

## Czynnik martwicy guza i jego rola w przewlekłej białaczce limfocytowej (PBL)

Ewa Wąsik-Szczepanek

Acta  
Haematologica  
Polonica;  
43 (2a): 146–149

### STRESZCZENIE

Czynnik martwicy nowotworu (TNF) jest cytokiną o wielokierunkowej aktywności biologicznej. Fizjologicznie odgrywa istotną rolę w procesach obronnych, zapalnych, różnicowaniu komórek. W warunkach patologicznych odpowiedzialny jest za występowanie gorączki, wyniszczenia, sepsy. Wielu autorów sugeruje rolę TNF w progresji przewlekłej białaczki limfocytowej.

**Słowa kluczowe:** czynnik martwicy nowotworu, przewlekła białaczka limfocytowa

### ABSTRACT

Tumor necrosis factor (TNF) is a cytokine with multidirectional biological activity. TNF plays a physiological role in host defense, inflammation, and cell differentiation and a pathological role in diverse conditions such as fever, cachexia, septic shock, rheumatoid arthritis. A lot of authors suggest that TNF is involved in the progression of chronic lymphocytic leukemia.

**Key words:** tumor necrosis factor, chronic lymphocytic leukemia

© by Polskie Towarzystwo Hematologów  
i Transfuzjologów  
i Instytut Hematologii i Transfuzjologii

Otrzymano: 6.04.2012  
Zaakceptowano: 14.04.2012

Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku  
Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. Anna Dmoszyńska

Autorka nie zgłasza konfliktu interesu

Adres do korespondencji:  
Dr Ewa Wąsik-Szczepanek  
Katedra i Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
ul. Staszica 11  
20-081 Lublin  
tel. 0815340214  
fax 0815345605  
e-mail: ewawsz@poczta.onet.pl

Czynnik martwicy guza (*tumor necrosis factor*; TNF), odkryty przez Lloyda w 1975 r., definiuje dwie ściśle związane ze sobą cytokiny, kodowane jednak przez dwa różne geny. Pierwsza z nich to czynnik martwicy guza TNF- $\alpha$ , nazywany również kachektyną, czynnikiem indukującym różnicowanie (*differentiation inducing factor*; DIF) i TNFSF2 (TNF *superfamily member 2*), drugą zaś jest czynnik martwicy guza TNF- $\beta$  (limfotoksyna). Obydwie oddziałują na te same błonowe receptory. TNF- $\alpha$  jest wielokierunkowo działającą cytokiną, której efekt działania zależy zarówno od jej stężenia, jak i rodzaju komórek efektorowych [1]. Na aktywność TNF- $\alpha$  wpływa szereg różnych czynników regulacyjnych, zarówno o działaniu stymulatorów, jak i inhibitorów [2]. Jest syntetyzowany przez makrofagi oraz inne komórki w odpowiedzi na toksyny bakteryjne oraz inne bodźce stymulujące. W celu wykrycia TNF- $\alpha$  w próbkach biologicznych wykorzystuje się trzy różne „biologiczne aktywności” cytokiny: cytotoksyczność przeciwko komórkom guza, supresję lipazy lipoproteinowej adipocytów (*adipocyte lipoprotein lipase*; LPL) oraz redukcję spoczynkowego potencjału błonowego miocytów (Em). Gen dla TNF- $\alpha$  zlokalizowany jest na krótkim ramieniu chromosomu 6 w obrębie genów głównego układu zgodności tkankowej MCH (*major histopatibility complex*). Fizjologicznie transkrypcję genu stwierdza się głównie w makrofagach i monocytach, ale

