

Mechanizmy obrony przeciwnowotworowej – przyczyny niepowodzeń

JANUSZ A. MADEJ, JAN P. MADEJ*

Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Katedra Patologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

*Zakład Histologii i Embriologii, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

Otrzymano 20.08.2014

Zaakceptowano 20.01.2015

Madej J. A., Madej J. P.

Antitumor defense mechanisms: The causes of failures

Summary

Neoplastic transformation is accompanied, among others, by the inhibition of apoptosis. Four mechanisms that allow cells to avoid apoptosis are well known: loss of APAF1 (apoptosis-inducing factor 1), up-regulation of caspase inactivating apoptosis inhibitors, expression of FasL (Fas ligands) on the cell surface, and production of caspase 8 inhibiting protein (FLIP – FADD – like interleukin – 1 β converting proteins). Moreover, the roles of RB1 and TP53 genes in the neoplastic process have been described. Tumor cells can show mutations of genes responsible for the expression of proteins regulating the cell cycle and of proteins controlling apoptosis, e.g. TP53 protein.

Neoplastic cells seek to avoid not only apoptosis, but also necrosis, inflammatory cells, and the reaction of the immunological system. The types of neoplastic antigens, i.e. TSA (tumor specific antigens) and TAA (tumor associated antigens), as well as the possibilities of their recognition by the organism burdened with neoplasm, have been described. Furthermore, the mechanisms of weakening the immunological response by neoplastic cells and the role of inflammatory cells and inflammatory response in destroying neoplasms (mainly the cell-based response i.e. cells such as NK, LAK, Tc, Th, and macrophages) have been presented. Macrophages have received special attention because of the role of macrophages associated with tumors (e.g. mammary gland cancer in dogs) in causing an abnormal (non-canonical) course of the Wnt pathway. Paradoxically, the immune response sometimes promotes neoplastic growth by the so-called immune facilitation effect.

After the first stage (i.e. the limitation of apoptosis), the necrosis of neoplastic cells and inflammatory infiltration occur, followed by unlimited neoplastic progression due to insufficient immunological anti-neoplastic cell reaction.

Keywords: neoplasm, apoptosis, necrosis, antitumor immune response

Przebieg apoptozy i skutki zahamowania jej indukcji

Z badań molekularno-genetycznych wynika, że transformacja nowotworowa jest efektem zaburzeń w protoonkogenach, genach supresorowych, genach regulujących naprawę DNA oraz genach sprawiających kontrolę nad apoptozą (4, 9, 12). Apoptoza, czyli programowana, samobójcza śmierć komórek, jest stanem agonalnym komórki i występuje zarówno w warunkach fizjologicznych, np. w embriogenezie, inwolucji hormonozależnej czy wymianie komórek uszkodzonych i starzejących się, jak i spotykana jest w warunkach patologicznych (4). Apoptoza patologiczna towarzyszy między innymi śmierci komórek nowotworów złośliwych, zanikowi komórek, odrzucaniu przeszczepu, niektórym zapaleniom wirusowym, śmierci neutrofilów w ognisku zapalnym, chorobach neurodegene-

racyjnych mózgu, a także jest następstwem hipoksji, działania promieniowania, temperatury czy cytostatyków (4). Apoptoza dotyczy pojedynczych komórek, w których, dzięki enzymom flippazom i skramblazom, fosfatydyloseryna przesuwa się z wnętrza na zewnątrz błony komórkowej (scrambling), a powstające w tym procesie ciała apoptotyczne wiążą się z witronektyną i trombospondyną, tj. białkami rozpoznawanymi, wychwytywanymi i fagocytowanymi przez makrofagi, monocyty lub sąsiadujące komórki (23). Dzięki temu procesowi makrocząsteczki wewnątrzkomórkowe nie są uwalniane i nie indukują odczynu zapalnego. Geny regulujące apoptozę to geny supresorowe o działaniu antagonistycznym, np. BCL-2, BCL-XL i geny proapoptotyczne, działające agonistycznie, tj. BAX, BAD, BID, BCL-X5 (26). Zasadniczą rolę w skie-

rowaniu komórki lub nie na drogę apoptozy spełnia stosunek antagonistów do agonistów z rodziny BCL-2, a zwłaszcza nadekspresja tego białka, co wykazano na przykładzie chłoniaka złośliwego grudkowego z translokacją t14;18, powodującą, że region 14q32 znajduje się w pobliżu BCL-2, zlokalizowanego na 18q21 (4).

Apoptoza dokonuje się poprzez „domenę śmierci” (DD – death domain) i szlak mitochondrialny w taki sposób, że często dochodzi do połączenia dwóch głównych szlaków tego zjawiska w jeden tor wykonawczy, a kluczową rolę w tym procesie odgrywa cytochrom c (22). Przebieg apoptozy, zarówno z udziałem czynników zewnątrz-, jak i wewnątrzkomórkowych, jest dobrze poznany i opisany w innych opracowaniach monograficznych (22, 23). Ostatnio opisano między innymi inhibitory apoptozy – IAP (inhibitors of apoptosis), np. surwiwinę, która z kolei może być zablokowana przez czynnik Diabło pobudzający apoptozę. Antropomorfizując, proces apoptozy przebiega w czterech fazach, tj. fazie sygnałów wstępnych (posiedzenie „sądu”), fazie kontrolno-decyzyjnej (wyrok skazujący sąd), fazie wykonawczej („kara śmierci”, bez możliwości kary dożywocia) oraz fazy uprzątnienia („bez hałasu”, przy czym „zwłok” komórek nie pozostawia się w organizmie). Stąd nie tylko grupa komórek, ale każda pojedyncza komórka musi być „osądzona”, a wyrok śmierci wykonany, bo inaczej może zginąć cały organizm, jak ma to miejsce w przypadku nowotworu złośliwego.

Zahamowanie apoptozy to jeden z mechanizmów, jaki towarzyszy transformacji nowotworowej. Aktualnie wymienia się cztery mechanizmy pozwalające komórkom nowotworowym na uniknięcie apoptozy, tj. (12, 20):

a) przez utratę czynnika APAF1 (apoptosis-inducing factor 1 – czynnik aktywujący proapoptotyczną proteazę), który u części komórek czerniaka blokuje mitochondrialny szlak cytochromu c, w następstwie czego komórki nowotworowe stają się odporne na apoptozę indukowaną przez gen TP53,

b) przez transkrypcyjne wzmocnienie inhibitorów apoptozy inaktywujących kaspazy (up-regulation), co ma na przykład miejsce w chłoniakach typu MALT (mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas), jako efekt translokacji t11;18,

c) przez ekspresję na ich powierzchni ligandów (FasL), które po połączeniu ze znajdującymi się na powierzchni limfocytów T receptorami CD95 (Fas) nasilają apoptozę tych ostatnich, a więc osłabiają przeciwnowotworową reakcję ze strony gospodarza,

