

## Rola cytokin w procesach nowotworzenia

Magdalena Chechlińska

*Cytokiny są białkowymi mediatorami międzykomórkowymi, odgrywającymi kluczową rolę w procesach proliferacji, różnicowania, migracji i apoptozy komórek. Są regulatorami reakcji odpornościowych i zapalnych, procesów rozwoju, regeneracji i utrzymania homeostazy tkanek. Ich źródłem są różne typy komórek. Charakteryzuje je pleiotropowość działania. Produkcja, uwalnianie i oddziaływanie cytokin tworzy skomplikowaną sieć wzajemnych zależności, które determinują efekty biologiczne ich działania.*

*Wiele dowodów wskazuje na udział cytokin w patogenezie nowotworów. Cytokiny uczestniczą we wszystkich etapach nowotworzenia. Zmieniona ekspresja wielu cytokin oraz receptorów powierzchniowych i komponentów wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych cytokin w komórkach nowotworowych powoduje, że różnego typu cytokiny stają się autokrynnymi i parakrynnymi czynnikami wzrostu i przeżycia tych komórek. Ponadto cytokiny indukują zmiany w mikrośrodowisku guza, sprzyjające jego rozwojowi, biorą udział w inwazji i tworzeniu przerzutów odległych. Są ważnymi mediatorami typowej w nowotworach immunosupresji.*

*Niniejszy artykuł przeglądowy przedstawia udział cytokin w wielostopniowym procesie rozwoju nowotworów. Omówiono ich rolę jako autokrynnych i parakrynnych czynników wzrostu, nieaktywnych czynników antyproliferacyjnych i czynników przeżycia komórek nowotworowych oraz mediatorów angiogenezy, inwazji, rozsiewu nowotworów i immunosupresji. Szczególną uwagę poświęcono występującym w miarę progresji nowotworów zmianom uwalniania cytokin w środowisku nowotworów oraz zmianom ich aktywności w kierunku oddziaływań promujących procesy nowotworowe.*

*Badania nad cytokinami stanowią ważny element w zrozumieniu mechanizmów procesu nowotworzenia i pokazują, że wszelkie próby interwencji klinicznej z użyciem cytokin powinny być oparte o głębokie rozeznanie promujących i hamujących oddziaływań cytokin na wzrost nowotworów.*

### The role of cytokines in carcinogenesis

*Cytokines comprise a large family of protein intercellular mediators that play key roles in cell proliferation, differentiation, migration and apoptosis. These molecules regulate development, immunity, inflammation and repair, as well as general tissue homeostasis. Cytokines can be produced by virtually all cell types. Pleiotropy and redundancy characterise their effects. The complicated network of interactions between different cytokines and responding cells determines their biological effect. A large body of evidence points to the important role of cytokines in the pathogenesis of cancer. Cytokines contribute to all stages of carcinogenesis. Due to the altered expression of cytokines and cytokine receptors, as well as the disruption of intracellular signalling pathways in cancer cells, many different cytokines became autocrine and paracrine growth and survival signals for these cells. In addition, cytokines induce changes in the tumour microenvironment favouring tumour growth and invasion, and contribute to metastasis and host immunosuppression.*

*This review will outline the action of some endogenous cytokines in the multistep process of tumour development, namely their role as autocrine and paracrine growth factors, ineffective antiproliferative factors, survival factors, and mediators of angiogenesis, invasion, metastatic spread and immunosuppression. Particular emphasis will be placed on the loss of cytostatic/cytotoxic/anti-neoplastic cytokine activities in favour of tumour-promoting capabilities, with the progression of cancer. Cytokine research has generated a rich body knowledge regarding mechanisms of oncogenesis and has shown that clinical applications of cytokines require a profound recognition of their effects in vivo.*

**Słowa kluczowe:** cytokiny, nowotwory, mikrośrodowisko guzów nowotworowych, progresja nowotworów, immunosupresja  
**Key words:** cytokines, cancer, tumour microenvironment, tumour progression, immunosuppression

## Wstęp

Cytokiny stanowią rodzinę białkowych mediatorów międzykomórkowych, regulujących procesy wzrostu komórek, ich różnicowania, migracji i apoptozy. Odgrywają kluczową rolę w reakcjach odpornościowych, reakcjach zapalnych, w procesach rozwoju, regeneracji i utrzymania homeostazy tkanek. Charakteryzują się wysoką aktywnością w niskich stężeniach. W warunkach fizjologicznych występują miejscowo lub w płynach ustrojowych, zazwyczaj w niewielkich ilościach. Produkowane są przez wiele typów komórek i oddziałują plejotropowo. Różne cytokiny mogą wywoływać takie same efekty biologiczne. Poszczególne cytokiny mogą przejawiać różną aktywność, często przeciwstawną, w zależności od ich źródła, od typu i stopnia zróżnicowania komórek docelowych, a także środowiska swojego oddziaływania. Cytokiny tworzą sieć wzajemnych zależności, w której produkcja jednych stymuluje, bądź hamuje produkcję i odpowiedź na drugie.

Pierwotnie zidentyfikowanymi mediatorami międzykomórkowymi były interleukiny (IL) - regulatory wzrostu, różnicowania i funkcji leukocytów. Na podstawie ich pochodzenia klasyfikowano je wówczas jako limfokiny - uwalniane przez limfocyty i monokiny - uwalniane przez monocyty. Szerszym pojęciem cytokin objęto później, obok interleukin, których do chwili obecnej poznano 29, także czynniki krwiotwórcze, różne czynniki wzrostowe i chemokiny. Do cytokin zalicza się obecnie kilkaset czynników o różnorodnym pochodzeniu komórkowym i zróżnicowanych funkcjach. Często stosowany podział cytokin odnosi się do ich pierwotnie poznanych i najlepiej zbadanych aktywności, np. cytokiny prozapalne, proangiogenne, inhibitorowe, hematopoetyczne czy chemotaktyczne.

Cytokiny oddziałują na komórki poprzez odpowiednie receptory powierzchniowe, które przekazują sygnał do wnętrza komórki. Ekspresja receptorów cytokin zależy od typu i stopnia zróżnicowania komórek, może być konstytutywna lub indukowana. Receptory mogą być uwalniane z powierzchni komórek i niektóre w tej postaci mogą łączyć się z ligandem. Powstanie takich kompleksów może obniżyć bądź stymulować oddziaływanie cytokin.

Stale rosnąca wiedza na temat cytokin i ich receptorów wskazuje na ich istotną rolę w rozwoju nowotworów. Guzy nowotworowe są złożoną strukturą, zawierającą poza komórkami nowotworowymi także fibroblasty, komórki śródbłonna, komórki odczynowe i elementy macierzy pozakomórkowej. Cytokiny odgrywają kluczową rolę we wzajemnych oddziaływaniach poszczególnych składników mikrośrodowiska guzów nowotworowych - wpływają na wzrost i przeżycie komórek nowotworowych, regulują naciekanie guzów nowotworowych przez leukocyty, stymulują powstawanie nowych naczyń krwionośnych, biorą udział w kształtowaniu macierzy pozakomórkowej i w wielostopniowym procesie tworzenia przerzutów odległych oraz regulują odpowiedź immunologiczną.

Niniejszy artykuł przedstawia obecne poglądy na temat udziału cytokin w mechanizmach progresji nowotworów.

## Cytokiny jako autokrynne i parakrynne czynniki wzrostu komórek nowotworowych

Komórki nowotworowe charakteryzują się zdolnością zapewniania sobie stałych sygnałów wzrostowych. Mają zdolność syntezy i uwalniania wielu cytokin. Ujawniają receptory powierzchniowe, w tym receptory dla cytokin, nie występujące na komórkach, z których się wywodzą, a ekspresja receptorów, które na komórkach normalnych występują w niewielkich ilościach, jest często podwyższona. Dzięki temu komórki nowotworowe reagują na wiele czynników oddziałujących na drodze autokrynnej i parakrynnej [1]. Innym mechanizmem pobudzania wzrostu komórek nowotworowych są strukturalne zmiany receptorów, jak np. receptora dla EGF (EGFR, receptor dla czynnika wzrostu komórek naskórka, znany też jako HER i c-erbB), powodujące ciągle przekazywanie sygnałów bez wiązania ligandu [2].

W wielu typach nowotworów, zarówno limfoidalnych, jak i nielimfoidalnych, występuje autokrynnny mechanizm pobudzania wzrostu komórek nowotworowych przez cytokiny, znane z aktywności prozapalnej, immunosupresyjnej, krwiotwórczej, proangiogennej, chemotaktycznej i innych (Tab. I). Autokrynnne oddziaływanie cytokin stwierdzane jest na ogół w badaniach *in vitro*, na liniach komórek nowotworowych lub w hodowlach komórek izolowanych z guzów. *In vivo*, komórki podlegają przede wszystkim wpływom różnorodnych sygnałów płynących z otoczenia. Liczne doświadczenia, np. na zwierzęcych modelach ludzkich nowotworów, w tym raka skóry [3], stercza [4], okrężnicy [5], pęcherza [6] i trzustki [7] pokazały, że środowisko wzrostu komórek nowotworowych pełni ważną rolę w selekcji złośliwych klonów i w progresji nowotworów. Komórki nowotworów nabłonkowych znajdują się w otoczeniu fibroblastów, komórek odczynowych, komórek śródbłonna i struktur macierzy pozakomórkowej - w środowisku tworzącym zrąb guza [8]. Zrąb guzów nowotworowych wykazuje cechy pobudzenia podobnego do obserwowanego w procesach naprawy uszkodzonych tkanek, charakteryzującego się zmienionym fenotypem fibroblastów, przekształceniami macierzy pozakomórkowej, naciekaniami przez komórki odczynowe, tworzeniem nowych naczyń krwionośnych, podwyższoną aktywnością proteaz oraz nadmiarem biologicznie czynnych cytokin [8-10]. Wiele danych doświadczalnych i klinicznych wskazuje, że takie środowisko sprzyja rozwojowi nowotworów [11, 12]. Przewlekłe stany zapalne o różnorodnej etiologii predysponują do rozwoju nowotworów (Tab. II), a wznowy miejscowe występują ze zwiększoną częstością w miejscu infekcyjnych powikłań pooperacyjnych [13, 14]. Ponadto, jak wykazano w ludzkich nowotworach przeszczepionych zwierzętom doświadczalnym, rany stymulują wzrost guzów pierwotnych i przerzutowych [10, 15]. Zrąb guzów nowotworowych stanowi dla komórek nowotworowych bogate źródło parakrynnnych czynników wzrostu, dla przykładu fibroblasty uwalniają: IL-1, IL-6, IL-8, TGF (transformujący czynnik wzrostu)  $\beta$ , PDGF (płytkowy czynnik wzrostu), bFGF (zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów), IGF (insulinopodobny czyn-

