในลิงแสม (macaque) บอกเป็นนัยถึงแกรนูไลซินมีประสิทธิภาพฆ่าแบคทีเรียทรงแท่งแกรมบวกและไม่สร้างสปอร์ (*L. monocytogenes)* แรงปฏิกิริยาระหว่างแกรนูไลซินกับแบคทีเรียวัดด้วยกล้องจุลทรรศน์แรงระหว่างอะตอมเท่ากับ 22.5 pN แสดงถึงแกรนูไลซินอาจแยกสลายแบคทีเรียไม่เพียงแต่ผ่านปฏิกิริยาแรงเกิดจากประจุไฟฟ้าต่างชนิด (electrostatic interaction) แต่เกี่ยวกับการจับไฮโดรเจน (hydrogen bonding) และแรงแวนเดอร์วาลล์ (van der Waals interaction) อีกด้วย [10]

ขณะที่การศึกษาก่อนหน้าเพียงรายงานแกรนูไลซินลดการมีชีวิตของจุลชีพเกิดโรคได้แก่ แบคทีเรีย รา และปรสิตในหลอดทดลอง รวมถึงการเปลี่ยนแปลงความเป็นหนึ่งเดียวของเยื่อหุ้มเซลล์เพื่อฆ่าแบคทีเรียเหตุเกิดวัณโรค (Mycobacterium tuberculosis) [3]

กลไกทำลายเซลล์มะเร็ง

ในหลอดทดลองต้องใช้แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์ 9 กิโลดาลตัน ความเข้มข้นสูง 50 ถึง 100 ไมโครโมล ทำให้เซลล์มะเร็งตาย แกรนูไลซินประจุบวกจับผิวเซลล์และตัดผ่านผนังเซลล์ออกฤทธิ์คล้ายกรรไกร กระตุ้นเส้นทางทำให้เซลล์ตายผ่านไมโทคอนเดรียจากภายใน (intrinsic mitochondrial apoptosis pathway) ให้ไมโทรคอนเดรียปล่อยฮีโมโปรตีนขนาดเล็กตรงเยื่อบุด้านในของไมโทคอนเดรีย (cytochrome c) และปัจจัยเหนี่ยวนำกระบวนการตายของเซลล์ (apoptosis-inducing factor) ปลุกฤทธิ์ผ่านแคสเปส 9 และ 3 นำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์ [11]

แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์ 9 กิโลดาลตันฆ่าเซลล์เนื้องอกด้วยก่อเหตุเกิดแคลเซียมมากเกินในเซลล์ ไมโทคอนเดรียเสียหาย กระตุ้นแคสเปสปลายน้ำออกฤทธิ์ ในหลอดทดลองเซลล์ม้ามของสัตว์ออกฤทธิ์ออกฤทธิ์ต่อสารกระตุ้นสร้างแกรนูไลซิน (IL-15) เพื่อก่อกำเนิดเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมและเซลล์เพชฌฆาต สำหรับเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมแสดงออกชัดว่าต้องการเพอโฟริน แต่ไม่ต้องการแกรนไซม์บีเพื่อก่อให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์เป้าหมาย ตรงกันข้ามแกรนไซม์บีเหนี่ยวนำให้เกิดไมโทคอนเดรียเสียหากและทำให้แคสเปส 3 และ 9 ออกฤทธิ์ต่อเป้าหมาย เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมปล่อยแกรนูไลซินเหนี่ยวนำความเครียดต่อร่างแหเอนโดพลาสซึม และทำให้แคสเปส 7 ออกฤทธิ์โดยปราศจากผลต่อไมโทคอนเดรียหรือแคสเปส 3 และ 9 นอกจากนี้แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์และแกรนูไลซินสร้างจากเซลล์ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เป้าหมายด้วยเส้นทางกระบวนการตายของเซลล์แยกกันชัดเจน บอกเป็นนัยว่าเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมค่อยพัฒนาเส้นทางเซลล์ตายหลากหลายเส้นทาง ทำให้การต่อต้านของเจ้าบ้านเพื่อหลบหลีกกลไกใช้โดยเซลล์มะเร็งเป็นไปได้ [11]