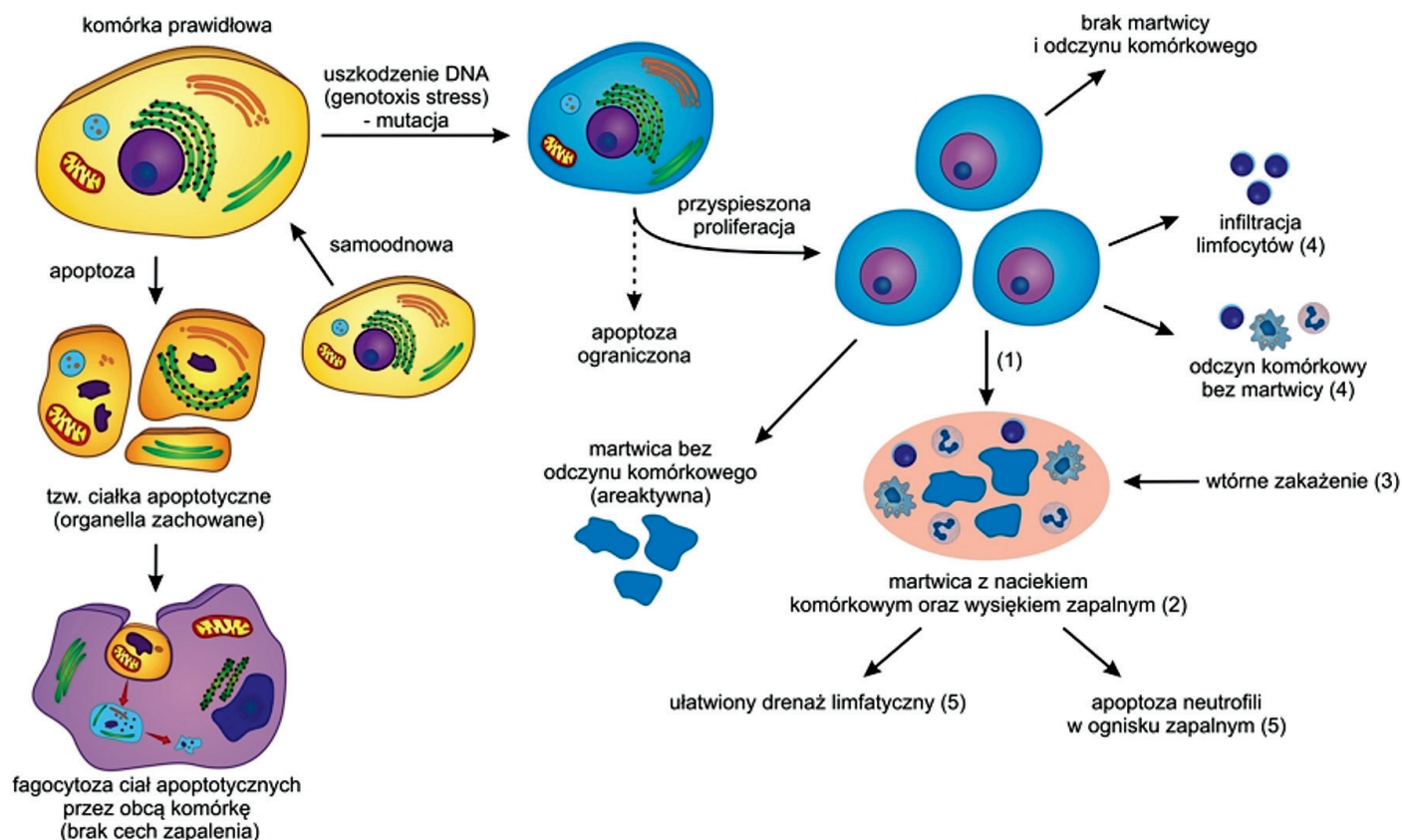
d) przez produkcję przez niektóre komórki nowotworowe dużej ilości białka FLIP, hamującego kaspazę 8 (FADD – like interleukin-1 β -converting proteins), wiążąc w ten sposób kompleks indukujący śmierć komórki (18).

W przypadku mutacji genów supresorowych lub proapoptotycznych uruchomiona jest kolejna linia obrony,

tj. pobudzenie układu immunologicznego z udziałem perforyn, TNF (tumor necrosis factor – czynnik martwicy nowotworów, zwany także słusznie czynnikiem apoptozy nowotworów), FasL (ligand receptora Fas), TRAIL (TNF- α – related apoptosis inducing factor – ligand śmierci związany z TNF- α), limfotoksyny beta i innych substancji czynnych, wiodących do apoptozy (20). Alternatywą apoptozy jest śmierć komórek na drodze autofagii, czyli programowanej śmierci typu II. Według NCCD (Nomenclature Committee on Cell Death – Komitetu ds. Nazewnictwa Śmierci Komórek), oprócz śmierci komórki poprzez apoptozę klasyczną wyróżnia się inne jej typy, tj. śmierć poprzez katastrofę mitotyczną, anoikozę, paraptozę, degenerację wallerowską, entozę (kanibalizm komórkowy) oraz keratynizację (22). Podobny podział odnosi się także do martwicy w zależności od typu stanu agonalnego, przy czym zasadnicze znaczenie w obu procesach ma nieodwracalne uszkodzenie mitochondrium. Wprawdzie apoptoza i fagocytoza są kontrolowane przez różne geny, niemniej czasem oba te procesy mogą się wzajemnie uzupełniać, co wykorzystuje się w terapii onkologicznej (12). Skierowanie komórek na drogę apoptozy obserwuje się także przy zaburzeniu funkcji telomerów, czyli powtarzających się wiele tysięcy razy sekwencji tandemowych TTAGGGT (T – tymina, A – adenina, G – guanina) końcówek chromosomów, ponieważ dochodzi wówczas do uruchomienia białka TP53, które hamuje dalszy podział komórek (1). Telomery są skracane w czasie podziału przez telomerazę, tj. enzym, którego aktywność w 90% przypadków komórek nowotworów złośliwych czyni je praktycznie nieśmiertelnymi, wskutek prawie nieograniczonych możliwości podziału komórek (1). Jest to zasadniczy powód, dla którego próbuje się zastosować inhibitory telomerazy w terapii przeciwnowotworowej.

Komórki nowotworowe „szukają” ucieczki nie tylko przed apoptozą, ale także przed śmiercią w procesie martwicy, przed komórkami nacieku zapalnego, procesem odczynowym ze strony układu immunologicznego, jak również prawdopodobnie przed wysokim stężeniem wolnych rodników powstających *in situ*, co między innymi skutkuje zjawiskiem przerzutowania (2, 16, 25).