**Tab. I. Synteza cytokin przez komórki nowotworowe i autokrynnne pobudzanie wzrostu**  
(gwiazdką wyróżniono nowotwory, w których autokrynnne pobudzanie wzrostu jest jedynie sugerowane)

Cytokiny	Synteza przez komórki nowotworowe	Piśmiennictwo
prozapalne		
IL-1	rak żołądka, ostra białaczka szpikowa, rak jajnika	[16-18]
IL-6	szpiczak mnogi, rak stercza, rak nerki, rak szyjki macicy, czerniak, chłoniaki B, białaczka szpikowa, rak jajnika, rak okrężnicy, ziarnica złośliwa*	[18-27]
TNF $\alpha$	rak jajnika*	[18, 28]
TNF $\beta$	przewlekła białaczka szpikowa	[29]
immunoregulacyjne		
IL-2	ostra białaczka z komórek T (ATL), czerniak	[30, 31]
IL-10	niskozróżnicowane chłoniaki B, czerniak, ziarnica złośliwa	[24, 32, 33]
IL-13	ziarnica złośliwa	[34]
IL-15	chłoniak z komórek B (EBV), białaczka z komórek B, szpiczak mnogi, ATL	[11, 30]
krwiotwórcze		
G-CSF	rak szyjki macicy*, rak skóry, glejaki, rak żołądka, rak jajnika*, przewlekła białaczka mielomonocytna, rak pęcherza	[3, 35-40]
GM-CSF	przewlekła białaczka mielomonocytna*, rak nerki, rak skóry, glejaki	[3, 22, 36, 41]
M-CSF	rak jajnika, rak piersi*	[42, 43]
proangiogenne		
VEGF	rak żołądka, rak piersi, rak stercza, śródbrzoniak otrzewnej, rak trzustki, białaczki, rak jajnika, czerniak, mięsak Kaposiego	[44-49]
bFGF	czerniak, rak piersi, rak jajnika	[24, 42, 50]
czynniki wzrostu		
PDGF	glejaki, rak piersi, czerniak*, śródbrzoniak otrzewnej*	[11, 51, 52]
TGF- $\alpha$	rak żołądka*, rak jelita*, rak jajnika*	[2, 42, 53]
TGF- $\beta$	rak piersi, rak jajnika, rak okrężnicy, glejak wielopostaciowy	[54]
IGF	rak tarczycy, rak stercza*, rak jelita grubego*, rak płuca*, rak piersi*, rak jajnika*	[55]
chemokiny		
CXCL1,2 i 3	czerniak	[56-58]
CXCL1 i 8 (IL-8)	rak trzustki, rak stercza	[57-58]
CXCL8 (IL-8)	czerniak, mięsak Kaposiego, rak jajnika, rak okrężnicy, rak żołądka, rak wątroby, rak trzustki, raki płaskonabłonkowe głowy i szyi*	[57-60]

Tab. II. Przewlekłe stany zapalne jako predyspozycja do rozwoju nowotworów

Stan zapalny/czynnik etiologiczny	Nowotwory złośliwe
schistosomatoza	rak pęcherza, żołądka, jelita grubego
przewlekłe stany zapalne / (HPV)	rak szyjki macicy
wirusowe zapalenie wątroby / <i>wirus hepatitis B, C</i>	rak wątroby
<i>wirus herpes typ 8</i>	mięsak Kaposiego
zapalenie narządów miednicy mniejszej/ <i>talk, Chlamydia trachomatis</i>	rak jajnika
<i>Helicobacter pylori</i>	rak żołądka
<i>Helicobacter pylori</i>	chłoniak MALT
wrzdziejące zapalenie jelita grubego	rak jelita grubego
przewlekłe zapalenie pęcherzyka żółciowego	rak pęcherzyka żółciowego
niegojące się rany skóry	płaskokomórkowy rak skóry
zapalenie trzustki / <i>alkoholizm</i>	rak trzustki
bronchit / <i>azbest, dym tytoniowy</i>	rak płuca
azbest	śródbłoniak otrzewnej, rak jajnika

Zmodyfikowane według Shacter i Weitzman [11], Balkwill i Mantovani [12], Trent i Kirsner [61]

nik wzrostu), EGF, M-CSF (czynnik wzrostu kolonii makrofagów), GM-CSF (czynnik wzrostu kolonii granulocytów i makrofagów), TNF (czynnik martwicy nowotworów)  $\alpha$  i VEGF (naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu) [62-64]; makrofagi uwalniają: IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$  i IL-10 [65, 66], granulocyty uwalniają wiele różnych chemokin i VEGF [67], limfocyty uwalniają: IL-6 i IL-10 [68], a z macierzy pozakomórkowej pod wpływem enzymów proteolitycznych uwalniane są IGF, TGF $\beta$  i bFGF [62, 64].

### Cytokiny antyproliferacyjne nieaktywne wobec komórek nowotworowych

W utrzymaniu homeostazy uczestniczy wiele sygnałów antyproliferacyjnych. Hamują one wzrost komórek poprzez zatrzymanie komórki w fazie spoczynku lub indukcję różnicowania komórek [69].

Najlepiej poznano mechanizm działania TGF $\beta$  [70], który jest silnym inhibitorem wzrostu normalnych komórek nabłonka i komórek krwiotwórczych. Jego receptory powszechnie występują na wielu typach komórek. Hamujące działanie TGF $\beta$  stwierdzono także w odniesieniu do ludzkich komórek nowotworowych w badaniach *in vitro* (np. komórek linii raka jajnika) i na modelach zwierzęcych (komórki raka jajnika, stercza, trzustki, piersi, glejaków). W miarę progresji nowotworu, zdolność TGF $\beta$  do hamowania wzrostu komórek nowotworowych oraz indukcji apoptozy (por. niżej) zanika [71, 72]. Dzieje się to często poprzez obniżenie ekspresji lub dysfunkcję receptorów TGF $\beta$  typu II (rak żołądka, jajnika, okrężnicy, płaskonabłonkowe raki głowy i szyi, niedrobnokomórkowy rak płuca), a także na skutek mutacji w genach kodujących, białka, biorące udział w przekazywaniu sygnałów TGF $\beta$  [73]. W efekcie TGF $\beta$  może zmienić swoją funkcję i z czynnika antyproliferacyjnego stać się czynnikiem, który pobudza progresję nowotworu, sprzyjając przeżyciu i inwazyjności komórek nowotworowych [74] (por. niżej). Ponadto, wraz z postępowaniem procesu nowotworowego, np.

w raku piersi, następuje autokrynną stymulacja wydzielania coraz większych ilości TGF $\beta$  w formie czynnej (komórki prawidłowe uwalniają TGF $\beta$  w formie latentnej) i aktywacja/uwalnianie proteinaz aktywujących latentną formę TGF $\beta$ , związanego z macierzą pozakomórkową [63]. Innym przykładem zmiany właściwości antyproliferacyjnych w pro-proliferacyjne jest oddziaływanie IL-6, która hamuje wzrost normalnych melanocytów i komórek linii czerniaka, wyprowadzonych z guzów we wczesnym stadium zaawansowania, pobudza natomiast proliferację komórek linii czerniaka, wyprowadzonych z guzów w stadiach zaawansowanych lub z przerzutów [75]. Podobnie działanie hamujące tej cytokiny na wzrost komórek nabłonka płuc i wątroby nie ujawnia się wobec linii komórkowych niedrobnokomórkowego raka płuc i raka wątroby [75].

Niektóre cytokiny oddziałują antyproliferacyjnie, indukując różnicowanie komórek [76]. Ekspresja receptorów dla tych cytokin regulowana jest przez szereg czynników transkrypcyjnych, których mutacje prowadzą do zmian ekspresji białek i w rezultacie hamują dojrzewanie komórek. Mechanizmy typowych dla nowotworów zaburzeń różnicowania komórek najlepiej poznano w ostrej białaczce szpikowej (AML) [77]. W wielu przypadkach AML stwierdzono mutacje genów czynników transkrypcyjnych, w tym takich, które odpowiadają za ekspresję receptorów dla czynników wzrostowych, np. obserwowano mutację genu czynnika transkrypcyjnego PU.1, który odpowiedzialny jest m.in. za ekspresję receptorów dla G-CSF (czynnik wzrostu kolonii granulocytów), GM-CSF i M-CSF. Innym czynnikiem transkrypcyjnym, zmienionym w AML, jest C/EPB $\alpha$ , który kontroluje m.in. ekspresję receptorów dla G-CSF i IL-6. W niektórych przypadkach nowotworów tworzących guzy lite, dysfunkcja czynników transkrypcyjnych spowodowana jest obniżeniem ich ekspresji, np. C/EPB $\alpha$  w niedrobnokomórkowym raku płuca.