również może być stwierdzona w komórkach NK, limfocytach B i T, neutrofilach, osteoblastach, astrocytach, komórkach tucznych, fibroblastach i keranocytach [3]. W stanach patologicznych wykazują ją m. in. białaczkowe limfocyty w przewlekłej białaczce limfocytowej, białaczce włochatokomórkowej, komórki czerniaka, raka gruczołu krokowego, raka jajnika, nerki i trzustki [4]. Region promotory dla TNF- $\alpha$  charakteryzuje się znacznym polimorfizmem, w związku z czym obserwuje się różny poziom wytwarzania tej cytokiny u ludzi [2, 5]. Gen odpowiedzialny jest za kodowanie prohormonu, będącego polipeptydem o masie 26 kDa, znajdującym się w błonie komórkowej [6–8]. W odpowiedzi na działanie endotoksyn bakteryjnych (lipopolisacharydów, LPS) lub innych czynników stymulujących, dochodzi do proteolitycznego rozszczepienia w polipeptydową podjednostkę o masie 17k Da [9, 10]. Następnie, trzy monomery niekowalencyjnymi wiązaniami łączą się w trimer, dominującą bioaktywną formę obecną w surowicy krwi oraz innych płynach ustrojowych [11, 12]. Na błonach komórkowych komórek, z wyjątkiem erytrocytów, znajdują się dwa receptory dla TNF- $\alpha$ , różniące się stopniem glikozydacji (TNF-R1 i TNF-R2), o podobnym powinowactwie, lecz indukujące odrębne szlaki sygnalizacyjne [13, 14]. Receptor TNF-R1 o masie cząsteczkowej 55 kDa przeważa ilościowo na komórkach pochodzenia nabłonkowego, natomiast receptor

TNF-R2 o masie cząsteczkowej 75 kDa występuje najczęściej na komórkach pochodzenia szpikowego [15, 16]. Białaczkowe limfocyty B wykazują ekspresję obydwu receptorów, z których TNF-R2 wydaje się odgrywać rolę dominującą [17]. W surowicy oraz moczu chorych z różnymi schorzeniami, w tym nowotworowymi, w przebiegu sepsy, AIDS wykrywane są fragmenty obydwu receptorów (*TNF-binding proteins*; TNF-BPs) [18–20]. Interesująca jest biologiczna rola TNF-BPs. W niektórych przypadkach hamują one aktywność TNF- $\alpha$  poprzez uniemożliwienie interakcji receptor–ligand, w innych zaś mogą wydłużać lub wzmacniać jego aktywność poprzez stabilizację trimerycznej struktury cytokiny, zapobiegając tym samym usunięciu jej z surowicy [21, 22]. Zdaniem niektórych, autorów wydzielanie TNF-BPs występuje podczas nadmiernej produkcji cytokiny, chroniąc tym samym przed wystąpieniem efektów toksyczności. W przebiegu chorób nowotworowych TNF- $\alpha$  odpowiedzialny jest za kacheksję. Wydłużona ekspozycja na TNF- $\alpha$  powoduje utratę białek, tłuszczów, masy krwinek czerwonych oraz insulinooporność [23, 24].

U chorych z PBL obserwuje się wzrost poziomu TNF- $\alpha$  w surowicy krwi [25–28]. Przeprowadzone badania wykazały w warunkach *in vitro* wydzielanie TNF- $\alpha$  przez komórki białaczkowe, przy jednoczesnym znaczącym wpływie na ich proliferację i wzrost żywotności [29, 30]. Istnieją jednak również doniesienia, że TNF- $\alpha$  może zarówno pobudzać, hamować bądź też nie wywierać żadnego wpływu na proliferację limfocytów w PBL [29–32]. Związane jest to najprawdopodobniej z możliwością jednoczesnego pobudzania mechanizmów odpowiedzialnych za przeżycie i śmierć komórki [33]. U chorych z PBL i z wysokim stężeniem TNF- $\alpha$  stwierdzano istotnie niższe stężenie hemoglobiny w surowicy krwi. Z jednej strony, tłumaczono to infiltracją szpiku, jakkolwiek zwracano również uwagę na fakt, że nie w każdym przypadku masywnego zajęcia szpiku przez komórki białaczkowe dochodzi do wystąpienia niedokrwistości. Może być ona bowiem również obserwowana nawet przy stosunkowo niewielkiej liczbie obecnych w nim nowotworowych limfocytów [34, 35]. Tspora i wsp., oceniając stopień nacieczenia szpiku u chorych zarówno z prawidłowym, jak i obniżonym poziomem hemoglobiny, znaleźli ujemną korelację między tymi parametrami, ale równocześnie nie stwierdzili istotnych różnic w liczbie komórek CD34+ oraz komórek prekursorowych układu erytroidalnego w obydwu grupach. Biorąc pod uwagę możliwy efekt supresyjny TNF na komórki linii erytroidalnej, potwierdzili znacznie podwyższone stężenie tej cytokiny w surowicy krwi u chorych na PBL oraz wykazali istotnie statystycznie wyższe jej wartości u chorych z niedokrwistością, podobnie jak