Stan równowagi między liczbą komórek ginących i produkowanych warunkuje homeostazę ustroju. Zaburzenie tej równowagi, tj. ograniczenie apoptozy ma między innymi miejsce w nowotworach złośliwych (7). Apoptozie nie towarzyszy odczyn zapalny, a więc pojawienie się go świadczy o martwicy komórek, co z wyjątkiem cyklicznego złuszczenia się nabłonka macicy u ludzi, jest zawsze procesem patologicznym i obejmuje liczne komórki. W procesie martwicy, która jest procesem pasywnym i zwana jest „komórkowym zabójstwem”, w przeciwieństwie do apoptozy („komórkowe samobójstwo” – proces aktywny), wskutek peroksydacji lipidów makrocząsteczki we-



Ryc. 1. Rola apoptozy, martwicy oraz odczynu zapalnego w obronie przeciwnowotworowej

Objaśnienia: 1 – m.in. hipoksja, glikoliza beztlenowa, hypoglikemia; 2 – m.in. fagocytoza oraz EETs (extracellular traps) – uwalnianie sieci zewnątrzkomórkowej z neutrofilów, eozynofików, mastocytów i monocytów/makrofagów po ich „altruistycznej” śmierci, celem zabicia patogenów; 3 – np. bakterie, grzyby, zapalenie ropne i nieropne; 4 – możliwa regresja nowotworu; 5 – możliwa progresja nowotworu

wnątrzkomórkowe są uwalniane do macierzy międzykomórkowej (ECM – extracellular matrix). Takie makrocząsteczki pobudzają układ immunologiczny do powstania reakcji zapalnej, gdyż fizjologicznie nie są one ekspozowane w stosunku do tego układu i nie ma wobec nich żadnej tolerancji (23). Pobudzenie układu immunologicznego manifestuje się pojawieniem się odczynu zapalnego, tj. komórek MPS (mononuclear phagocytotic system – układ fagocytów jednojądrzastych, czyli RES – reticuloendothelial system – układ siateczkowo-śródbłonkowy) oraz wysięku zapalnego, które wspólnie doprowadzają do dalszego uszkodzenia komórki (12). Jednocześnie należy podkreślić, że komórki nacieku zapalnego niszczą tylko komórki uszkodzone, w przeciwieństwie do komórek nowotworowych, które uszkadzają komórki zdrowe. Tak więc w nowotworach mamy do czynienia nie tylko z ograniczoną apoptozą, ale także z pojawieniem się martwicy komórek, nasilającej się w miarę upośledzonego utlenowania i odżywienia guza (ryc. 1). Guz o wielkości 1-2 mm (ok. 10^5 komórek) nie może dalej rozwijać się, korzystając wyłącznie z dyfuzji i wymaga unaczynienia, gdyż stan niedotlenienia indukuje apoptozę poprzez aktywowanie genu TP53 (5). Angiogenezę wspiera także hipoksja, ponieważ zostaje uwolniony czynnik HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α – czynnik aktywowany niedotlenieniem), kontrolu-

jący VEGF-1 (vascular endothelial inducible factor 1 – śródbłonkowy czynnik wzrostu) (9). Wykazano również związek między HIF-1 α a białkiem RGS5, które także uczestniczy w angiogenezie i promuje apoptozę w warunkach hipoksji (24).

Komórki obumierające należą do populacji będącej w pewnym stałym „konflikcie” z liczbą komórek proliferujących, znajdujących się w cyklu podziałowym i zatrzymanych w fazie G0 lub G1, a więc w fazie spoczynku. Komórki nowotworowe, które rosną wolno i są lepiej zróżnicowane, obumierają wolniej aniżeli komórki szybko rosnące i słabo zróżnicowane. Jednocześnie należy zaznaczyć, że proliferacja komórek jest także pod kontrolą genów regulujących apoptozę, tj. hamujących ją, jak np. BCL-2 lub ją pobudzających, np. BAX (5). Reasumując, nowotwory złośliwe unikają apoptozy, natomiast zaczyna towarzyszyć im martwica, odczyn zapalny oraz odczyn związany z odpowiedzią odpornościową. Niezależnie od tego, ograniczenie procesu apoptozy może prowadzić oprócz zmian proliferacyjnych komórek nowotworowych także do jednoczesnego rozwoju chorób autoimmunologicznych, których przykładem jest uogólniona, pierwotna amyloidoza typu A, wywodząca się z łańcuchów lekkich immunoglobulin. Ma to miejsce w szpiczaku mnogim i chłoniakach B komórkowych (12).

Nowotwory zbudowane są z komórek nowotworowych, np. raki z komórek: CC (cancer cells), CSC (cancer stem cells), ICC (invasive cancer cells), CAF (cancer-associated fibroblast), MSCs (mesenchymal stem cells), a także z komórek śródbłonka (EC – endothelial cells) i pericytów naczyniowych (PC – pericyte cells) oraz z komórek związanych z odczynem zapalnym i odpowiedzią immunologiczną (ICs – immune inflammatory cells) (25). Jedną z przyczyn nowotworzenia jest utrata kontroli nad przebiegiem cyklu komórkowego spowodowana mutacją genów RB1, TP53, cykliną CDK-4 (cyclin dependent kinases), cykliną D lub p16 (23, 25). Na przykład białko TP53, zwane „aniołem stróżem genomu”, kodowane przez gen o tej samej nazwie, uniemożliwia wejście w cykl podziałowy komórkom, które mają uszkodzony DNA. Gen TP53 odgrywa kluczową rolę w onkogenezie, ponieważ ulega defektowi aż w 70% różnych nowotworów i to zarówno u ludzi, jak i zwierząt. Niezależnie od tego wrodzoną mutacją genu TP53, predysponującą do pojawienia się takich nowotworów, jak rak sutka, mięsaków i białaczek, spotyka się u ludzi w zespole Li-Fraumeniego (12). Unieczynnienie genu TP53, np. przez promienie jonizujące, ultrafiolet czy substancje chemiczne, np. wolne rodniki, zezwala takim komórkom dzielić się, co propaguje uszkodzenie w nich DNA (genotoxic stress) i ułatwia transformację nowotworową (3). Do wykrywania uszkodzeń DNA w komórce służy białko ATM (ataxia teleangiectasia mutated), a do blokady przejścia metafazy w anafazę w czasie mitozy komórkowej – białko MAD (mitotic arrest deficient) (22). To właśnie w trakcie mitozy komórki są najbardziej narażone na mutacje, co potwierdzono w odniesieniu do tkanek proliferujących, w porównaniu z tkankami nie różnicującymi się. Tak duży stres dla komórki jest zagrożeniem dla jej DNA i tak np. promieniowanie jonizujące jest powodem pęknięć jedno- i dwuniciowego DNA, prowadzących do zmian w chromosomach typu delecji, rearanżacji czy złamań (26). W konsekwencji gen TP53 może zatrzymać cykl komórkowy, w czym pomagają mu posttranskrypcyjne modyfikacje, uwalniające go od białka MDM2, którego rolą jest jego zniszczenie (12). Powstaje także białko p21/WAF hamujące tworzenie kompleksów cykliny CDK. Odbywa się to w późnej fazie G1 i jest spowodowane genem CDKN1A (p21) oraz indukcją przez gen TP53 białka GADD45 (growth arrest and DNA damage) hamującego wzrost i pomagającego w naprawie uszkodzonego DNA. Powstaje sytuacja, w której jest jeszcze możliwa naprawa DNA i gen TP53 aktywuje gen mdm2, którego białko obniża poziom czynnego TP53 i komórka osiąga fazę S. W sytuacji niepowodzenia gen TP53 aktywuje geny, które indukują apoptozę, np. BAX, a ich białkowy produkt unieczynnia BCL-2, tj. białko hamujące apoptozę. W przypadku mutacji obu alleli komórka nie zatrzymuje się w fazie G1, nie naprawia DNA i nie indukuje apoptozy, co powoduje, że mutacje