## Cytokiny jako czynniki przeżycia komórek nowotworowych

Zjawisko apoptozy czyli programowanej śmierci komórek dotyczy wszystkich komórek ciała. Jest niezbędne w rozwoju osobniczym i utrzymaniu homeostazy ustroju [78]. Na drodze apoptozy usuwane są komórki zagrażające integralności organizmu, np. efekторы reakcji cytotoksycznych, które spełniły swoją rolę, jak również komórki z uszkodzeniami DNA. Procesy apoptozy stymuluje brak niezbędnych sygnałów wzrostowych (np. niedobór IL-2 dla pobudzonych limfocytów T), niedotlenienie, niedożywienie komórek i uszkodzenie DNA [79]. Proces apoptozy zależy m.in. od aktywacji tzw. sygnałów „śmierci”, które uruchamiają program apoptozy. Takim aktywatorem wśród cytokin może być TNF ( $\alpha$  i  $\beta$ ) [80, 81], ligand Fas (FasL, białko należące do nadrodziny TNF, znane też jako ligand CD95 i ligand Apo-1) [82, 83], czy opisany wyżej TGF $\beta$ . W wielu nowotworach udowodniono jednak upośledzenie szeregu elementów wewnątrzkomórkowych szlaków apoptozy, co prowadzi do zmiany efektów oddziaływania tych cytokin [81]. Na przykład TNF w szpiczaku mnogim działa antyapoptotycznie [84]. Sygnały antyapoptotyczne, określane też jako sygnały „przeżycia”, stanowią przeciwwagę dla sygnałów apoptozy [1]. Cytokiny są sygnałami przeżycia w wielu nowotworach. EGF, jak pokazano na komórkach linii raka piersi [85], dostarcza sygnał chroniący komórki przed apoptozą indukowaną przez TRAIL (TNF Related Apoptosis Inducing Ligand). Aktywacja receptora dla EGF, którego podwyższoną ekspresję stwierdzono na wielu typach komórek nowotworowych - raka stercza, piersi, żołądka, jelita grubego, pęcherza, trzustki i glejaków mózgu, prowadzi m.in. do zahamowania procesu apoptozy [2, 86]. Ponadto, strukturalnie zmieniony receptor dla EGF, jaki występuje na komórkach raka mózgu, płuca, stercza, żołądka przekazuje sygnał do wnętrza komórki bez wiązania ligandu [2]. Innymi czynnikami przeżycia są insulinopodobne czynniki wzrostu. Wysokie poziomy IGF1 i 2 w surowicy krwi korelują ze zwiększonym ryzykiem raka piersi, stercza, okrężnicy, płuca. Receptor dla IGF1 ulega zwiększonej ekspresji na komórkach wielu linii nowotworowych, a liczba receptorów dla IGF uważana jest za ważną determinantę przeżycia komórek [55]. IL-3 i IL-4 są sygnałami przeżycia w nowotworach limfoidalnych. Zwiększona ekspresja receptorów dla IL-3 występuje np. na komórkach chłoniaków ziarniczych [1]. IL-4 hamuje apoptozę w białaczkach typu

B [87]. W komórkach szpiczaka mnogiego, raka stercza, raka nerki inhibitorem apoptozy jest IL-6 [75].

## Cytokiny jako czynniki proangiogenne

Angiogeneza jest procesem powstawania nowych naczyń krwionośnych, mającym fundamentalne znaczenie, zarówno w procesach fizjologicznych, takich jak embriogeneza, czy gojenie ran, jak i wielu procesach patologicznych, w tym w rozwoju nowotworów.

Według koncepcji Folkmana [88] dla rozwoju guzów litych powyżej 1-2 mm<sup>3</sup> niezbędne jest powstanie nowych naczyń krwionośnych. Zmiany proliferacyjne początkowo nie mają zdolności indukowania angiogenezy, jednak już stosunkowo wcześniej w rozwoju nowotworów taką zdolność można zaobserwować. Powstawanie nowych naczyń krwionośnych stwierdzono już w zmianach przedrakowych w szyjce macicy, piersi, skórze [89]. Wiele danych wskazuje na związek angiogenezy z hypoksją, czyli niedotlenieniem guzów nowotworowych [90]. Komórki, dla prawidłowego zaopatrzenia w tlen i substancje odżywcze, muszą znajdować się w odległości do 100  $\mu$ m od kapilar [1]. Komórki normalne w warunkach niedotlenienia wchodzą na ogół na drogę apoptozy, natomiast komórki nowotworowe mają zdolność przeżycia w suboptymalnych warunkach tlenowych. Hypoksja indukuje w komórkach nowotworowych zmianę ekspresji wielu genów, w tym genów związanych z procesami angiogenezy [90]. Pierwszoplanową rolę w procesach tworzenia nowych naczyń krwionośnych odgrywają cytokiny proangiogenne. Mogą one oddziaływać bezpośrednio na komórki śródbłonna naczyń, pobudzając ich proliferację, migrację, aktywność proteolityczną i różnicowanie [91]. Takie działanie ma np. VEGF, bFGF i IL-8 [91-93], których bogatym źródłem są komórki nowotworowe i inne komponenty guzów nowotworowych (Tab. III). Innym przejawem aktywności proangiogennej cytokin jest ich zdolność do indukcji uwalniania cytokin angiogennych przez różne typy komórek. Np. ekspresja czynników proangiogennych w komórkach nowotworowych jest indukowana przez EGF, HGF/SF (czynnik wzrostu hepatocytów, znany też jako Scatter Factor), IGF, IL-1, IL-6, IL-8, PDGF, TGF i TNF $\alpha$  [93]. W efekcie, przy niezmiennych lub obniżonych poziomach czynników angiostatycznych [1], a taką aktywność spośród cytokin przejawia np. IL-12, IL-18, IFN $\alpha$  i  $\beta$ , a także szereg chemokin: CXCL9/MIG (monokina indukowana przez IFN $\gamma$ ) i IP-10 (białko 10 indukowane przez IFN $\gamma$ ) [56, 57, 91, 94], w guzach nowotworo-

Tab. III. Źródła cytokin proangiogennych w guzach nowotworowych

Źródło	Stymulatory angiogenezy	Piśmiennictwo
komórki nowotworowe	IL-6, VEGF, bFGF, IL-8, PDGF, TGF $\beta$ TNF- $\alpha$ G-CSF	por. Tab. 1
fibroblasty	IL-6, VEGF, bFGF, IL-8, PDGF, TGF $\beta$ TNF- $\alpha$	[8, 10, 62, 64]
komórki śródbłonna naczyń	VEGF, bFGF, IL-6, IL-8	[10, 67, 95]
płytki krwi	VEGF, bFGF	[10]
makrofagi i inne komórki naciekające	IL-6, VEGF, IL-8, PDGF, TGF $\beta$ , IL-4, TNF- $\alpha$	[8, 10, 12, 65-67]
macierz pozakomórkowa	HGF/SF, bFGF, TGF $\beta$	[1, 62-64]

wych powstaje przewaga stymulatorów nad inhibitorami angiogenezy, określana w anglosaskiej literaturze jako „angiogenic switch”. Angiogeny „profil” guzów nowotworowych jest determinowany przez fenotyp komórek nowotworowych z jednej strony i swoistość mikrośrodowiska określonego narządu z drugiej [93]. Dla przykładu, wysokie stężenia IL-6 wywołują nadprodukcję VEGF przez komórki czerniaka [75], IGF-1 - przez komórki raka jelita [74]; ekspresja bFGF w komórkach raka nerki zależy od miejsca zagnieżdżenia przerzutu [93].

Innym mechanizmem pobudzania angiogenezy w guzach nowotworowych jest produkcja proteaz, które mogą uaktywniać stymulatory i inaktywować inhibitory tego procesu. Niektóre proteazy mogą też uwalniać cytokiny proangiogenne, związane z macierzą pozakomórkową (por. Tab. III).

### **Cytokiny jako czynniki wpływające na inwazyjność i tworzenie przerzutów odległych**

Nowotwory złośliwe charakteryzują się zdolnością do inwazji i tworzenia przerzutów odległych. Komórki nowotworowe mogą opuszczać guzy pierwotne i kolonizować odległe tkanki dzięki omówionym wyżej procesom, a także dzięki zdolności do przylegania do elementów macierzy pozakomórkowej i błony podstawnej oraz ich degradacji/modyfikowania, aktywnej migracji, przechodzenia przez ściany naczyń krwionośnych, limfatycznych i jam ciała, implantacji i wzrostu w odległych tkankach [1, 96]. Cytokiny mają znaczący udział we wszystkich tych procesach.

Przyleganie komórek warunkowane jest przez molekuły adhezyjne i integryny. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że szereg cytokin, takich jak:  $TNF\alpha$ ,  $IL-1\alpha$  i  $\beta$ ,  $IFN$  (interferon)  $\beta$  i  $\gamma$ , indukuje zmianę ekspresji molekuł adhezyjnych na powierzchni fibroblastów, a  $TNF$  i  $IL-1$  także na komórkach śródbłonna naczyń [97-99]. Wagę tego oddziaływania pokazały doświadczenia na myszach „knock-out”, które, w związku z brakiem ekspresji  $IL-1\beta$ , nie rozwijają doświadczalnych przerzutów odległych [100]. Z kolei VEGF i  $TGF\beta$  mają zdolność aktywowania na komórkach nowotworowych określonych typów integryn, które sprzyjają inwazyjności, umożliwiając przyleganie komórek nowotworowych do zdegradowanych elementów macierzy pozakomórkowej [101, 102].