หนูผ่านวิศวพันธุศาสตร์ใส่ยีนภายนอกเข้ายังตำแหน่งเฉพาะเพื่อเกิดโรค (knock in rat) เมื่อได้รับยีนแกรนูไลซินของมนุษย์กลับต้านมะเร็งดีกว่ากลุ่มควบคุม [6] แกรนูไลซินแสดงออกน้อยลงในเซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติของผู้ป่วยมะเร็งสัมพันธ์กับการลุกลามของมะเร็ง [12] แกรนูไลซินในเลือดเพิ่มขึ้นทำให้มะเร็งฝ่อ [13] แกรนูไลซินออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียสกุลมัยโคแบคทีเรียม (genus mycobacterium) รา และมาเลเรีย [14]

แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์ 9 กิโลดาลตันเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและจุลชีพ นำเซลล์มะเร็ง U937 ไปสู่กระบวนการตายและยับยั้งการเจริญของจุลชีพเกิดโรคอาหารเป็นพิษ *Salmonella typhimurium* ขณะที่แกรนูไลซินชีวสังเคราะห์ 15 กิโลดาลตันไม่ต้านเซลล์มะเร็งและไม่ยับยั้งการเจริญของจุลชีพเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

[6] ขัดแย้งกับอีกการศึกษาหนึ่งกล่าวคือ แกรนูไลซิน 15 กิโลดาลตันนำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์สร้างเคอราทิน (keratinocyte) เมื่อภาวะปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันต้านทานของร่างกายตอบสนองผิดปกติ ทั้ง Steven-Johnson syndrome (SJS) และ toxic epidermal necrolysis (TEN) [15]

แกรนูไลซินกับการติดเชื้อ

ผู้ป่วยรากขนอักเสบ (folliculitis) มีเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมผลิตแกรนูไลซินจำนวนมาก สังเกตพบในรอยโรคตุ่มหนองปราศจากเชื้อ สารภูมิต้านทานแกรนูไลซินมีบทบาทสำคัญในกลไกต่อต้านของผิวหนัง [16] ความแปรผันด้านพันธุกรรมเกี่ยวกับยีนแกรนูไลซินอาจเป็นปัจจัยสำคัญ ในการกวาดล้างไวรัสตับอักเสบบีด้วยการเอาเซลล์ติดเชื้อออกจากร่ายกายเจ้าบ้าน ผ่านเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีสารก่อภูมิต้านทาน (antigen) ชนิด CD8+ หรือเซลเพชฌฆาตสื่อกลาง [17]

บทบาทของแกรนูไลซินในรอยโรคเรื้อน แกรนูไลซินร่วมตำแหน่งกับเซลล์ทำลายที่มีสารก่อภูมิต้านทาน (antigen) ชนิด CD4+ แยกสลายเซลเป้าหมายโดยเส้นทางการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์ (exocytosis) และลดการมีชีวิตของแบคทีเรียเหตุเกิดโรคเรื้อน (Mycobacterium leprae) แกรนูไลซินมีช่วงกว้างของการฆ่าแบคทีเรีย [18] การสำเนา (clone) เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมผลิตเป็นเซลล์ผู้ช่วยประเภทที่ 1 (type 1 T helper cell – Th1) เป็นรูปแบบโปรตีนตอบสนองสารกระตุ้นระหว่างเซลล์ (cytokine) มีผลทำให้แบคทีเรียเหตุเกิดโรคเรื้อนแตกสลายโดยเส้นทางการนำสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์ผ่านถุงขนส่งสารคัดหลั่ง และแกรนูไลซินโปรตีนต้านแบคทีเรีย เพราะฉะนั้นเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม BV6(+) อาจมีส่วนต่อเซลล์สื่อตอบสนองสารภูมิต้านทาน [19] เซลล์เพชฌฆาต เพอโฟริน และแกรนูไลซินมีบทบาทฆ่าแบคทีเรียสกุล Mycobacterium และเซลล์เป้าหมาย [7] ส่วนวัณโรคเรื้อรังและการมีอาการสัมพันธ์กับเพเพอโฟรินและแกรนไซม์เอไม่เพียงพอ และไม่อาจแสดงออกร่วมกับเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีสารก่อภูมิต้านทาน (antigen) ชนิด CD8+ ตรงตำแหน่งการติดเชื้อเฉพาะที่ [20] ระดับแกรนูไลซิน (ต่ำ) ในซีรั่มอาจจัดเป็นตัวชี้วัด (marker) การออกฤทธิ์ของวัณโรคในเด็กและใช้ประโยชน์ในการตรวจเตือนการตอบสนองต่อการรักษา [21]

เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมที่มีสารก่อภูมิต้านทาน (antigen) ชนิด CD4+ สามารถฆ่าราCryptococcus neoformans ในเลือดส่วนปลาย โดยใช้แกรนูไลซินโมเลกุลปฏิบัติงานให้ได้ผล (effector molecule) [22] ในหลอดทดลองเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมแกรมมาเดลต้าสามารถยับยั้งหรือฆ่าปรสิตมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* โดยอิงเส้นทางเป็นพิษต่อเซลล์อาศัยการลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่ออกจากเซลล์ และแกรนูไลซินมีบทบาทฆ่าปรสิต [23] แกรนูไลซินจำเป็นสำหรับกระบวนการต้านปรสิตมาลาเรียในหลอดทดลอง ขณะที่เพอโฟรินไม่สำคัญ [24] หยุดยั้งแบคทีเรียเหตุเกิดสิว Propionibacterium acnes บอกเป็นนัยว่าลูกโซ่โมเลกุลยาวของแกรนูไลซิน (granulysin peptide) อาจมีประโยชน์เป็นสารเคมีรักษาเฉพาะที่ [25] ลูกโซ่โมเลกุลยาวของแกรนูไลซินออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียเหตุเกิดสิว การใช้ทาเฉพาะที่ทำให้สิวธรรมดาดีขึ้น [26] อนึ่ง ลูกโซ่โมเลกุลยาวของแกรนูไลซิน G12.21 และ G14.15 มีประสิทธิภาพควบคุมการเจริญของแบคทีเรียเหตุเกิดอหิวาตกโรคในหลอดทดลอง [27]

แกรนูไลซินกับมะเร็ง

ผู้ป่วยมะเร็งผู้มีการแสดงออกของแกรนูไลซินบกพร่องเสมือนอยู่ในสภาวะกดภูมิต้านทาน สัมพันธ์กับการรุดหน้าของมะเร็ง [12] ระดับแกรนูไลซินก่อนผ่าตัดสะท้อนสถานะของภูมิต้านทานเซลล์สื่อกลางในผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหาร มีนัยสำคัญเป็นเสมือนตัวกำหนดพยากรณ์โรค [28] มีรายงานผู้ป่วยมะเร็งเซลล์ประสาท (neuroblastoma) ระยะที่ 4 ผู้ป่วยหนึ่งรายมีระดับแกรนูไลซินเพิ่มสูงขณะมะเร็งทุเลาไปเอง [13] ศึกษาในหนูตัดต่อพันธุกรรมมีแกรนูไลซินจำเพาะสามารถฆ่าเซลล์มะเร็งและมีชีวิตยืนยาวกว่ากลุ่มไม่มี [29] ทดสอบแกรนูไลซินกับเซลล์เลี้ยงต่อเนื่องของมะเร็งเซลล์พลาสมา (multiple myeloma) และมะเร็งเซลล์เม็ดเลือดขาว (leukemia) ชนิด B cell พบว่า

แกรนูไลซินมีระดับความไวแตกต่างกัน บอกเป็นนัยการเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการตายของเซลล์ [30]

เห็ดหลินจือแดง (*Ganoderma lucidum*) เพิ่มเซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติ ด้วยการกระตุ้นการหลั่งแกรนูไลซินและเพอฟอริน ออกฤทธิ์เชื่อมโยงกับการเพิ่มการแสดงออกของเพชฌฆาตตามธรรมชาติ NKG2D และตัวรับความเป็นพิษตามธรรมชาติ (natural cytotoxicity receptors – NCRs) ร่วมกับเพิ่มการเติมกลุ่มฟอสเฟตพลังงานสูง (phosphorylation) ของสื่อสัญญาณในเซลล์ การลำเลียงสารโมเลกุลใหญ่เพอฟอรินและแกรนูไลซินออกนอกเซลล์ เหนี่ยวนำความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเลี้ยงต่อเนื่อง [31] น้ำมันระเหยจากพืชและมีคุณสมบัติต้านแบคทีเรีย (phytoncide) จากต้นไซปรัสฮิโนกิ (hinoki cypress) เมื่อเติมในเครื่องเพิ่มความชื้นในห้องของโรงแรม การสัมผัสสารระเหยเพิ่มการออกฤทธิ์ของเซลล์เพชฌฆาตและเพิ่มสัดส่วนของเซลล์เพชรฆาต เพอฟอริน แกรนูไลซิน และแกรมไซม์เอ/บี [32] น้ำมันระเหยเพิ่มการออกฤทธิ์ของเซลล์เพชฌฆาตและอย่างน้อยเป็นสื่อกลางบางส่วนโดยการเหนี่ยวนำเพอโฟริน แกรนไซม์เอ และแกรนูไลซิน [33]