są przekazywane komórkom potomnym i następuje transformacja nowotworowa. Ponadto komórki nowotworowe o prawidłowym allelu TP53 podlegają apoptozie w stanach hipoksji, a ze zmutowanym – nie, co próbuje się wykorzystać w terapii antyangiogennej. Białko TP53 może także wiązać się z białkami jądrowymi m.in. enzymami typu deaminaz adeniny, działających na RNA (ADAR), telomerazę czy nukleosteminę i nie hamujących cyklu komórkowego, co prowadzi do progresji nowotworowej (22). Podobne procesy mają miejsce przy utracie genu RB1, co ma miejsce w siatkówczaku (*retinoblastoma*) u dzieci i jest powodem nieograniczonego podziału komórek, które tracą wówczas kontrolę nad przebiegiem cyklu komórkowego (28). Podsumowując trzeba podkreślić, że słaby stres jest powodem powstania dimerów białka aktywującego transkrypcję genów p21 i GADD45, co wstrzymuje cykl komórkowy i pozwala na naprawę DNA, natomiast silny stres manifestuje się pojawieniem się tetramerów TP53 lub dimerów związanych z cząsteczkami koaktywatora, co aktywuje ekspresję białek uczestniczących w apoptozie i dlatego rośnie szansa na jej włączenie (9).

Zauważono także, że w komórkach odpowiadających na stres dochodzi do nieprawidłowego fałdowania się białek siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, co nosi miano odpowiedzi UPR (unfolded protein response). Włączenie UPR oraz mutacje białek PERK (kinaza), IRE1 (RNA-aza), ATF-6 (prekursor czynnika transkrypcji) i białka BIP/GPR78 mogą wspomagać rozwój wielu nowotworów, kumulując się w nich. Ich inaktywacja natomiast hamuje wzrost nowotworu (22), na przykład: w raku sutka poddanego chemioterapii dochodzi do nadekspresji białka BIP/GPR78), uczestniczącego w odpowiedzi na UPR i wzrostu agresywności nowotworu, manifestującej się między innymi zwiększoną proliferacją, promocją angiogenezy i opornością na apoptozę (27). Tak więc komórki nowotworowe nabywają cech większej oporności na stres w porównaniu z komórkami prawidłowymi, co może skutkować ich wyraźną progresją.

Cykl komórkowy mogą również modyfikować niektóre wirusy, np. wirusy onkogenne v-src (*sarcoma*) kodujące białko p60^{v-src}, tj. kinazę, jaka uruchamia kaskadę fosforylacji innych białek w cyklu mitotycznym i prowadzi do nowotworzenia (22). Z kolei wirusy HPV (human papilloma viruses) rozkładają białko TP53 i niszczą połączenia między białkiem RB, a czynnikiem transkrypcji E2F, który łączy się z promotorami wielu protoonkogenów, wzbudzając transkrypcję i syntezę ich białkowych produktów, co pobudza cykl komórkowy (8). Niezależnie od tego wiele wirusów hamuje apoptozę.

Antygeny nowotworowe i warunki ich rozpoznania

Rozplem komórek nowotworowych powoduje ich progresywną anaplazję, czyli odróżnicowanie, a tak zmienione komórki są rozpoznawane i eliminowane

przez układ immunologiczny (6). Nowotwory mają antygeny zdolne wywoływać reakcję układu immunologicznego, tj. antygeny nowotworowe swoiste (TSA – tumor specyfing antigens) obecne tylko na komórkach nowotworowych oraz antygeny towarzyszące nowotworom (TAA – tumor associated antigens) obecne także na niektórych komórkach prawidłowych.

Te ostatnie dzielimy na:

- antygeny swoiste tkankowo, np. swoiste dla melanocytów (MART-1, gp100, tyrozynaza), – antygeny będące efektem mutacji białka (pochodzące z beta-kateniny, genów RAS, TP53, CDK4),

- antygeny ulegające nadekspresji (np. białko HER 2 (neu)),

- antygeny wirusowe, np. ludzki wirus brodawczaka (HPV), wirus Epsteina-Barr (EBV), antygen powierzchniowy kotów (FOCMA – feline oncornavirus associated cell membrane antigen),

- antygeny śluzowe (np. antygen MUC-1),

- antygeny nowotworowo-płodowe, np. α -feto-proteina, antygen rakowo-płodowy (CEA – carcino-embryonic antigen) oraz

- antygeny swoiste dla różnicowania, np. CD10, PSA (prostatic specific antigen – antygen swoisty dla stercza) (6, 12).

Antygeny nowotworowe są rozpoznawane przez receptor limfocytów T CD8⁺ (antygeny prezentowane przez cząsteczki MHC klasy I) albo przez przeciwciała (np. antygeny obecne na chłoniakach: CD19, CD20, CD21, CD22, CD37, CD52), względnie przez obie wymienione struktury (np. antygen CEA) (9). Antygeny nowotworowe mogą powstać jako wynik amplifikacji genów w komórkach nowotworowych, kodowania ich przez geny niezmiennione, przy czym ich ekspresja jest ujawniona w komórkach nowotworowych lub są to białka kodowane przez zmutowane geny (4, 12). Przykładem jest antygen MAGE (melanoma antigen-1) obecny w 40% przypadków na powierzchni komórek czerniaka, a także innych nowotworach złośliwych, który powoduje reakcję cytotoksyczną limfocytów T CD8⁺ (4). W warunkach prawidłowych białka MAGE nie są bowiem rozpoznawane przez układ odpornościowy, ponieważ występują tylko w prawidłowych gametach, czyli poza granicą krew-nasienie. Ich ekspresja w komórkach nowotworowych jest obecnie wykorzystywana do prób opracowania szczepionki przeciwko białkom MAGE. Ponadto wspomniane limfocyty T CD8⁺ mogą rozpoznawać białko E7 wirusa HPV-16 ulegające ekspresji na zainfekowanych komórkach w raku płaskonabłonkowym szyjki macicy i tym sposobem zniszczyć te komórki (4).

Mechanizmy osłabiania odpowiedzi immunologicznej przez komórki nowotworowe

Antygeny nowotworowe mogą ulegać „złuszczeniu” z powierzchni komórek nowotworowych, tworząc tzw. „zasłonę dymną” (smoke screen effect) (20). Uwolnione antygeny wiążą się z przeciwciałami, tworząc rozpuszczalne kompleksy antygen–przeciwciało,

które obniżając stężenie swoistych, niezwiązanych przeciwciał, uniemożliwiają skuteczne „oznakowanie” komórki nowotworowej poprzez połączenie z jej antygenami powierzchniowymi. Powstające kompleksy lub same antygeny mogą również blokować receptory TCR (T-cell receptor) na limfocytach cytotoksycznych (Tc), uniemożliwiając wykrywanie komórek nowotworowych (ryc. 2) (6, 23). Dochodzi także do pojawienia się zjawiska modulacji antygenowej, tj. przesunięcia kompleksów antygen–przeciwciało znajdujących się na powierzchni komórki nowotworowej na jeden z jej biegunów, co czasowo pozbawia pozostałą powierzchnię błony komórkowej antygenów nowotworowych (6, 21).