W degradacji błony podstawnej i modyfikowaniu macierzy pozakomórkowej pierwszoplanową rolę odgrywają zewnątrzkomórkowe proteazy. Proteazy mogą być uwalniane przez komórki nowotworowe, jednak wiele z nich pochodzi z komórek prawidłowych [1, 63, 65, 103]. Aktywność proteolityczna silnie koreluje z potencjałem tworzenia przerzutów [103]. Zahamowanie aktywności proteinaz MMP (metaloproteinazy związane z macierzą pozakomórkową) hamuje inwazję komórek nowotworowych [103, 104]. Ekspresję proteaz stymuluje bFGF, HGF/SF,  $TNF$  i chemokiny [56, 58, 67, 74]. Chemokiny przyczyniają się do ekspresji proteaz w środowisku wzrostu komórek nowotworowych także pośrednio, oddziałując chemotaktycznie na makrofagi, stanowiące również

ważne źródło proteaz [56, 58, 65].  $IL-8$  indukuje ekspresję proteinaz MMP w komórkach czerniaka i w komórkach raka stercza [56]. VEGF indukuje aktywność metaloproteinaz w raku jajnika [105]. Oddziaływanie metaloproteinaz nie polega jednak wyłącznie na degradacji macierzy pozakomórkowej i fizycznym „torowaniu” drogi migracji komórek. Proteiny mogą także aktywować czynniki wzrostowe lub uwalniać je z macierzy pozakomórkowej [62, 67].

W migracji komórek nowotworowych ważną rolę odgrywają EGF, HGF/SF,  $TNF\alpha$  i  $TGF\beta$  [74, 103, 104, 106]. W wielu nowotworach, jak już wspomniano wyżej, stwierdzono zwiększoną ekspresję receptora dla EGF, który posiada kilka ligandów, w tym EGF i  $TGF\alpha$ . Poziom ekspresji EGFR koreluje z progresją i inwazyjnością. Na przykład większość inwazyjnych glejaków, komórek raka pęcherza i żołądka ma podwyższoną ekspresję EGFR w porównaniu do zmian nieinwazyjnych, a spośród linii komórkowych raka płuca fenotyp inwazyjny mają tylko linie z ekspresją receptora EGF. Z kolei inhibitory EGFR hamują inwazyjność komórek raka pęcherza, stercza i piersi [2, 74, 104, 106]. Kierunek migracji komórek nowotworowych determinują czynniki o aktywności chemotaktycznej, takie jak EGF i  $TGF\beta$  - uwalniane przez zdegradowaną macierz pozakomórkową, HGF/SF - produkowany przez fibroblasty, czy chemokiny [58, 70, 71, 103].

Interakcja pomiędzy komórkami nowotworowymi a komórkami śródbłonna i przechodzenie komórek nowotworowych przez ściany naczyń jest kluczowym etapem rozsiewu nowotworów [1]. Chemokiny, mając obok innych właściwości zdolność modulowania adhezji leukocytów do komórek śródbłonna [107], mogą odgrywać rolę także w przechodzeniu komórek nowotworowych przez ścianę naczyń krwionośnych. W badaniach komórek raka okrężnicy wykazano, że ekspresja  $IL-8$  koreluje ze zdolnością do tworzenia przerzutów oraz że  $IL-8$  na drodze oddziaływań autokrynych i parakrynych wzmacnia przyleganie komórek nowotworowych do komórek śródbłonna naczyń [108]. W komórkach raka jajnika izolowanych z przerzutów stwierdzono wyższą ekspresję  $IL-8$  niż w guzach pierwotnych i w komórkach z wysięków otrzewnowych [109]. Przechodzenie komórek przez ściany naczyń krwionośnych ułatwia ponadto VEGF, który zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych (VEGF zidentyfikowano pierwotnie jako czynnik przepuszczalności naczyń - VPF) [92, 110].

Komórki nowotworowe, które przedostaną się do naczyń, krążą wraz z krwią i mogą zasiedlić narządy odległe. Rozsiew nowotworów wykazuje swoistość narządową, np. rak piersi daje na ogół przerzuty do kości, wątroby i płuc, rak stercza - do kości, rak okrężnicy - do wątroby (Tab. IV). Już w 1889 roku to nieprzypadkowe tworzenie ognisk wtórnych Stephen Paget tłumaczył, przywołując zjawisko rozsiewu roślin, których „ziarna rozsiewają się we wszystkich kierunkach, ale rosnąć i rozwijać się mogą tylko w odpowiedniej glebie” [112]. Ta teoria „ziarna i gleby” („seed and soil”), wyjaśniająca jeden z mechanizmów tworzenia przerzutów w określonych narządach, znajduje potwierdzenie w wynikach współczesnych badań [113].

Tab. IV. Typowe miejsca tworzenia przerzutów wybranych nowotworów

Umiejscowienie pierwotne	Narządy docelowe przerzutów (wg częstości występowania przerzutów)		
	do 30%	30-50%	powyżej 50%
Czerniak	nerki	nadnercza, mózg, kości, skóra	pluco, węzły chłonne wątroby
Jelito grube	mózg, nerki, płuco, skóra	kości, nadnercza, wątroba	węzły chłonne
Gruzoł krokowy	nerki, nadnercza, wątroba, płuco, mózg, skóra	kości	
Jajnik	kości, nadnercza, mózg, skóra, nerki	płuco	
Nerka	mózg, nerka, skóra, kości	wątroba	pluco
Pęcherz	nerki, kości, mózg, skóra	nadnercza, płuco	
Płuco	nerki, płuco	nadnercza, mózg	wątroba
Pierś	nerki, skóra, mózg	nadnercza	kości, płuco
Szyjka macicy	nerki, kości, mózg, skóra	nadnercza, płuco	

Zmodyfikowane według Liotta i Paweletz [103] oraz Weiss [112]

Obecnie wiadomo, że nowe mikrośrodowisko, jakie stanowi dla komórek nowotworowych nowy narząd może wpływać na ekspresję genów w komórkach nowotworowych i determinować ich zdolność do wzrostu [114]. Postulowany jest udział cytokin w tworzeniu mikrośrodowiska, sprzyjającego rozwojowi przerzutów. Komórki raka piersi, które dostaną się do szpiku kości, są pobudzane do wzrostu przez IGF1 [115], raka stercza - przez TGF $\beta$  [116]. Zdolność wzrostu komórek raka jelita i innych w wątrobie może zależeć od ekspresji EGFR na komórkach nowotworowych i jego ligandów (np. TGF $\alpha$ ) w nowym środowisku [114]. Komórki nowotworowe, nie pobudzone do wzrostu w nowym środowisku, pozostaną klinicznie niewykrywalne [117]. Müller i wsp. [118] w badaniach raka piersi i czerniaka wykazali, że chemokiny - czynniki regulujące migrację i zagnieżdżanie się leukocytów w swoistych narządach [119] - spełniają analogiczną rolę wobec komórek nowotworowych w procesie ich rozsiewu. Chemokiny podlegają konstytutywnej ekspresji w tkankach docelowych, mają zdolność promowania adhezji komórek do komórek śródbłonna naczyń i pobudzania migracji przez ściany naczyń, indukują inwazję do tkanek tworzących korzystne mikrośrodowisko dla rozwoju przerzutów, a komórki tworzące przerzuty wykazują ekspresję receptorów tych chemokin, które występują w kolonizowanych tkankach i narządach.

### Cytokiny a immunosupresja

U chorych na nowotwory dobrze udokumentowano zjawisko postępującego upośledzenia układu odpornościowego. Obserwowane u chorych na nowotwory zmiany dotyczą odpowiedzi komórkowej i obejmują zarówno jej swoiste, jak i nieswoiste mechanizmy. Odpowiedź humoralna pozostaje u chorych na nowotwory na ogół bez zmian [120]. Komórki odpornościowe, izolowane z mikrośrodowiska guzów nowotworowych, charakteryzują się często obniżoną cytotoksycznością w stosunku do autologicznych komórek guza, upośledzeniem funkcji cytotoxicznych, obniżoną zdolnością do odpowiedzi proliferacyjnej i migracji *in vitro*. U chorych na zaawansowane nowotwory obserwuje się także upośledzenie funkcji leukocytów obwodowych, np.: upośledzenie reakcji nadwrażli-

wości późnej, odpowiedzi limfocytów na mitogeny, odpowiedzi w mieszanej reakcji limfocytów, występowanie komórek regulatorowych o działaniu hamującym (określanych też jako komórki supresorowe) [120, 121], a także obniżoną reaktywność monocytów na czynniki chemotaktyczne [12], upośledzoną funkcję komórek dendrytycznych [122]. U chorych na nowotwory obserwuje się także ogólnoustrojowe upośledzenie reakcji zapalnych [12].

Podstawy lepszego zrozumienia zjawiska upośledzenia odpowiedzi komórkowej w chorobie nowotworowej stworzyło wyjaśnienie mechanizmu regulacji odpowiedzi swoistej przez komórki T CD4+. W 1986 roku Mosmann i wsp. [123] wykazali na komórkach mysich, że pomocnicze limfocyty T CD4+ („*helper*”), na podstawie uwalnianych przez nie cytokin można podzielić na dwie odrębne populacje - T „*helper*” typu 1 (Th1) i typu 2 (Th2). Jak obecnie wiadomo [124] komórki Th1 produkują głównie duże ilości interferonu  $\gamma$ , TNF $\alpha$  i IL-2 oraz warunkują reakcje immunologiczne zależne od komórek, jak cytotoxiczność komórkowa czy odpowiedź typu opóźnionego. Komórki Th2 są źródłem przede wszystkim IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 i IL-13, które aktywują odpowiedź humoralną. Cytokiny uwalniane przez jeden typ komórek hamują odpowiedź i uwalnianie cytokin przez komórki drugiego typu, a pobudzają komórki będące ich źródłem. Taki mechanizm regulacji skutkuje przesunięciem równowagi w kierunku Th1 lub Th2, tzw. polaryzacją odpowiedzi, prowadzącą do indukcji alternatywnych typów odpowiedzi - komórkowej lub humoralnej. Podział na komórki Th1/Th2 u człowieka nie jest tak jednoznaczny. Niektóre komórki T uwalniają kombinację cytokin Th1/Th2; zidentyfikowano także komórki Th3, uwalniające cytokiny immunosupresyjne: TGF $\beta$ , IL-4 i IL-10. Obecnie określenie Th1/Th2/Th3 stosuje się często w odniesieniu do typu odpowiedzi wyrażonego profilem uwalnianych cytokin, niezależnie od komórek będących ich źródłem [124].