uczynili to wcześniej Capalbo i wsp. [36, 37]. Supresyjny efekt działania TNF- $\alpha$  na komórki linii erytroidalnej opisywali również w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* w grupie chorych leczonych TNF- $\alpha$  w długim okresie Ferrajoli i wsp. oraz Ulich i wsp. [38, 39]. Ścisły związek pomiędzy wysokim stężeniem cytokiny w surowicy krwi a niedokrwistością u chorych z PBL może stanowić dowód na jej udział w złożonych interakcjach między komórkami białaczkowymi a prawidłowymi komórkami szpiku kostnego. Przeprowadzone badania wykazały dodatnią korelację między stężeniem TNF- $\alpha$  i całkowitą liczbą białych krwinek, bezwzględna liczbą limfocytów, a przede wszystkim liczbą limfocytów o fenotypie CD19+/CD5+. Zdaniem Jewell i wsp., związek ten może odgrywać rolę w autokrynnym mechanizmie wytwarzania tej cytokiny [40]. Surowicze stężenie TNF- $\alpha$  u chorych z PBL koreluje z uznanymi, niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi, takimi jak wysoka ekspresja CD38 i ZAP-70 na komórkach białaczkowych. Jednocześnie wykazano ścisły jego związek z czasem do rozpoczęcia leczenia pierwszoliniowego oraz z czasem całkowitego przeżycia. Obserwacje te mogą sugerować fakt, że TNF- $\alpha$  bierze udział w progresji PBL. Opisywana jest bowiem zarówno autokrynną, jak i parakrynną sieć obejmująca poza TNF- $\alpha$  także inne cytokiny, takie jak IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 oraz IFN $\gamma$ , odgrywające rolę w rozwoju nowotworów B-komórkowych. Wielu badaczy wskazuje przy tym na możliwość różnorodnego oddziaływania TNF- $\alpha$  na komórki białaczkowe [25, 30, 31, 41]. Sugeruje się bowiem właściwości pobudzające, hamujące bądź nawet brak jakiegokolwiek działania TNF- $\alpha$  na komórki białaczkowe. Nie jest to jednak żadną niespodzianką, gdyż możliwe są jednocześnie mechanizmy wydłużające przeżycie, jak i indukujące śmierć komórek, poprzez zróżnicowany wpływ na apoptozę [33]. Przykładowo TNF- $\alpha$  aktywuje czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B oraz kinazy białkowe (odpowiedzialne za proliferację, różnicowanie i hamowanie apoptozy komórek), a równolegle z udziałem kaspazy 8 szlakiem TRADD-FADD-FLICE indukuje apoptozę [42].

Obserwacje te mogą stanowić podstawę do podejmowania prób poszukiwania i szerszego stosowania specyficznych inhibitorów TNF- $\alpha$ , kontrolujących proliferujące komórki białaczkowe przy jednoczesnej minimalizacji niekorzystnego wpływu na pozostałe linie hematopoetyczne.