Resumując można powiedzieć, że udział antygenów nowotworowych w mechanizmach odpornościowych oraz zdolność wywołania przez nie reakcji jest mała, m.in. ze względu na ich lokalizację w cytoplazmie komórek, co powoduje, że ich epitopy nie są prezentowane na powierzchni komórki i rozpoznawane przez komórki nadzoru immunologicznego. Niezależnie od tego procesy ignorancji, a także anergii mogą wynikać z braku sygnałów kostymulujących, pochodzących z oddziaływania CD28 i CD80 (9). Aktywację limfocytów Tc, posiadających receptor CD28, zwiększa bowiem ligand CD60 obecny na komórkach nowotworowych, którego brak osłabia efekt cytotoksyczny. Czasem limfocyty Tc prezentują antygeny otrzymane od nowotworu w połączeniu z własnym MHC klasy I, przez co same stają się ofiarą lizy przez sąsiednie limfocyty (9). Ponadto komórki nowotworowe unikają nadzoru ze strony limfocytów T w sytuacji, gdy:

a) mają niesprawny mechanizm przygotowania własnych antygenów w proteasomach, tj. zespole proteaz tzw. LMP (large multifunctional proteases), kodowanych przez geny LMP2 i LMP7. Mechanizm ten odpowiedzialny jest za przygotowywanie peptydów z białek cytoplazmy i transport ich na powierzchnię komórki nowotworowej w połączeniu z ukształtowanym antygenem MHC klasy I w celu prezentowania ich limfocytom T. Inhibitory proteasomów mogą też zablokować cykl komórkowy oraz apoptozę komórek nowotworowych;

b) tracą zdolność do prezentacji własnych antygenów z powodu niskiej ekspresji MHC klasy I (6, 22).

Udział komórek odczynu zapalnego oraz odpowiedzi immunologicznej w niszczeniu nowotworów

Mechanizmy efektorowe odpowiedzi immunologicznej związane z odczynem zapalnym oraz komórkami odpowiedzi odpornościowej przeciwko komórkom nowotworowym są oparte o odpowiedź komórkową (komórki NK, LAK, Tc, Th, makrofagi) oraz humoralną (przeciwciała).

Wiodącą rolę w odpowiedzi komórkowej pełnią komórki NK o fenotypie CD3⁻, CD16⁺, CD56^{+/+} i morfologii dużych ziarnistych limfocytów (LGL – large

granular lymphocytes), zabijające komórki nowotworowe bezpośrednio lub pośrednio w reakcji cytotoxyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC – antibody dependent cell mediated cytotoxicity) (21). Wywołanie bezpośredniego efektu cytotoxycznego zależy od przewagi sygnałów aktywujących (receptory KIR2DS, KIR3DS oraz receptory naturalnej cytotoxyczności NKp46, NKp44 i NKp30) nad hamującymi (receptory KIR2DL i KIR3DL – killer cell inhibitory/immunoglobulin-like receptors rozpoznające cząsteczki MHC klasy I). Receptory lektynowe (np. CD94/NKG2) rozpoznające nieklasyczne cząsteczki MHC klasy I (Ib) mogą hamować lub aktywować komórkę NK. Przyjmuje się zatem, że komórki nowotworowe wykazujące niską ekspresji MHC klasy I i przez to unikające rozpoznania ze strony limfocytów Tc właśnie z tego powodu są eliminowane przez komórki NK. Reakcja ADCC polega na związaniu za pomocą receptora Fc γ RIII (CD16) fragmentu Fc przeciwciała klasy IgG opłaszczającego komórkę nowotworową. Za swoistość wykrywania komórki docelowej odpowiada zatem element odpowiedzi humoralnej (przeciwciało) natomiast za efekt cytotoxyczny – komórka NK. Obie opisane drogi prowadzą do wywołania efektu cytotoxycznego polegającego na uwalnianiu zawartości ziaren, czyli perforyn (tworzących pory w błonie komórkowej komórek docelowych), granzymów (np. granzym B wywołuje zarówno cytolizę, jak i apoptozę) oraz granulizyny, co prowadzi do lizy komórki docelowej (5, 20). Komórki NK po aktywacji antygenami nowotworowymi wydzielają również TNF- β , IL-2, interferon gamma (IFN- γ), czynnik aktywujący makrofagi MAF (macrophage activating factor), co dodatkowo nasila odpowiedź typu komórkowego.

Wśród innych komórek biorących udział w odpowiedzi przeciwnowotworowej należy wymienić:

a) limfocyty NKT charakteryzujące się ekspresją receptora TCR $\alpha\beta$ i rozpoznające antygeny prezentowane na cząsteczkach CD1. Zabijają one komórki nowotworowe, uwalniając enzymy zgromadzone w swoich ziarnistościach lub indukując apoptozę poprzez interakcję ligandu FasL z cząsteczką Fas na komórce docelowej (21);

b) komórki LAK (lymphokine activated killers – komórki cytotoxyczne aktywowane limfokiną) to limfocyty aktywowane IL-2 o cechach aktywowanych komórek NK (fenotyp CD3 $^{-}$, CD16 $^{+}$ i morfologia LGL), które niszczą komórki nowotworowe nie wykazujące na powierzchni ekspresji antygenów MHC klasy I (9);

c) cytotoxyczne limfocyty T CD8 $^{+}$, w tym TIL (tumor infiltrating lymphocytes) o stukrotnie większej aktywności niż komórki NK;

d) limfocyty Th, które wspomagają syntezę przeciwciał przez limfocyty B (wydzielając IL-4, IL-5, IL-6), aktywują makrofagi do zabijania komórek nowotworowych (IFN- γ), aktywują komórki NK (dzięki IL-2, IL-21) lub same bezpośrednio niszczą komórki

nowotworowe, względnie hamują ich proliferację (dzięki TNF i limfotoksynom);

e) makrofagi, zabijające komórki nowotworowe na drodze apoptozy lub za pomocą TNF; monocyty, neutrofile oraz eozynofile.

Ostatnio wiele uwagi poświęcono roli makrofagów w obronie przeciwnowotworowej, jako komórek efektorowych odpowiedzi komórkowej o charakterze przewlekłym (6). Makrofagi (typu M1 i M2) zachowują się w otoczeniu nowotworów ambiwalentnie, tj. jedne pobudzają, a drugie hamują rozwój nowotworu (20, 22). Makrofagi M1 działając prozapalnie, poprzez sekrecję IL-1 i TNF- α , niszczą komórki nowotworowe na drodze apoptozy przez reaktywne formy tlenu (ROS – reactive oxygen species) o cechach toksycznych, tj. drogą klasyczną, jak w przypadku drobnoustrojów, lub przy pomocy TNF z wytworzeniem martwicy krwotocznej. Makrofagi M2 z kolei, działające przeciwzapalnie (produkcja IL-10, efekt cytotoxyczny w reakcji ADCC), promują rozwój nowotworów. Hamująco na proliferację komórek nowotworowych oraz komórek krwiotwórczych wpływają także interferony.