Szereg danych wskazuje, że rozwojowi nowotworów towarzyszy pogłębiająca się polaryzacja odpowiedzi w kierunku Th2 [125]. Na przykład, w badaniach na zwierzętach wykazano, że komórki Th1 mają krytyczne znaczenie w zmniejszeniu masy guza *in vivo*, a w miarę progresji nowotworu następuje przewaga odpowiedzi Th2. Przewagę ekspresji cytokin Th2 w guzach i w limfocytach

naciekających stwierdzono także w nowotworach u człowieka, np. w niedrobnokomórkowym raku płuca, w glejakach i w raku nerki. W raku nerki wykazano, że polaryzacja w kierunku Th2 koreluje ze stopniem zaawansowania i złośliwości histologicznej. Zmiany w produkcji/uwalnianiu cytokin Th1/Th2, polegające na obniżonej ekspresji cytokin typu Th1, a czasem równoległe podwyższonej ekspresji cytokin typu Th2, ujawniają także stymulowane *in vitro* limfocyty krwi obwodowej od chorych na glejaki, raka okrężnicy, pęcherza, głowy i szyi, stercza, piersi, płuca, szyjki macicy i inne nowotwory złośliwe [125].

Zmiany równowagi Th1 vs. Th2/Th3 może indukować nadmiar cytokin Th2/Th3 [124], takich jak IL-6, IL-10 i TGF $\beta$ , powszechnie uwalnianych przez komórki nowotworowe (por. Tab I). Ważną rolę odgrywają także fibroblasty, które mają główny udział w masie guzów litych. Badania ostatnich lat wykazały, że w stanach patologicznych o różnej etiologii fibroblasty regulują rozwój reakcji zapalnej, w formie ostrej lub przewlekłej [126]. Mają zasadniczy wpływ na naciekanie tkanek przez leukocyty oraz na funkcje leukocytów. Fibroblasty guzów nowotworowych określa się jako „fibroblasty związane z nowotworami” (TAF - Tumor Associated Fibroblasts). Mają one fenotyp miofibroblastów lub fibroblastów typu płodowego, indukowany m.in. przez TGF $\beta$ , PDGF, IL-4 i IGF-2 [8, 62, 63]. Są komórkami stale pobudzonymi w środowisku nowotworu i odgrywają ważną rolę w tworzeniu mikrośrodowiska nowotworów o charakterze przewlekłego zapalenia [126], sprzyjającego rozwojowi i progresji nowotworów oraz polaryzacji odpowiedzi w kierunku Th2 [8, 11, 12]. Komórki TAF są źródłem wielu czynników immunosupresyjnych, takich jak IL-6, IL-10, TGF $\beta$ , M-CSF czy prostaglandyny [64]. Główny element nacieków leukocytarnych stanowią makrofagi, komórki zdolne do cytotoksycznych i cytostatycznych oddziaływań wobec komórek nowotworowych. Naciekanie guzów nowotworowych przez makrofagi koreluje z lepszym rokowaniem u chorych na raka żołądka oraz jelita grubego i odbytnicy [65]. Natomiast w raku szyjki macicy, piersi i pęcherza stopień naciekania przez makrofagi koreluje ze złym rokowaniem, w raku jajnika nie stwierdzono zależności pomiędzy naciekaniami przez makrofagi a rokowaniem, a doniesienia na temat korelacji naciekania przez makrofagi z rokowaniem w raku stercza, płuca i guzach mózgu nie dają jednoznacznej odpowiedzi [65]. Powyższe obserwacje kliniczne oraz inne dane pokazują, że funkcje makrofagów w guzach nowotworowych są modyfikowane przez oddziaływanie z komórkami nowotworowymi i elementami zrębu oraz ich produktami [67, 127]. Makrofagi izolowane z guzów nowotworowych są to spolaryzowane makrofagi typu 2, określane jako „makrofagi związane z nowotworami” (Tumour Associated Macrophages, TAM), uwalniające duże ilości IL-10, TGF $\beta$ , IL-1ra i prostaglandyn oraz obniżone ilości IL-12. Charakteryzują się niską cytotoxycnością wobec komórek nowotworowych, obniżoną zdolnością do prezentacji antygenów oraz właściwościami hamującymi aktywację i proliferację limfocytów T [66]. W wielu nowotworach występuje współzależność

między przeżyciem a obecnością limfocytów naciekających guz (TIL - Tumour Infiltrating Lymphocytes), w tym w czerniaku, nerwiaku zarodkowym, w raku piersi, pęcherza, stercza, jajnika oraz w raku jelita grubego i odbytnicy, w którym ponadto wykazano, że to obecność komórek T CD8+ (efektory cytotoxycności swoistej) wpływa na przeżycie [128]. Komórki NK, efektory cytotoxycności nieswoistej, są rzadko spotykane w guzach nowotworowych, a cytokiny Th2/Th3 (IL-4, IL-10 i TGF $\beta$ ) hamują ich funkcje. Podczas gdy w środowisku IL-12 (cytokina typu Th1) komórki NK są zdolne do uwalniania cytokin Th1, w obecności IL-4 mogą być źródłem cytokin Th2 [67].

W badaniach niedrobnokomórkowego raka płuca Katakai i wsp. [129] stwierdzili, że wśród komórek naciekających 2/3 stanowiły limfocyty, w tym 80% limfocytów T, a 1/3 stanowiły komórki TAM. Komórki NK prawie nie występowały, a nieliczne komórki dendrytyczne stwierdzono jedynie w kilku przypadkach. Komórki TAM i TIL charakteryzowały się niskim potencjałem proliferacyjnym i zlokalizowane były głównie w zrębie guzów. Ponad połowa komórek TAM miała zdolność do reakcji ADCC (cytotoxycność zależna od przeciwciał), a 1/3 limfocytów stanowiły cytotoxyczne limfocyty T (CD8+). Jednak komórki nowotworowe, wykazujące ekspresję antygenów MHC klasy I i II, występowały jedynie sporadycznie.

Szereg dowodów wskazuje, że immunosupresja u chorych na nowotwory ma związek z syntezą oraz uwalnianiem cytokin i antygenów powierzchniowych przez komórki nowotworowe i inne komponenty guzów nowotworowych [120].

Cytokiny immunosupresyjne, TGF $\beta$ , IL-10 i VEGF, obecne w nadmiarze w guzach nowotworowych, na drodze różnorodnych mechanizmów hamują swoistą i nieswoistą odpowiedź immunologiczną. TGF $\beta$  jest silnym inhibitorem aktywacji, proliferacji oraz różnicowania swoistych i nieswoistych efektorów cytotoxycności. Hamuje wzrost i aktywność cytotoxyczną komórek NK, makrofagów i limfocytów T. Blokuje przeciwnowotworowe oddziaływanie komórek LAK (Lymphokine Activated Killer) i TIL. Hamuje proliferację limfocytów T i B, zależną od IL-2. Hamuje produkcję cytokin immunoregulacyjnych, np.: produkcję IL-12 przez monocyty i reaktywność komórek na cytokiny. Promuje polaryzację odpowiedzi w kierunku Th2 [71, 130, 131]. IL-10, jedna z kluczowych cytokin immunoregulacyjnych, ma zdolność hamowania produkcji cytokin typu Th1 oraz cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 $\alpha$  i  $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ . Blokuje zależną od monocytów proliferację limfocytów T, hamuje ekspresję MHC klasy II na monocytach, komórkach dendrytycznych i komórkach Langerhansa, a MHC klasy I na komórkach nowotworowych, obniża ekspresję molekuł kostymulacyjnych - B7 na monocytach i CD86 na komórkach dendrytycznych. Promuje różnicowanie monocytów w kierunku makrofagów, a nie komórek dendrytycznych. Stymuluje proliferację i różnicowanie ludzkich limfocytów B [130, 132]. VEGF, cytokina znana przede wszystkim ze swej aktywności proangiogennej, hamuje wzrost komórek T i różnicowanie CTL. Jest, podobnie jak M-CSF,



IL-10 i IL-6, silnym inhibitorem różnicowania komórek dendrytycznych z ich prekursorów i indukuje różnicowanie komórek dendrytycznych typu makrofagowego, niezdolnych do uczulania naiwnych limfocytów T [130, 133, 134].

### Cytokiny a zespoły paranowotworowe

W wielu pracach sugerowany jest związek pomiędzy nadmiarem cytokin, uwalnianych do płynów ustrojowych, a patogenezą zespołów paranowotworowych - szeregu objawów klinicznych, często towarzyszących chorobie nowotworowej. Szczegółowe omawianie tej problematyki wykracza poza ramy niniejszego artykułu, warto jednak zasignalizować, że IL-6 ma związek z gorączką, hiperkalcemią, zespołami zakrzepowymi i kacheksją, IL-1 - z gorączką, hiperkalcemią i trombocytemią, TNF $\alpha$  z gorączką, charłactwem i anemią, IFN $\gamma$  - z charłactwem, a TGF $\alpha$  z rumieniami skórnymi [135-138].