แกรนูไลซินกับภูมิต้านทานตนเอง

การแสดงออกของแกรนูไลซินในเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีสารก่อภูมิต้านทาน (antigen) ชนิด CD8+ สัมพันธ์กับการดื้อสเตอรอยด์ (steroid resistance) ในผู้ป่วยกล้ามเนื้ออักเสบหลายมัด (polymyositis) [34] เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมที่มีแกรนูไลซินเพิ่มขึ้นในแผ่นรอยโรคเรื้อนกวางหรือสะเก็ดเงิน (psoriasis) แสดงถึงภูมิต้านทานต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ [35]

เซลล์นิวเคลียสเดียวในเลือดส่วนปลาย (peripheral blood mononuclear cell) ในผู้ป่วย SJS แสดงผ่านโปรตีนเยื่อหุ้มเซลล์ประเภทที่ 2 (FasL หรือ CD95L) ในกลุ่มปัจจัยการตายของเนื้องอก และเหนี่ยวนำการตายของเซลล์หนังกำพร้า (keratinocyte) [36] เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมที่มีแกรนูไลซินเป็นสื่อกลางปฏิกิริยาภูมิต้านทาน อาจมีบทบาทสำคัญในพยาธิกำเนิดจองการเกิดผื่นคล้ายสิว (acne-like eruption) ในผู้ป่วยโรคความผิดปกติระบบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Behcet disease) [37] พยาธิกำเนิดของโรคผิวหนังเรื้อรัง (lichen planus) บทบาทหลักความเป็นพิษเซลล์สื่อกลางเกิดโดยเส้นทางลำเลียงถุงขนส่งสารคัดหลั่งออกจากเซลล์ อาจเป็นเพราะสำเนาเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยอัตโนมัติ [38]

แกรนูไลซิน 15 กิโลดาลตันนำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์สร้างเคอราทิน [15] เซลล์เพชฌฆาตตามธรรมชาติของมดลูกก่อให้เกิดแกรนูไลซินเกี่ยวข้องกับการแท้งเอง [39] ระดับแกรนูไลซิน (สูง) อาจมีประโยชน์และเป็นตัวชี้วัดใหม่สำหรับผมร่วงเป็นหย่อม (alopecia areata) ระยะเฉียบพลัน [40] ในหลอดทดลองเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอมเนื้อเยื่อปลูกข้ามคนหลั่งแกรนูไลซิน และสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ความเป็นพิษ การหลั่งแกรนูไลซินเพิ่มขึ้นเป็นตัวแทนของปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อปลูกข้ามคน การระบุหาแกรนูไลซินมีประโยชน์และเป็นตัวชี้วัดภาวะเซลล์ต้นกำเนิดใหม่ต้านร่างกายผู้รับ (graft versus host disease - GVHD) ในการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด [41]

ระดับแกรนูไลซินสูงในผู้ป่วยกลุ่มอาการยาเหนี่ยวนำเซลล์เม็ดเลือดขาวอีโอสิโนฟิลมากและทั่วร่างกาย drug induced eosinophilia and systemic syndrome (DRESS) [42] ระดับแกรนูไลซินในซีรั่มสูงยังเป็นประโยชน์และตัวชี้วัดใหม่เพื่อประเมินค่าความสมดุลของเซลล์ผู้ช่วยประเภทที่ 1 และที่ 2 (Th1/Th2) เกี่ยวกับโปรตีนตอบสนองสารกระตุ้นระหว่างเซลล์ โดยเฉพาะภูมิต้านทานเซลล์ผู้ช่วยประเภทที่ 1 ในผู้เป็นความดันโลหิตขณะตั้งครรภ์ [43]