Makrofagi mogą „komunikować” się z komórkami nowotworowymi przy pomocy EGF (epidermal growth factor – naskórkowy czynnik wzrostu) i CSF-1 (colony stimulating factor 1 – czynnik pobudzający powstawanie kolonii), czyli są „korumpowane” przez komórki rakowe celem ułatwienia przerzutu, drogą promowania neoangiogenezy i modulacji ECM (14). Król i wsp. (10, 11) wykazali zahamowanie kanonicznego szlaku Wnt w komórkach raka sutka u suk z towarzyszącą aktywacją niekanonicznego szlaku Ca $^{2+}$ zależnego. W komórkach nowotworowych obserwowano aktywację ścieżki polarnej PCP (planer cell polarity). W kokulturze komórek rakowych z makrofagami notowano w komórkach raka indukcję procesu przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego, co świadczy o aktywacji niekanonicznego szlaku Wnt manifestującego się zwiększeniem ekspresji wimentyny i obniżeniem ekspresji cytokeratyny w stosunku do kontroli. Makrofagi towarzyszące nowotworowi powodują „przełączenie” z kanonicznego na niekanoniczny szlak Wnt w komórkach raka sutka. Jak wynika bowiem z badań Longana i Nusse (13), rozregulowanie przekąźnictwa szlaku sygnałowego Wnt może być powodem powstania raka. Przekąźnictwo zachodzi na drodze kanonicznego szlaku Wnt/ β -katenina i słabo poznanego niekanonicznego szlaku Wnt, drogą zależną od Ca $^{2+}$ oraz drogą polarną (17, 19, 26). Kanoniczny szlak Wnt hamuje aktywację niekanonicznego szlaku Wnt.

Przeciwnowotworowa odpowiedź humoralna przebiega poprzez aktywację dopełniacza (cytotoxyczność przeciwciał zależna od dopełniacza) lub poprzez ADCC. Przeciwciała opłaszczają komórki nowotworowe, a komórki NK, Tc lub makrofagi poprzez wiązanie fragmentów Fc tych przeciwciał warunkują efekt cytotoxyczny (6, 21).

Do komórek atakowanych przez limfocyty Tc należą nie tylko komórki nowotworowe, ale także komórki transformowane przez wirusy. W fazie indukcji odpowiedzi cytotoksycznej (limfocyty Tc) na antygeny wirusów onkogennych główną rolę gra IL-2, która jest wydzielana głównie przez komórki Th1. Stanowi ona sygnał do proliferacji dla cytotoksycznych limfocytów efektorowych, które swoiście rozpoznają i niszczą komórki prezentujące endogenne antygeny wirusowe na własnym MHC klasy I (23).

W wielu wypadkach odpowiedź immunologiczna jest nieadekwatna do potencjału proliferacyjnego nowotworu, a nawet w niektórych sytuacjach, ułatwia rozplętk nowotworu, powodując tzw. efekt ułatwienia immunologicznego (immunological inahement).

Zjawisko to wiąże się z tworzeniem kompleksów immunologicznych składających się z krążących przeciwciał i antygenów nowotworowych (tzw. czynniki blokujące) (ryc. 2). Wymienione kompleksy mogą (6, 9):

a) zablokować dostępność antygenów na powierzchni komórki nowotworowej, co uniemożliwia rozpoznanie ich przez limfocyty T i dalszą reakcję immunologiczną; warunkiem zaistnienia takiej sytuacji jest udział przeciwciał nie aktywujących dopełniacza na komórce nowotworowej;

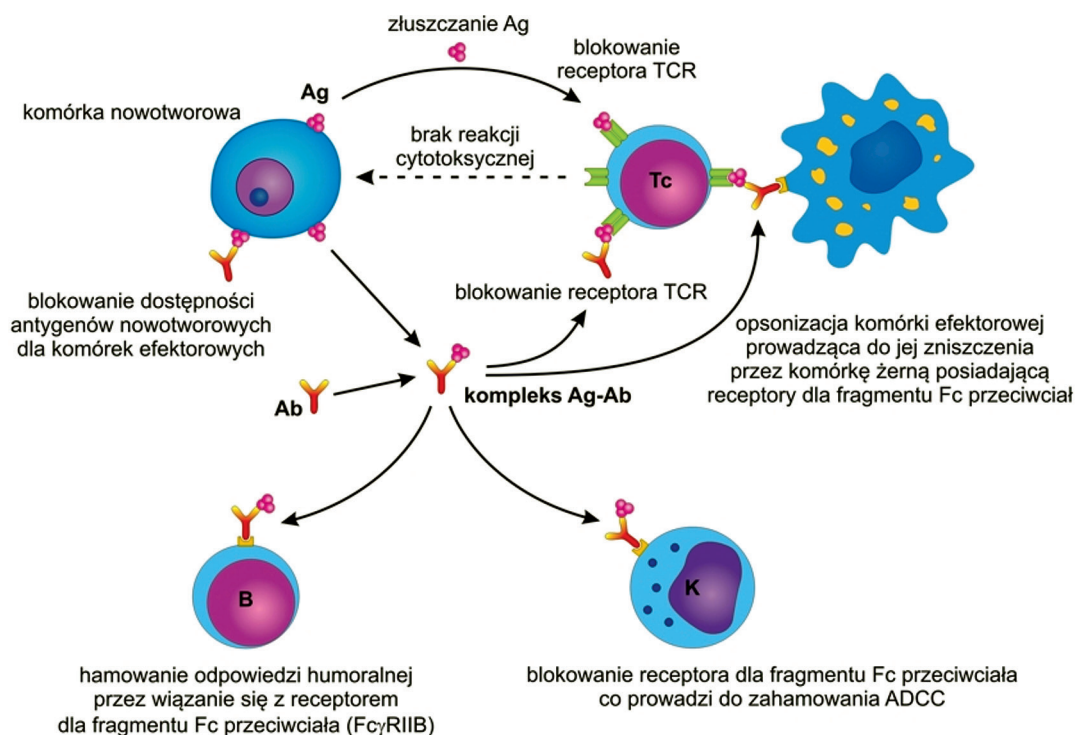
b) zablokować na powierzchni limfocytów receptory TCR potrzebne do rozpoznania komórek nowotworu, co „paraliżuje” cytotoksyczną funkcję limfocytów;

c) opsonizować komórkę efektorową (np. limfocyt T) i prowadzić do jej zniszczenia przez komórki posiadające receptor dla fragmentu Fc przeciwciał (np. makrofagi wątrobowe);

d) hamować ADCC poprzez wiązanie się z receptorem dla fragmentu Fc komórek K, co prowadzi do zablokowania tych receptorów;

e) hamować odpowiedź humoralną poprzez wiązanie się z receptorem FcγRIIB na limfocytach B.

Początkowo niewielkie i stopniowo wzrastające stężenie antygenów nowotworowych może również wywoływać efekt tolerancji ze strony układu immunologicznego, podobny do tego, jaki uzyskuje się podczas odczulania. Ponadto komórki nowotworowe



Ryc. 2. Udział kompleksów immunologicznych w hamowaniu przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej

Objaśnienia: Ag – antygen nowotworowy; Ab – przeciwciało rozpoznające antygen nowotworu; Tc – limfocyt T cytotoksyczny (komórka efektorowa); B – limfocyt B; K – komórka kilerowa (np. NK)

mogą wydzielać substancje hamujące mechanizmy immunologiczne, np. TGF- β , prostaglandynę E₂, IL-10, a obecne w obszarze nowotworu komórki dendrytyczne produkują 2,3-dioksygenazę indolaminy, który to enzym rozkłada tryptofan i hamuje aktywację limfocytów T (21).