#### Piśmiennictwo

1. Weisło G, Szczylik C. Czynniki martwicy nowotworów. W: Cytokiny. Zastosowanie kliniczne. Pod red. WW Jędrzejczaka, M Podolak-Dawidziak. Wrocław, 1997, VOLU-MED, 187–197.
2. Jakóbski M. Odporność nieswoista. Immunologia. Pod

- red. Jakóbiński M. Warszawa 2000, PWN, 169–222.
3. Sariban E, Imamura K, Luebbers R, et al. Transcriptional and postranscriptional regulation of tumor necrosis factor gene expression in human monocytes. *J Clin Invest*, 1988; 81: 1506–1510.
  4. Jabbar SA, Hofbrand AV, Wickremasinghe RG. Defects in signal transduction pathways in chronic B lymphocytic leukemia cells. *Leuk Lymphoma*, 1995; 18: 163–170.
  5. Ugliarolo AM, Turbay D, Pasevento PA., et al. Identification of three new single nucleotide polymorphisms in the human tumor necrosis factor- $\alpha$  gene promoter. *Tissue Antigens*, 1998; 52: 359–367.
  6. Krieger M, Perez C, DeFay K et al. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell*, 1988; 53: 45–53.
  7. Perez C, Albert I, DeFay K et al. A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact. *Cell*, 1990; 63: 251–258.
  8. Jue D-M, Sherry B, Luedke C et al. Processing of newly synthesized cachectin/tumor necrosis factor in endotoxin-stimulated macrophages. *Biochemistry*, 1990; 29: 8371–8377.
  9. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS et al. Human tumor necrosis factor: Precursor structure, expression, and homology to lymphotoxin. *Nature*, 1984; 312: 724–729.
  10. Davis JM, Narachi MA, Alton K, Arakawa T. Structure of human tumor necrosis factor- $\alpha$  derived from recombinant DNA. *Biochemistry*, 1987; 26: 1322–1326.
  11. Smith RA, Baglioni C. The active form of tumor necrosis factor is a trimer. *J Biol Chem*, 1987; 262: 6951–6954.
  12. Jones EY, Stuart DI, Walker NP. Structure of tumour necrosis factor. *Nature*, 1989; 338: 225–228.
  13. Smith CA, Davis T, Anderson D et al. A receptor for tumor necrosis factor defines an unusual family of cellular and viral proteins. *Science*, 1990; 248: 1019–1023.
  14. Thoma B, Grell M, Pfizenmaier K, Scheurich P. Identification of a 60-kD tumor necrosis factor (TNF) receptor as the major signal transducing component in TNF responses. *J Exp Med* 1990; 172: 1019–1023.
  15. Kokot T, Muc-Wierzgoń M, Zubelewicz B, i wsp. Rozpuszczalne receptory czynnika martwicy nowotworów – ich właściwości i znaczenie w diagnostyce i terapii schorzeń o przebiegu ostrym i przewlekłym. *Post Hig Med Dośw*, 2000; 54: 585–596.
  16. Koszałka P, Bigda J. Wpływ czynnika martwicy nowotworu (TNF) na łożysko naczyniowe nowotworów. *Post Biol Kom*, 2001, 28: 351–372.
  17. Waage A, Espevik T. TNF receptors in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*, 1994; 13: 41–46.
  18. van Zee KJ, Kohno T, Fischer E et al. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor- $\alpha$  in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad USA*, 1992; 89: 4845–4849.
  19. Aderka D, Engelmann H, Hornik V. Increased serum levels of soluble receptors for tumor necrosis factor in cancer patients. *Cancer Res*, 1991; 51: 5602–5607.
  20. Ashkemazi A, Marsters SA, Capon DJ. Protection against endotoxic shock by a tumor necrosis factor receptor immunoadhesin. *Proc Natl Acad Sci*, 1991; 88: 10535–10539.
  21. Bemelmans MHA, Gouma DJ, Buurman WA. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol*, 1993; 150: 2007–2017.
  22. Aderka D, Engelmann H, Maor Y et al. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors *J Exp Med*, 1992; 175: 323–329.
  23. Tracey KJ, Wei H, Manogue KR et al. Cachectin/tumor necrosis factor induces cachexia, anemia, and inflammation. *J Exp Med*, 1988; 167: 1211–1227.
  24. Tracey KJ, Morgello S, Koplin B et al. Metabolic effects of cachectin/tumor necrosis factor are modified by site of production: Cachectin/tumor necrosis factor-secreting tumor in skeletal muscle induces chronic cachexia, while implantation in brain induces predominately acute anorexia. *J Clin Invest*, 1990; 86: 2014–2024.
  25. Foa R, Massaia M, Cardona S et al. Production of tumor necrosis factor- $\alpha$  by B-cell chronic lymphocytic leukemia cells: a possible regulatory role of TNF in the progression of the disease. *Blood*, 1990; 76: 393–400.
  26. Ferrajoli A, Keating MJ, Manshouri T. et al. The clinical significance of tumor necrosis factor- $\alpha$  plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2002; 100: 1215–1219.
  27. Adami F, Guarini A, Pini M, Siviero F, Sancetta R, Massaia M, et al. Serum levels of tumour necrosis factor- $\alpha$  in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Cancer*, 1994; 30A: 1259–1263.
  28. Bojarska-Junak A, Hus I, Wasik Szczepanek E, et al. Peripheral blood and bone marrow TNF and TNF receptors in early and advanced stages of B-CLL in correlation with ZAP-70 protein and CD38 antigen. *Leukemia Research*, 2008; 32: 225–233.
  29. Foa R, Massaia M, Cardona S, et al. Production of tumor necrosis factor- $\alpha$  by B-cell chronic lymphocytic leukemia cells: a possible regulatory role of TNF in the progression of the disease. *Blood*, 1990; 76: 393–400.
  30. Digel W, Stefanic M, Schoniger W, et al. Tumor necrosis factor induces proliferation of neoplastic B cells from chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1989; 73: 1242–1246.
  31. Cordingley FT, Bianchi A, Hoffbrand AV et al. Tumour necrosis factor as an autocrine tumour growth factor for chronic B-cell malignancies. *Lancet*, 1988; 1: 969–971.
  32. Trentin L, Zambello R, Agostini C et al. Expression and regulation of tumor necrosis factor, interleukin-2, and hematopoietic growth factor receptors in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1994; 84: 4249–4256.
  33. Rath PC, Aggarwal BB. TNF-induced signaling in apoptosis. *J Clin Immunol*, 1999; 19: 350–364.
  34. Pangalis GA, Roussou PA, Kittas C, et al. Patterns of bone marrow involvement In chronic lymphocytic leukemia and