ยาฆ่าแมลงกลุ่ม organophosphate ยับยั้งเซลล์เพชฌฆาต สารกระตุ้นระหว่างเซลล์สร้างจากลิมโฟไซต์ (lymphokine) กระตุ้นเซลล์เพชฌฆาตออกฤทธิ์ และเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม โดยทำให้การลำเลียงถุงขนส่งสารคัดหลั่งออกจากเซลล์ทำให้เส้นทางโปรตีนเยื่อหุ้มเซลล์ประเภทที่ 2 เสียหาย และเหนี่ยวนำกระบวนการตายของเซลล์ภูมิต้านทาน [44] ยาฆ่าแมลงกลุ่ม carbamate ยั้งเซลล์เพชฌฆาต เซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม รวมถึงลดระดับเพอโฟริน แกรนไซม์เอ บี กับ 3/K และแกรนูไลซิน [45]

สรุป

แกรนูไลซินเป็นโมเลกุลแยกสลายเซลล์และโน้มเอียงไปทางการอักเสบ พบในถุงขนส่งสารแยกสลายเซลล์ของเซลล์เพชฌฆาตและเซลล์ทำลายสิ่งแปลปลอม แกรนูไลซิน 9 กิโลดาลตันทำให้จุลชีพเกิดโรคและเซลล์มะเร็งแตกสลาย แกรนูไลซินยังเป็นสารล่อเซลล์ทำลายสิ่งแปลกปลอม (ลิมโฟไซต์ โมโนไซต์) และเซลล์เกี่ยวกับการอักเสบอื่น ออกฤทธิ์การแสดงออกของสารกระตุ้นระหว่างเซลล์จำนวนหนึ่ง แกรนูไลซินเกี่ยวพันกับโรคมากหลายประกอบด้วยโรคติดเชื้อ มะเร็ง การปลูกถ่ายอวัยวะและเนื้อเยื่อ ภูมิต้านทานตนเอง ผิวหนัง และความเจ็บป่วยด้านการเจริญพันธุ์ แกรนูไลซินแบบสังเคราะห์กำลังพัฒนาเป็นยาปฏิชีวนะใหม่ การศึกษาระยะยาวอย่างครบถ้วนทุกแง่มุมอาจยกระดับไปยังการวินิจฉัยและการรักษาใหม่เพื่อใช้ประโยชน์ในมุมกว้างหลากหลายของโรค

เอกสารอ้างอิง

1. Pena SV, Hanson DA, Carr BA, Goralski TJ, Krensky AM. Processing, subcellular localization, and function of 519 (granulysin), a human late T cell activation molecule with homology to small, lytic, granule proteins. J Immunol. 1997;158(6):2680-8.
2. Gamen S, Hanson DA, Kaspar A, Naval J, Krensky AM, Anel A. Granulysin-induced apoptosis. I. Involvement of at least two distinct pathways. J Immunol. 1998;161(4):1758-64.
3. Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, Dewan P, Niazi KR, Froelich CJ, et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. Science. 1998;282(5386):121-5.
4. Tewary P, Yang D, de la Rosa G, Li Y, Finn MW, Krensky AM, et al. Granulysin activates antigen-presenting cells through TLR4 and acts as an immune alarmin. Blood. 2010;116(18):3465-74.
5. Bruhn H. A short guided tour through functional and structural features of saposin-like proteins. Biochem J. 2005;389(Pt 2):249-57.
6. Clayberger C, Finn MW, Wang T, Saini R, Wilson C, Barr VA, et al. 15 kDa granulysin causes differentiation of monocytes to dendritic cells but lacks cytotoxic activity. J Immunol. 2012;188(12):6119-26..
7. Lu CC, Wu TS, Hsu YJ, Chang CJ, Lin CS, Chia JH, et al. NK cells kill mycobacteria directly by releasing perforin and granulysin. J Leukoc Biol. 2014;96(6):1119-29.
8. Walch M, Dotiwala F, Mulik S, Thiery J, Kirchhausen T, Clayberger C, et al. Cytotoxic cells kill intracellular bacteria through granulysin-mediated delivery of granzymes. Cell. 2014;157(6):1309-23.
9. Anderson DH, Sawaya MR, Cascio D, Ernst W, Modlin R,Krensky A, et al. Granulysin crystal structure and a structure-derived lytic mechanism. J Mol Biol. 2003;325(2):355-65.
10. Qiu Y, Hu AB, Wei H, Liao H, Li S, Chen CY, et al. An atomic-force basis for the bacteriolytic effects of granulysin. Colloids Surf B Biointerfaces. 2012;100:163-8.
11. Saini RV, Wilson C, Finn MW, Wang T, Krensky AM, Clayberger C. Granulysin delivered by cytotoxic cells damages endoplasmic reticulum and activates caspase-7 in target cells. J Immunol. 2011;186(6):3497-504.
12. Kishi A, Takamori Y, Ogawa K, Takano S, Tomita S, Tanigawa M, et al. Differential expression of granulysin and perforin by NK cells in cancer patients and correlation of impaired granulysin expression with progression of cancer. Cancer Immunol Immunother. 2002;50(11):604-14.
13. Nagasawa M, Kawamoto H, Tsuji Y, Mizutani S. Transient increase of serum granulysin in a stage IVs neuroblastoma patient during spontaneous regression: case report. Int J Hematol. 2005;82(5):456-7.
14. Marischen L, Wesch D, Schröder JM, Wiedow O, Kabelitz D. Human γδ T cells produce the