Charakter odczynu zapalnego a rokowanie

Czasem komórki układu immunologicznego mogą zupełnie zniszczyć komórki nowotworowe w ognisku pierwotnym (2-3% przypadków) lub ognisko to nie jest widoczne, natomiast wykrywa się tzw. przerzuty wcześniejsze (*metastases praecoces*). Przykładem takiej obrony immunologicznej może być samoistny zanik nowotworów zbudowanych z trofoblastu (kosmówczak, złośliwy zaśniad groniasty), tj. tkanki zawierającej alloantygeny (izoantygeny) ojca, a więc obce geny (12). Korzystnym zjawiskiem jest także wzrost aktywności fagocytarnej w węzłach chłonnych wartowniczych (sentinental node), np. w raku sutka. Obecność nacieków zapalnych w otoczeniu komórek raka jest wskaźnikiem rokowniczym i jest on korzystniejszy dla pacjentów przy obecności limfocytów aniżeli plazmacytów (12). Jednocześnie należy podkreślić, że rozplętk limfocytów T w ECM nowotworów ma charakter poliklonalny, czyli nienowotworowy, o czym świadczy zróżnicowany repertuar ich TCR, w odróżnieniu od rozrostu nowotworowego, czyli monoklonalnego (4). Czasem komórki Tc sztucznie pobudza się przez podanie do komórek raka pęcherza moczowego u ludzi atenuowanych prątków gruźlicy

(BCG), celem wzbudzenia procesu zapalnego, którego efektem jest zupełny regres nowotworu (9). Wyjątkowo też komórki własne nowotworu napromieniowuje się *in vitro*, blokując ich podział, a następnie wraz z BCG podaje podskórnie temu samemu pacjentowi. Komórki wywołują stan zapalny, aktywują komórki dendrytyczne, same ginąc poprzez apoptozę. Tak pobudzone komórki dendrytyczne aktywizują następnie w węzłach chłonnych dziewicze limfocyty Tc do walki z nowotworem (8). Wśród komórek nacieku zapalnego oprócz limfocytów spotyka się także nie-liczne makrofagi, komórki dendrytyczne, granulocyty i mastocyty, z reguły zlokalizowane na obrzeżu guza nowotworowego, rzadko w jego właściwej masie. W końcu należy wspomnieć, że zapalenie okołogniskowe wokół nowotworu może czasem doprowadzić do bliznowacenia tkanki, a nawet ujawnić się w nowotworach niezłośliwych drażnionych mechanicznie.

Wspólna hodowla *in vitro* komórek nowotworowych i limfocytów – MLTC (mixed lymphocyte – tumor culture) pozwoliła na stwierdzenie, że układ immunologiczny pacjenta może reagować na obecność nowotworu (21), MLTC może bowiem stymulować komórki Th (CD4⁺), które proliferując wydzielają cytokiny, jak również pobudzać limfocyty Tc (CD8⁺) do aktywności cytotoksycznej (10). Z kolei obfity naciek limfoplazmocytny, z towarzyszącymi mu dużymi ziarniakami w ECM, złożonymi z komórek nabłonkowatych i komórek olbrzymich, spotykany w nasieniaku (*seminoma*), rokuje pomyślnie. Podobnie w raku zbudowanym z nabłonka powierzchniowego (*lymphoepithelioma*), a wywodzącego się z migdałków i jamy nosowo-gardłowej, obserwuje się obfity naciek limfocytarny. Tzw. wariant zapalny nowotworu – *fibrohistiocytoma malignum inflammatorius* obfituje w liczne neutrofile i eozynofile. W 40% czerniaków u ludzi spotyka się naciek limfocytów Tc. Czasem nawet nowotwór nosi nazwę „zapalnego”, jak ma to miejsce w raku sutka z odczynem skórny (*carcinoma inflammatorium*) (4). Z kolei w przypadku małej liczby limfocytów w chorobie Hodgkina (ziarnicy złośliwej) rokowanie jest niepomyślne.

Czynniki modulujące odpowiedź przeciwnowotworową

Efekt działania różnych ww. komórek zapalnych może być martwica komórek nowotworowych, wspomagana przez działanie takich czynników, jak: TNF α , TNF β , podanie BCG, bakteryjnego LPS czy pewnych wirusów (25). TNF jest produkowany przez aktywne makrofagi i monocyty oraz prawdopodobnie przez same komórki nowotworowe i posiada zdolność wywoływania martwicy krwotocznej nowotworów, między innymi wskutek uszkodzenia komórek śródbłonna na tle indukowania zakrzepicy oraz zespołu DIC (disseminated intravascular coagulation – uogólnionego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego). TNF może także nasilić syntezę czynnika aktywacji płytek

(PAF – platelet activating factor), produkcję cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 i IL-6, indukować ekspresję antygenów MHC klasy I, produkcję GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) oraz ułatwiać migrację leukocytów z mikrokrążenia (9). TNF zwiększa również liczbę receptorów dla interleukiny 2 (IL-2R) na limfocytach T, wzmagając ich zdolność do proliferacji, chociaż sama IL-2 może wywierać efekt przeciwnowotworowy, działając na komórki LAK i limfocyty T (9). Ponadto TNF, aktywując NF- κ B (nuclear factor – czynnik jądrowy κ B), pobudza aktywność mitotyczną i ekspresję protein oraz genu IL-8 w komórkach zrębowych (25). TNF, a także FasL (CD95L/ApoL), pobudzają również kwaśną sfgingomielinazę, odłączającą ceramid od sfgingomieliny. Ceramid, będący fosfolipidem zbudowanym ze sfgingomieliny połączonej wiązaniem amidowym z długołańcuchowym kwasem tłuszczowym, bierze aktywny udział w przetwarzaniu sygnałów dla komórek apoptotycznych (25), na przykład wzrost poziomu wewnątrzkomórkowego wolnego ceramidu, spowodowany spadkiem ilości galaktozyloceramidu, promuje apoptozę komórki (15).

Komórki nowotworowe giną wskutek klonalnej selekcji, tzn. część z nich jest niszczone przez układ immunologiczny, a inne giną w wyniku letalnych mutacji. Tak powstała masa martwych komórek nowotworowych może ulec zwapnieniu lub pojawiają się w jej obrębie ciała piaszczakowate (*corpora psammomatosa*), np. w raku jajnika (12). W centrum dużych guzów nowotworowych często dochodzi do martwicy z powstaniem tzw. pępka rakowego wypełnionego substancją przypominającą mleko (*succus cancrusus*). Rozległe masy martwicze mogą być źródłem substancji pirogennych. Antygeny z obumarłych komórek nowotworowych mogą drogą drenażu limfatycznego osiągnąć węzły chłonne wartownicze, powodując ich odczynowy rozrost (*lymphadenitis hyperplastica*), zwłaszcza poprzez proliferację histiocytów (*sinus histiocytosis*), co z kolei sprzyja hamowaniu nowotworzenia. Często w makrofagach centrów odczynowych węzłów chłonnych można wówczas spotkać większą liczbę sfagocytowanych ciałek apoptotycznych (tzw. tingible bodies) (12).