### Podsumowanie i uwagi końcowe

Cytokiny są ważnymi czynnikami homeostazy tkanek. W warunkach infekcji, czy w procesach regeneracji tkanek, uwalnianie cytokin ulega okresowej zmianie. W rozwoju nowotworów dochodzi do zaburzenia produkcji cytokin, pogłębiającego się wraz z zaawansowaniem procesu nowotworowego. Zmienione uwalnianie cytokin charakteryzuje nie tylko komórki nowotworowe, ważnym źródłem cytokin są także pobudzone komponenty zrębu nowotworowego. Cytokiny uczestniczą we wszystkich etapach nowotworzenia. Mogą indukować transformację nowotworową, wywołując uszkodzenia DNA i białek naprawczych [139], biorą udział w inaktywacji białka supresorowego p53 [140], stanowią dla komórek nowotworowych autokrynnne i parakrynnne sygnały wzrostowe i działają antyapoptotycznie, uczestniczą w aktywacji zrębu, kontrolują naciekanie guzów przez leukocyty, stymulują procesy angiogenezy, modulują procesy przylegania komórek, kontrolują migrację i implantację komórek nowotworowych. Mają też udział w patogenezie zespołów paranowotworowych. Są ponadto ważnymi czynnikami immunosupresji. Czy jednak działają wyłącznie przeciw gospodarzowi? Z punktu widzenia biologicznego, biorąc pod uwagę szacunkową częstość mutacji i liczbę komórek w organizmie człowieka, jest – jak określili to Evan i Vousden [82] – „zadziwiające, że nowotwory złośliwe występują jedynie raz na trzy życia”. Podobnie powstawanie przerzutów jest procesem wysoce nieefektywnym i nie zależy od liczby komórek nowotworowych krążących w krwioobiegu [113, 117]. W momencie rozpoznania nowotworu u 30% chorych występują klinicznie wykrywalne przerzuty odległe, a u kolejnych 30-40%, u których w tym czasie przerzutów się nie stwierdza, występują ukryte ogniska przerzutów [103]. Ujawnienie oddziaływań, które nie dopuszczają do rozwoju nowotworów, jest więc zadaniem trudnym, badamy bowiem na ogół stan, w którym nowotwór już istnieje i wykorzystuje swą zdolność do przekształcania otoczenia. Wiadomo jednak, że szereg cytokin

przejawia aktywność przeciwnowotworową, np.: TNF $\alpha$ , zawdzięczający tej aktywności swą nazwę (czynnik martwicy nowotworów), interferony, TGF $\beta$ , IL-4, IL-6 i IL-12 [71, 75, 80, 94, 136]. Ich oddziaływanie cytotoksyczne i cytostatyczne wobec niektórych komórek nowotworowych udowodniono przede wszystkim w hodowlach poza ustrojem i w badaniach na zwierzętach. Stwierdzono również, że działanie przeciwnowotworowe cytokin zależy m.in. od ich stężenia i stopnia różnicowania komórek docelowych. Dla przykładu, TNF $\alpha$  w wysokich stężeniach hamuje wzrost linii ludzkich komórek raka szyjki macicy, natomiast niskie stężenia tej cytokiny działają stymulująco [141]. Wzrost komórek niezaawansowanego raka jajnika i niskozróżnicowanych komórek linii komórkowej ludzkiej białaczki mielomonocytarnej (AML) jest hamowany przez tę cytokinę, podczas gdy komórki zaawansowanego raka jajnika i wysokozróżnicowane komórki AML są przez nią pobudzane [142, 143]. Podobnie oddziaływanie hamujące TGF $\beta$  na komórki niezaawansowanych nowotworów zanika w miarę progresji [71, 72]. Także IL-6, hamująca wzrost linii komórek czerniaka niezaawansowanego i linii wywodzących się z wczesnych stadiów raka stercza, stymuluje komórki linii uzyskanych z tych nowotworów w stadiach zaawansowanych [75].

Aktywność cytokin w dużej mierze zależy także od obecności innych czynników w środowisku ich oddziaływania. Środowisko guzów nowotworowych charakteryzuje przewaga cytokin typu Th2/Th3. W oparciu o paradygmat Th1/Th2 Kourilsky i Truffa-Bachi [144] sformułowali interesującą koncepcję „pól cytokinowych” (*cytokine fields*). Pole cytokinowe definiowane jest przez stężenie różnych cytokin w określonej przestrzeni, w określonym czasie. Komórki, uwalniając cytokiny, tworzą „pole”, które zwrótnie indukuje komórki znajdujące się w jego zasięgu do produkcji cytokin, charakterystycznych dla tego pola. W ten sposób następuje polaryzacja, obejmująca wszystkie reaktywne elementy pola. Spolaryzowane pole generuje polaryzację w swoim otoczeniu, co prowadzi do rozszerzania pola cytokinowego. Pola cytokinowe mogą rozszerzać się także poprzez migrację spolaryzowanych komórek, np. komórek efektorowych, lub poprzez ogólnoustrojowe mediatory, indukujące polaryzację odpowiedzi, np. glukokortykoidy. Cytokiny, uwalniane w nadmiarze do płynów ustrojowych, jak najbardziej spełniać mogą taką funkcję. Badania własne, przeprowadzone w Zakładzie Immunologii Centrum Onkologii w Warszawie, pokazały, że surowice krwi od chorych na raka płuca indukują polaryzację, w kierunku Th2, odpowiedzi normalnych leukocytów, stymulowanych poza ustrojem (dane niepublikowane). Ponadto wykazały, że guz nowotworowy i jego środowisko jest znaczącym źródłem nadmiaru krążących cytokin u chorych na raka jajnika [145]. Teoria rozszerzania spolaryzowanych pól cytokinowych pozwala zrozumieć udział cytokin w ogólnoustrojowych zmianach reakcji odpornościowych i zapalnych oraz w objawach paranowotworowych, towarzyszących chorobie nowotworowej.

Badania klinicznego zastosowania cytokin, nie będące przedmiotem niniejszego artykułu, potwierdzają róż-

norodność ich oddziaływania. Ograniczone zastosowanie budzącej wiele nadziei terapii z użyciem cytokin (uznano np. wartość terapeutyczną interferonu  $\alpha$  w leczeniu CML, białaczek B i T, czerniaka, szpiczaka mnogiego i raka nerki [146]), spowodowane jest nie tylko uzyskiwaniem słabych efektów leczniczych i wysokiej częstości efektów toksycznych, jak w przypadku IL-2, TNF $\alpha$  i IL-12 [94, 143, 147], lecz także występującym pobudzeniem wzrostu guzów nowotworowych, jak w przypadku IL-6 [75].

Świadomość złożoności uwarunkowań oddziaływania cytokin w chorobie nowotworowej i subtelności granicy pomiędzy działaniem hamującym i pobudzającym wzrost nowotworów powinna towarzyszyć wszelkim badaniom klinicznym cytokin.

## Podziękowania

Panu Profesorowi Janowi Steffenowi, dr Sergiuszowi Markowiczowi i dr Janowi Konradowi Siwickiemu oraz mgr Radosławie Nowak gorąco dziękuję za cenne uwagi w trakcie pisania niniejszej pracy.

**Dr Magdalena Chechlińska**  
Zakład Immunologii  
Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie  
ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa  
e-mail: chech@coi.waw.pl