- small lymphocytic (well differentiated) non-Hodgkin's lymphoma. Its clinical significance in relation to their differential diagnosis and prognosis. *Cancer*, 1984; 54: 702-708.
35. Pangalis GA, Vassilakopoulos TP, Dimopoulou MN, et al. B-chronic lymphocytic leukemia: practical aspects. *Hematol Oncol*, 2002; 20: 103-146.
36. Capalbo S, Battista C, Delia M, Ciancio A, et al. Evaluation of tumor necrosis factor- $\alpha$  and erythropoietin serum levels in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients with anemia. *Acta Haematol*, 2002; 108: 84-89.
37. Tsopra OA, Ziros PG, Lagadinou ED, et. al. Disease-Related Anemia in Chronic Lymphocytic Leukemia Is Not Due to Intrinsic Defects of Erythroid Precursors: A Possible Pathogenetic Role for Tumor Necrosis Factor-Alpha. *Acta Haematol*, 2009;121:187-195.
38. Ferrajoli A, Talpaz M, Kurzrock R, et al. Analysis of the effects of tumor necrosis factor inhibitors on human hematopoiesis. *Stem Cells*, 1993; 11: 112-119.
39. Ulich TR, Shin SS, del Castillo J. Haematologic effects of TNF. *Res Immunol*, 1993; 144: 347-354.
40. Jewell AP, Worman CP, Giles FJ, et. al. Serum levels of TNF, IL-6 and sCD23 correlate with changes in lymphocyte count in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia receiving interferon-alpha therapy. *Leukemia Lymphoma*, 1997; 24: 327-333.
41. Waage A, Liabakk N, Lien E, et. al. p55 and p75 tumor necrosis factor receptors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1992; 80: 2577-2583.
42. Yeh WC, Hakem R, Woo M, et. al. Gene targeting in the analysis of mammalian apoptosis and TNF receptor superfamily signaling. *Immunol Rev*, 1999; 169: 283-302.