protease inhibitor and antimicrobial peptide elafin. *Scand. J. Immunol*. 2009, *70*, 547–52.

15. Chung WH, Hung SI, Yang JY, Su SC, Huang SP, Wei CY, et al. Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. Nat Medi. 2008;14(12):1343-50.
16. Oono T, Morizane S, Yamasaki O, Shirafuji Y, Huh WK, Akiyama H, et al. Involvement of granulysin-producing T cells in the development of superficial microbial folliculitis. Br J Dermatol. 2004;150(5):904-9.
17. Park GH, Kim KY, Cheong JY, Cho SW, Kwack K. Association of GNLY genetic polymorphisms with chronic liver disease in a Korean population. DNA Cell Biol. 2012;31(9):1492-8.
18. Ochoa MT, Stenger S, Sieling PA, Thoma-Uszynski S, Sabet S, Cho S, et al. T-cell release of granulysin contributes to host defense in leprosy. Nat Med. 2001;7(2):174-9.
19. Sabet S, Ochoa MT, Sieling PA, Rea TH, Modlin RL. Functional characterization of a T-cell receptor BV6+ T-cell clone derived from a leprosy lesion. Immunology. 2007;120(3):354-61.
20. Andersson J, Samarina A, Fink J, Rahman S, Grundstrom S. Impaired expression of perforin and granulysin in CD8+ T cells at the site of infection in human chronic pulmonary tuberculosis. Infect Immun. 2007;75(11):5210-22.
21. Di Liberto D, Buccheri S, Caccamo N, Meraviglia S, Romano A, Di Carlo P, et al. Decreased serum granulysin levels in childhood tuberculosis which reverse after therapy. Tuberculosis (Edinburgh). 2007;87(4):322-8.
22. Zheng CF, Ma LL, Jones GJ, Gill MJ, Krensky AM, Kubes P, et al. Cytotoxic CD4+ T cells use granulysin to kill Cryptococcus neoformans, and activation of this pathway is defective in HIV patients. Blood. 2007;109(5):2049-57.
23. Farouk SE, Mincheva-Nilsson L, Krensky AM, Dieli F, Troye-Blomberg M. Gamma delta T cells inhibit in vitro growth of the asexual blood stages of Plasmodium falciparum by a granule exocytosis-dependent cytotoxic pathway that requires granulysin. Eur J Immunol. 2004;34(8):2248-56.
24. Costa G, Loizon S, Guenot M, Mocan I, Halary F, de Saint-Basile G, et al. Control of Plasmodium falciparum erythrocytic cycle: γδ T cells target the red blood cell-invasive merozoites. Blood. 2011;118(26):6952-62.
25. McInturff JE, Wang SJ, Machleidt T, Lin TR, Oren A, Hertz CJ, et al. Granulysin-derived peptides demonstrate antimicrobial and anti-inflammatory effects against Propionibacterium acnes. J Invest Dermatol. 2005;125(2):256-63.
26. Lim HS, Chun SM, Soung MG, Kim J, Kim SJ. Antimicrobial efficacy of granulysin-derived synthetic peptides in acne vulgaris. Int J Dermatol. 2015. Jan 20. doi: 10.1111/ijd.12756. [Epub ahead of print]
27. da Silva AP, Unks D, Lyu SC, Ma J, Zbozien-Pacamaj R, Chen X, et al. In vitro and in vivo antimicrobial activity of granulysin-derived peptides against Vibrio cholerae. J Antimicrob Chemother. 2008;61(5):1103-9.
28. Saigusa S, Ichikura T, Tsujimoto H, Sugasawa H, Majima T, Kawarabayashi N, et al. Serum granulysin level as a novel prognostic marker in patients with gastric carcinoma. J Gastroenterol Hepatol. 2007;22(8):1322-7.
29. Huang LP, Lyu SC, Clayberger C, Krensky AM. Granulysin-mediated tumor rejection in transgenic mice. J Immunol. 2007;178(1):77-84.
30. Aporta A, Catalan E, Galan-Malo P, Ramirez-Labrada A, Perez M, Azaceta G, et al. Granulysin induces apoptotic cell death and cleavage of the autophagy regulator Atg5 in