## Piśmiennictwo

- Hanahan D i Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
- Baselga J. Why the epidermal growth factor receptor? The rationale for cancer therapy. *Oncologist* 2002; 7 Suppl 4: 2-8.
- Mueller MM, Peter W, Mappes M i wsp. Tumor progression of skin carcinoma cells *in vivo* promoted by clonal selection, mutagenesis, and autocrine growth regulation by granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Am J Pathol* 2001; 159: 1567-79.
- Chung LW. The role of stromal-epithelial interaction in normal and malignant growth. *Cancer Surv* 1995; 23: 33-42.
- Ogata Y, Hara Y, Akagi Y i wsp. Metastatic model of human colon cancer constructed using orthotopic implantation in nude mice. *Kurume Med J* 1998; 45: 121-5.
- Dinney CP, Fishbeck R, Singh RK i wsp. Isolation and characterization of metastatic variants from human transitional cell carcinoma passaged by orthotopic implantation in athymic nude mice. *J Urol* 1995; 154: 1532-8.
- Bruns CJ, Harbison MT, Kuniyasu H i wsp. In vivo selection and characterization of metastatic variants from human pancreatic adenocarcinoma by using orthotopic implantation in nude mice. *Neoplasia* 1999; 1: 50-62.
- Tuxhorn JA, Ayala GE i Rowley DR. Reactive stroma in prostate cancer progression. *J Urol* 2001; 166: 2472-83.
- Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med* 1986; 315: 1650-9.
- Hofer SO, Molema G, Hermens RA i wsp. The effect of surgical wounding on tumour development. *Eur J Surg Oncol* 1999; 25: 231-43.
- Shacter E i Weitzman SA. Chronic inflammation and cancer. *Oncology (Huntingt)* 2002; 16: 217-26, 229; discussion 230-2.
- Balkwill F i Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357: 539-45.
- Grandis JR, Snyderman CH, Johnson JT i wsp. Postoperative wound infection. A poor prognostic sign for patients with head and neck cancer. *Cancer* 1992; 70: 2166-70.
- Kressner U, Graf W, Mahteme H i wsp. Septic complications and prognosis after surgery for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 316-21.
- Bogden AE, Moreau JP i Eden PA. Proliferative response of human and animal tumours to surgical wounding of normal tissues: onset, duration and inhibition. *Br J Cancer* 1997; 75: 1021-7.
- Ito R, Kitadai Y, Kyo E i wsp. Interleukin 1 alpha acts as an autocrine growth stimulator for human gastric carcinoma cells. *Cancer Res* 1993; 53: 4102-6.
- Sakai K, Hattori T, Matsuoka M i wsp. Autocrine stimulation of interleukin 1 beta in acute myelogenous leukemia cells. *J Exp Med* 1987; 166: 1597-602.
- Wu S, Rodabaugh K, Martinez-Maza O i wsp. Stimulation of ovarian tumor cell proliferation with monocyte products including interleukin-1, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 997-1007.
- Kawano M, Hirano T, Matsuda T i wsp. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature* 1988; 332: 83-5.
- Giri D, Ozen M i Ittmann M. Interleukin-6 is an autocrine growth factor in human prostate cancer. *Am J Pathol* 2001; 159: 2159-65.
- Miki S, Iwano M, Miki Y i wsp. Interleukin-6 (IL-6) functions as an in vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. *FEBS Lett* 1989; 250: 607-10.
- Tachibana M, Miyakawa A, Nakashima J i wsp. Autocrine growth promotion by multiple hematopoietic growth factors in the established renal cell carcinoma line KU-19-20. *Cell Tissue Res* 2000; 301: 353-67.
- Eustace D, Han X, Gooding R i wsp. Interleukin-6 (IL-6) functions as an autocrine growth factor in cervical carcinomas in vitro. *Gynecol Oncol* 1993; 50: 15-9.
- Lazar-Molnar E, Hegyesi H, Toth S i Falus A. Autocrine and paracrine regulation by cytokines and growth factors in melanoma. *Cytokine* 2000; 12: 547-54.
- Miles SA, Rezai AR, Salazar-Gonzalez JF i wsp. AIDS Kaposi sarcoma-derived cells produce and respond to interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4068-72.
- Shimizu S, Hirano T, Yoshioka R i wsp. Interleukin-6 (B-cell stimulatory factor 2)-dependent growth of a Lennert's lymphoma-derived T-cell line (KT-3). *Blood* 1988; 72: 1826-8.
- Kurzrock R. Cytokine deregulation in cancer. *Biomed Pharmacother* 2001; 55: 543-7.
- Naylor MS, Stamp GW, Foulkes WD i wsp. Tumor necrosis factor and its receptors in human ovarian cancer. Potential role in disease progression. *J Clin Invest* 1993; 91: 2194-206.
- Kulmburg P, Radke M i Digel W. Lymphotoxin-alpha is an autocrine growth factor for chronic lymphocytic leukemia B cells. *Leukemia* 1998; 12: 493-8.
- Kukita T, Arima N, Matsushita K i wsp. Autocrine and/or paracrine growth of adult T-cell leukaemia tumour cells by interleukin 15. *Br J Haematol* 2002; 119: 467-74.
- Garcia-Vazquez MD, Boyano MD, Canavate ML i wsp. Interleukin-2 enhances the growth of human melanoma cells derived from primary but not from metastatic tumours. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11: 654-61.
- Maggio E, van den Berg A, Diepstra A i wsp. Chemokines, cytokines and their receptors in Hodgkin's lymphoma cell lines and tissues. *Ann Oncol* 2002; 13 Suppl 1: 52-6.
- Cortes J i Kurzrock R. Interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1997; 26: 251-9.
- Skinninger BF i Mak TW. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2002; 99: 4283-97.
- Kyo S, Kanaya T, Takakura M i Inoue M. A case of cervical cancer with aggressive tumor growth: possible autocrine growth stimulation by G-CSF and IL-6. *Gynecol Oncol* 2000; 78: 383-7.
- Mueller MM, Herold-Mende CC, Riede D i wsp. Autocrine growth regulation by granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human gliomas with tumor progression. *Am J Pathol* 1999; 155: 1557-67.
- Baba M, Hasegawa H, Nakayabu M i wsp. Establishment and characteristics of a gastric cancer cell line (HuGC-OOHIRA) producing high levels of G-CSF, GM-CSF, and IL-6: the presence of autocrine growth control by G-CSF. *Am J Hematol* 1995; 49: 207-15.
- Savarese TM, Mitchell K, McQuain C i wsp. Coexpression of granulocyte colony stimulating factor and its receptor in primary ovarian carcinomas. *Cancer Lett* 2001; 162: 105-15.

39. Jiang X, Lopez A, Holyoake T i wsp. Autocrine production and action of IL-3 and granulocyte colony-stimulating factor in chronic myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 12804-9.
40. Tachibana M, Miyakawa A, Tazaki H i wsp. Autocrine growth of transitional cell carcinoma of the bladder induced by granulocyte-colony stimulating factor. *Cancer Res* 1995; 55: 3438-43.
41. Ramshaw HS, Bardy PG, Lee MA i Lopez AF. Chronic myelomonocytic leukemia requires granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for growth in vitro and in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30: 1124-31.
42. Auersperg N, Wong AS, Choi KC i wsp. Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocr Rev* 2001; 22: 255-88.
43. Yee LD i Liu L. The constitutive production of colony stimulating factor 1 by invasive human breast cancer cells. *Anticancer Res* 2000; 20: 4379-83.
44. Zhang H, Wu J, Meng L i Shou CC. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 994-8.
45. Tian X, Song S, Wu J i wsp. Vascular endothelial growth factor: acting as an autocrine growth factor for human gastric adenocarcinoma cell MGC803. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286: 505-12.
46. Jackson MW, Roberts JS, Heckford SE i wsp. A potential autocrine role for vascular endothelial growth factor in prostate cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 854-9.
47. Strizzi L, Catalano A, Vianale G i wsp. Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor in human malignant mesothelioma. *J Pathol* 2001; 193: 468-75.
48. von Marschall Z, Cramer T, Hocker M i wsp. De novo expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer: evidence for an autocrine mitogenic loop. *Gastroenterology* 2000; 119: 1358-72.
49. Dias S, Hattori K, Zhu Z i wsp. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *J Clin Invest* 2000; 106: 511-21.
50. de Jong JS, van Diest PJ, van der Valk P i Baak JP. Expression of growth factors, growth-inhibiting factors, and their receptors in invasive breast cancer. II: Correlations with proliferation and angiogenesis. *J Pathol* 1998; 184: 53-7.
51. Lokker NA, Sullivan CM, Hollenbach SJ i wsp. Platelet-derived growth factor (PDGF) autocrine signaling regulates survival and mitogenic pathways in glioblastoma cells: evidence that the novel PDGF-C and PDGF-D ligands may play a role in the development of brain tumors. *Cancer Res* 2002; 62: 3729-35.
52. Ginsburg E i Vonderhaar BK. Stimulation of growth of human breast cancer cells (T47D) by platelet derived growth factor. *Cancer Lett* 1991; 58: 137-44.
53. Cai YC, Jiang Z, Vittimberga F i wsp. Expression of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in gastrointestinal stromal tumours. *Virchows Arch* 1999; 435: 112-5.
54. Gold LI. The role for transforming growth factor-beta (TGF-beta) in human cancer. *Crit Rev Oncog*. 1999; 10: 303-60.
55. Furstenberger G i Senn HJ. Insulin-like growth factors and cancer. *Lancet Oncol* 2002; 3: 298-302.
56. Vicari AP i Caux C. Chemokines in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13: 143-54.
57. Frederick MJ i Clayman GL. Chemokines in cancer. *Expert Rev in Mol Med*. <http://www.ermm.cbuc.cam.ac.uk>
58. Wilson J i Balkwill F. The role of cytokines in the epithelial cancer microenvironment. *Semin Cancer Biol* 2002; 12: 113-20.
59. Masood R, Cai J, Tulpule A i wsp. Interleukin 8 is an autocrine growth factor and a surrogate marker for Kaposi's sarcoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2693-702.
60. Xu L i Fidler IJ. Interleukin 8: an autocrine growth factor for human ovarian cancer. *Oncol Res* 2000; 12: 97-106.
61. Trent JT i Kirsner RS. Wounds and malignancy. *Adv Skin Wound Care* 2003; 16: 31-4.
62. Elenbaas B i Weinberg RA. Heterotypic signaling between epithelial tumor cells and fibroblasts in carcinoma formation. *Exp Cell Res* 2001; 264: 169-84.
63. Kunz-Schughart LA i Knuechel R. Tumor-associated fibroblasts (part I): Active stromal participants in tumor development and progression? *Histol Histopathol* 2002; 17: 599-621.
64. Kunz-Schughart LA i Knuechel R. Tumor-associated fibroblasts (part II): Functional impact on tumor tissue. *Histol Histopathol* 2002; 17: 623-37.
65. Bingle L, Brown NJ i Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002; 196: 254-65.
66. Mantovani A, Sozzani S, Locati M i wsp. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23: 549-55.
67. Brigati C, Noonan DM, Albini A i Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? *Clin Exp Metastasis* 2002; 19: 247-58.
68. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW i wsp. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.
69. Zhu L i Skoultschi AI. Coordinating cell proliferation and differentiation. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 91-7.
70. Massague J, Blain SW i Lo RS. TGFbeta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000; 103: 295-309.
71. Akhurst RJ i Derynck R. TGF-beta signaling in cancer – a double-edged sword. *Trends Cell Biol* 2001; 11: S44-51.
72. Fynan TM i Reiss M. Resistance to inhibition of cell growth by transforming growth factor-beta and its role in oncogenesis. *Crit Rev Oncog* 1993; 4: 493-540.
73. Markowitz SD i Roberts AB. Tumor suppressor activity of the TGF-beta pathway in human cancers. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 7: 93-102.
74. Favoni RE i de Cupis A. The role of polypeptide growth factors in human carcinomas: new targets for a novel pharmacological approach. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 179-206.
75. Lu C, Rak JW i Kerbel RS. Interleukin 6 in progression of human solid tumors: transitional changes in the regulation of cell growth, apoptosis and angiogenesis. *Cancer J* 1997; 10: 256-261.
76. Lotem J i Sachs L. Cytokine control of developmental programs in normal hematopoiesis and leukemia. *Oncogene* 2002; 21: 3284-94.
77. Tenen DG. Disruption of differentiation in human cancer: AML shows the way. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 89-101.
78. Vaux DL i Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell* 1999; 96: 245-54.
79. Evan G i Littlewood T. A matter of life and cell death. *Science* 1998; 281: 1317-22.
80. Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). *Science* 1985; 230: 630-2.
81. Chen G i Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science* 2002; 296: 1634-5.
82. Evan GI i Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001; 411: 342-8.
83. Whiteside TL. Tumor-induced death of immune cells: its mechanisms and consequences. *Semin Cancer Biol* 2002; 12: 43-50.
84. Jourdan M, Tarte K, Legouffe E i wsp. Tumor necrosis factor is a survival and proliferation factor for human myeloma cells. *Eur Cytokine Netw* 1999; 10: 65-70.
85. Gibson EM, Henson ES, Haney N i wsp. Epidermal growth factor protects epithelial-derived cells from tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by inhibiting cytochrome c release. *Cancer Res* 2002; 62: 488-96.
86. Radinsky R. Modulation of tumor cell gene expression and phenotype by the organ-specific metastatic environment. *Cancer Metastasis Rev* 1995; 14: 323-38.
87. Dancescu M, Rubio-Trujillo M, Biron G i wsp. Interleukin 4 protects chronic lymphocytic leukemic B cells from death by apoptosis and upregulates Bcl-2 expression. *J Exp Med* 1992; 176: 1319-26.
88. Folkman J. The role of angiogenesis in tumor growth. *Semin Cancer Biol* 1992; 3: 65-71.
89. Hanahan D i Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353-64.
90. Harris AL. Hypoxia a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 38-47.
91. Szala S i Radzikowski C. Podłoże molekularne angiogenezy nowotworów. *Nowotwory* 1997; 47: 1-19.
92. Bicknell R i Harris AL. Novel growth regulatory factors and tumour angiogenesis. *Eur J Cancer* 1991; 27: 781-5.
93. Ahmad SA, Jung YD, Liu W i wsp. The role of the microenvironment and intercellular cross-talk in tumor angiogenesis. *Semin Cancer Biol* 2002; 12: 105-12.
94. Colombo MP i Trinchieri G. Interleukin-12 in anti-tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13: 155-68.
95. Pirtskhalaishvili G i Nelson JB. Endothelium-derived factors as paracrine mediators of prostate cancer progression. *Prostate* 2000; 44: 77-87.
96. Butler PC i Potter GA. Non-haematological solid tumours as surrogate granulocytes: a possible mechanism for metastatic spread. *Med Hypotheses* 2001; 56: 625-8.
97. Sheski FD, Natarajan V i Pottratz ST. Tumor necrosis factor-alpha stimulates attachment of small cell lung carcinoma to endothelial cells. *J Lab Clin Med* 1999; 133: 265-73.
98. Cohen MC, Bereta M i Bereta J. Effect of cytokines on tumour cell-endothelial interactions. *Indian J Biochem Biophys* 1997; 34: 199-204.