human hematological tumors. Biochem Pharmacol. 2014;87(3):410-23.

31. Chang CJ, Chen YY, Lu CC, Lin CS, Martel J, Tsai SH, et al. Ganoderma lucidum stimulates NK cell cytotoxicity by inducing NKG2D/NCR activation and secretion of perforin and granulysin. Innate Immun. 2014;20(3):301-11
32. Li Q, Kobayashi M, Wakayama Y, Inagaki H, Katsumata M, Hirata Y, et al. Effect of phytoncide from trees on human natural killer cell function. Int J Immunopathol Pharmacol. 2009;22(4):951-9.
33. Li Q, Nakadai A, Matsushima H, Miyazaki Y, Krensky AM, Kawada T, et al. Phytoncides (wood essential oils) induce human natural killer cell activity. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2006;28(2):319-33.
34. Ikezoe K, Ohshima S, Osoegawa M, Tanaka M, Ogawa K, Nagata K, et al. Expression of granulysin in polymyositis and inclusion-body myositis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006;77(10):1187-90.
35. Raychaudhuri SP, Jiang WY, Raychaudhuri SK, Krensky AM. Lesional T cells and dermal dendrocytes in psoriasis plaque express increased levels of granulysin. J Am Acad Dermatol. 2004;51(6):1006-8.
36. Abe R, Yoshioka N, Murata J, Fujita Y, Shimizu H. Granulysin as a marker for early diagnosis of the Stevens-Johnson syndrome. Ann Intern Med. 2009;151(7):514-5.
37. Yamasaki O, Morizane S, Aochi S, Ogawa K, Oono T, Iwatsuki K. Granulysin-producing cytotoxic T cells in the mucocutaneous lesions of Behcet disease: a distinct inflammatory response from erythema nodosum. Clin Exp Dermatol. 2011;36(8):903-7.
38. Ammar M, Mokni M, Boubaker S, El Gaied A, Ben Osman A, Louzir H. Involvement of granzyme B and granulysin in the cytotoxic response in lichen planus. J Cutan Pathol. 2008;35(7):630-4.
39. Nakashima A, Shiozaki A, Myojo S, Ito M, Tatematsu M, Sakai M, et al. Granulysin produced by uterine natural killer cells induces apoptosis of extravillous trophoblasts in spontaneous abortion. Am J Pathol. 2008;173(3):653-64.
40. Ono S, Otsuka A, Yamamoto Y, Kataoka TR, Koyanagi I, Miyachi Y, et al. Serum granulysin as a possible key marker of the activity of alopecia areata. J Dermatol Sci. 2014;73(1):74-9.
41. Nagasawa M, Isoda T, Itoh S, Kajiwara M, Morio T, Shimizu N, et al. Analysis of serum granulysin in patients with hematopoietic stem-cell transplantation: its usefulness as a marker of graft-versus-host reaction. Am J Hematol. 2006;81(5):340-8.
42. Saito N, Abe R, Yoshioka N, Murata J, Fujita Y, Shimizu H. Prolonged elevation of serum granulysin in drug-induced hypersensitivity syndrome. Br J Dermatol. 2012;167(2):452-3.
43. Sakai M, Ogawa K, Shiozaki A, Yoneda S, Sasaki Y, Nagata K, et al. Serum granulysin is a marker for Th1 type immunity in pre-eclampsia. Clin Exp Immunol. 2004;136(1):114-9.
44. Li Q, Kawada T. The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells. Cell Mol Immunol. 2006;3(3):171-8.
45. Li Q, Kobayashi M, Kawada T. Effect of ziram on natural killer, lymphokine-activated killer, and cytotoxic T lymphocyte activity. Arch Toxicol. 2012;86(3):475-81.