99. Langley RR, Carlisle R, Ma L i wsp. Endothelial expression of vascular cell adhesion molecule-1 correlates with metastatic pattern in spontaneous melanoma. *Microcirculation* 2001; 8: 335-45.
100. Vidal-Vanaclocha F, Fantuzzi G, Mendoza L i wsp. IL-18 regulates IL-1beta-dependent hepatic melanoma metastasis via vascular cell adhesion molecule-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 734-9.
101. Byzova TV, Goldman CK, Pampori N i wsp. A mechanism for modulation of cellular responses to VEGF: activation of the integrins. *Mol Cell* 2000; 6: 851-60.
102. Cai T, Lei QY, Wang LY i Zha XL. TGF-beta 1 modulated the expression of alpha 5 beta 1 integrin and integrin-mediated signaling in human hepatocarcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274: 519-25.
103. Liotta LA i Pawletz CP. Invasion and metastasis. W: *The Cancer Handbook* Vol. 1, opublikowane on-line; www.cancerhandbook.net
104. Wells A, Kassis J, Solava J i wsp. Growth factor-induced cell motility in tumor invasion. *Acta Oncol* 2002; 41: 124-30.
105. Yabushita H, Shimazu M, Noguchi M i wsp. Vascular endothelial growth factor activating matrix metalloproteinase in ascitic fluid during peritoneal dissemination of ovarian cancer. *Oncol Rep* 2003; 10: 89-95.
106. Kassis J, Lauffenburger DA, Turner T i Wells A. Tumor invasion as dysregulated cell motility. *Semin Cancer Biol* 2001; 11: 105-17.
107. Rosenblatt JD, Shin SU, Nechustan H i wsp. Potential role of chemokines in immune therapy of cancer. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 1054-9.
108. Li A, Varney ML i Singh RK. Expression of interleukin 8 and its receptors in human colon carcinoma cells with different metastatic potentials. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3298-304.
109. Davidson B, Reich R, Kopolovic J i wsp. Interleukin-8 and vascular endothelial growth factor mRNA and protein levels are down-regulated in ovarian carcinoma cells in serous effusions. *Clin Exp Metastasis* 2002; 19: 135-44.
110. Lee TH, Avraham HK, Jiang S i Avraham S. Vascular endothelial growth factor modulates the transendothelial migration of MDA-MB-231 breast cancer cells through regulation of brain microvascular endothelial cell permeability. *J Biol Chem* 2003; 278: 5277-84.
111. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev* 1989; 8: 98-101.
112. Weiss L. Comments on hematogenous metastatic patterns in humans as revealed by autopsy. *Clin Exp Metastasis* 1992; 10: 191-9.
113. Chambers AF, Groom AC i MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 563-72.
114. Radinsky R i Ellis LM. Molecular determinants in the biology of liver metastasis. *Surg Oncol Clin N Am* 1996; 5: 215-29.
115. Yoneda T, Williams PJ, Hiraga T i wsp. A bone-seeking clone exhibits different biological properties from the MDA-MB-231 parental human breast cancer cells and a brain-seeking clone *in vivo* and *in vitro*. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1486-95.
116. Mundy GR. Mechanisms of bone metastasis. *Cancer* 1997; 80: 1546-56.
117. Naumov GN, MacDonald IC, Chambers AF i Groom AC. Solitary cancer cells as a possible source of tumour dormancy? *Semin Cancer Biol* 2001; 11: 271-6.
118. Müller A, Homey B, Soto H i wsp. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410: 50-6.
119. Campbell JJ i Butcher EC. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 336-41.
120. Kavanaugh DY i Carbone DP. Immunologic dysfunction in cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1996; 10: 927-51.
121. Smyth MJ, Godfrey DI i Trapani JA. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nat Immunol* 2001; 2: 293-9.
122. Gabrilovich DI, Corak J, Ciernik IF i wsp. Decreased antigen presentation by dendritic cells in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 483-90.
123. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW i wsp. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.
124. Mosmann TR i Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-46.
125. Shurin MR, Lu L, Kalinski P i wsp. Th1/Th2 balance in cancer, transplantation and pregnancy. *Springer Semin Immunopathol* 1999; 21: 339-59.
126. Buckley CD, Pilling D, Lord JM i wsp. Fibroblasts regulate the switch from acute resolving to chronic persistent inflammation. *Trends Immunol* 2001; 22: 199-204.
127. Mytar B, Siedlar M, Woloszyn M i wsp. Cross-talk between human monocytes and cancer cells during reactive oxygen intermediates generation: the essential role of hyaluronan. *Int J Cancer* 2001; 94: 727-32.
128. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, i wsp. Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3: 991-8.
129. Katakai A, Scheid P, Piet M i wsp. Tumor infiltrating lymphocytes and macrophages have a potential dual role in lung cancer by supporting both host-defense and tumor progression. *J Lab Clin Med* 2002; 140: 320-8.
130. Chouaib S, Asselin-Paturel C, Mami-Chouaib F i wsp. The host-tumor immune conflict: from immunosuppression to resistance and destruction. *Immunol Today* 1997; 18: 493-7.
131. Akhurst RJ. TGF-beta antagonists: why suppress a tumor suppressor? *J Clin Invest* 2002; 109: 1533-6.
132. Salazar-Onfray F. Interleukin-10: a cytokine used by tumors to escape immunosurveillance. *Med Oncol* 1999; 16: 86-94.
133. Ohm JE i Carbone DP. VEGF as a mediator of tumor-associated immunodeficiency. *Immunol Res* 2001; 23: 263-72.
134. Vicari AP, Caux C i Trinchieri G. Tumour escape from immune surveillance through dendritic cell inactivation. *Semin Cancer Biol* 2002; 12: 33-42.
135. Mundy GR i Guise TA. Hypercalcemia of malignancy. *Am J Med* 1997; 103: 134-45.
136. Steffen J. Interleukiny i ich receptory w nowotworach u ludzi: Synteza, uwalnianie, występowanie w surowicy krwi. *Diagn Lab* 1994; 30: 221-240.
137. Tartour E i Fridman WH. Cytokines and cancer. *Int Rev Immunol* 1998; 16: 683-704.
138. Tisdale MJ. Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 862-71.
139. Jaiswal M, LaRusso NF, Burgart LJ i Gores GJ. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. *Cancer Res* 2000; 60: 184-90.
140. Hudson JD, Shoaibi MA, Maestro R i wsp. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. *J Exp Med* 1999; 190: 1375-82.
141. Lewis GD, Aggarwal BB, Eessalu TE i wsp. Modulation of the growth of transformed cells by human tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma. *Cancer Res* 1987; 47: 5382-5.
142. Yanagisawa K, Watanabe I, Inoue Y i wsp. Diverse effects of tumor necrosis factor-alpha on three subclones from human myelomonocytic leukemia cell line ME-1 exhibiting different differentiation stages. *J Interferon Cytokine Res* 1996; 16: 685-93.
143. Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13: 135-41.
144. Kourilsky P i Truffa-Bachi P. Cytokine fields and the polarization of the immune response. *Trends Immunol* 2001; 22: 502-9.
145. Chechlińska M, Kamińska J, Kowalska M i wsp. The origin of cytokines, soluble cytokine receptors and CA125 in ascitic fluids and sera of ovarian cancer patients. *Tumour Biol* 2003; 24 (suppl. 1): 76.
146. Kirkwood J. Cancer immunotherapy: the interferon-alpha experience. *Semin Oncol* 2002; 29: 18-26.
147. Ben-Efraim S. One hundred years of cancer immunotherapy: a critical appraisal. *Tumour Biol* 1999; 20: 1-24.

Otrzymano: 9 czerwca 2003 r.

Przyjęto do druku: 30 lipca 2003 r.