Niestety, mimo przytoczonych przykładów efektywnej przeciwnowotworowej obrony komórkowej dochodzi często do takiej proliferacji komórek nowotworowych, że układ obronny nie jest już w stanie ich zlikwidować. Nie należy zatem zbytnio przeceniać przeciwnowotworowej roli układu odpornościowego, mimo że wg teorii nadzoru immunologicznego Burneta (immune surveillance) chroni on organizm przed powstaniem nowotworów (21). Przemawia za tym fakt zwiększonej zapadalności na nowotwory złośliwe chorych z niedoborami immunologicznymi, zwłaszcza limfocytów T, zwiększona dynamika procesu nowotworowego u osób otrzymujących leki immunosupresyjne oraz z upośledzoną odpornością, głównie typu

komórkowego (6, 9). Przypuszcza się nawet, że układ immunologiczny pojawił się u kręgowców po to, aby rozpoznawać i niszczyć komórki nowotworowe (9). Po etapie pierwszym, tj. ograniczeniu apoptozy, przy jednoczesnym braku odczynu zapalnego, następuje etap drugi, czyli martwica komórek nowotworowych i naciek komórkowy oraz wysięk zapalny, a w końcu pojawia się etap trzeci, w którym immunologiczna ochrona komórkowa przeciwnowotworowa jest niewystarczająca i następuje nieograniczona progresja nowotworu.

Czasem komórki wchodzące w skład komórkowego odczynu immunologicznego Ics (immune inflammatory cells), a także komórki nacieku zapalnego mogą ulec dodatkowo transformacji i mamy wówczas do czynienia z powstaniem drugiego typu nowotworu w obrębie ECM, niezależnego od raka (14). I tak mogą powstać chłoniaki nieziarnicze typu MALTomata z limfocytów obecnych *in situ* lub powstałych tu *ad hoc*, czyli „chłoniaki wtórne”, np. w przebiegu procesów zapalnych o charakterze autoimmunologicznym, w których brak jest apoptozy komórek rozpoznających i uszkadzających własny organizm, a także w narządach immunologicznie „uprzywilejowanych” (immune privilege). W MALTomata dochodzi do aberracji chromosomalnej genów BCL-10 i MALT1, co zakłóca funkcję odpowiadających im białek, których rolą jest tworzenie kompleksów regulujących śmierć komórek. Z kolei źródłem dodatkowego nowotworzenia typu mięsaków (*sarcomatomata*) mogą być komórki MSCs (mesenchymal stem cells), CAF (cancer-associated fibroblasts – nietypowe fibroblasty „związane z rakiem”), limfocyty z ICs, a z komórek śródbłonna i pericytów – nowotwory mezenchymalne pochodzenia naczyniowego, tj. PEComata.

W końcu należy wspomnieć, że istnieją także mechanizmy hamowania rozplemu nowotworowego pozaimmunologiczne, a ich przykładem może być wpływ hormonów w nowotworach wywodzących się z układu dokrewnego (9).

Piśmiennictwo

1. Blackburn E. H.: Switching and signaling at telomere. *Cell* 2001, 106, 661-670.
2. Chaffer C. L., Weinberg R. A.: Perspective on cancer cell metastasis. *Science* 2011, 331, 1559-1564.
3. Condeelis J., Pollard J. W.: Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell* 2006, 124, 263-266.
4. Domagała W., Chosia M., Urasińska E.: Podstawy patologii. PZWL, Warszawa 2010.
5. Eichhorst S. T., Kramer P. H.: Derangement of apoptosis in cancer. *Lancet* 2001, 7, 358-345.
6. Golqb J., Jakóbisiak M., Lasek W., Stokłosa T.: Immunologia. Wyd. Nauk. PAN, Warszawa 2007.
7. Hayes D. F., Smerage J. B.: Circulating tumor cells. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2010, 95, 95-112.
8. Kawiak J., Hoser G.: Niektóre mechanizmy immunologiczne w nowotworach. Immunoterapia nowotworów w modelach zwierzęcych oraz w klinice. *Post. Biol. Kom.* 2000, supl. 15, 27, 91-101.
9. Kawiak J., Zabel M. (pod red.): Semina z cytofizjologii. Wyd. Med. Urban&Partner, Wrocław 2002.
10. Król M., Mucha J., Majchrzak K., Homa A., Bulkowska M., Majewska A., Gajewska M., Pietrzak M., Perszko M., Romanowska K., Pawłowski K., Manuali E., Hellemen E., Motyl T.: Macrophages mediate a switch between canonical and non-canonical Wnt pathways in canine mammary tumors. *PLOS ONE* 2014, 9, 1-13.
11. Król M., Pawłowski K. M., Majchrzak K., Gajewska M., Majewska A., Motyl T.: Global gene expression profiles of canine macrophages and canine mammary cancer cells grown as a co-culture in vitro. *Vet. Rec.* 8, 2012, 1-19.
12. Kumar V., Cotram R. S., Robbins S. L.: Robbins Patologia. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2007.
13. Logan C. Y., Nusse R.: The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2004, 20, 781-810.
14. Madej J. A.: Extracellular matrix in tumours as a source of additional neoplastic lesions – a review. *Bul. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 1-9.
15. Marcus J., Popko B.: Galactolipids are molecular determinants of myelin development and axo-glial organization. *Biochim. Biophys. Acta* 2002, 1573, 406-413.
16. Mego M., Mari S. A., Cristofanilli M.: Molecular mechanisms of metastasis – clinical applications. *Cancer Cell* 2010, 7, 693-701.
17. Newman A. C., Hughes C. C. W.: Macrophages and angiogenesis: a role of Wnt signaling. *Vascular Cell* 2012, 4, 13-20.
18. Pajqk B., Orzechowski A.: FLIP – przeciwnik, który może przegrać pojedynek w walce z czynnikami swoiście hamującymi translację. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2005, 59, 104-149.
19. Pollard J. W.: Macrophages define the invasive microenvironment in breast cancer. *J. Leukoc. Biol.* 84, 2008, 623-630.
20. Reed J. C.: Mechanisms of apoptosis. *Am. J. Pathol.* 2000, 157, 1415-1421.
21. Roitt I., Brostoff J., Male D.: Immunologia. PZWL, Wyd. Słowiński Verlag, Warszawa 2000.
22. Sawicki W., Malejczyk J.: Histologia. PZWL, Warszawa 2012.
23. Silbernagl S., Lang F.: Taschenatlas Pathophysiologie. 3 ed., Georg Thiema Verlag K.G. Stuttgart, Germany 2009.
24. Silini A., Ghilardi C., Figini S., Sangalli A., Fruscio R., Dahse R., Pedley R. B., Giavazzi R., Bani M.: Regulator of G – protein signaling 5 (RGS5) protein: a novel marker of cancer vasculature elicited and sustained by the tumor’s proangiogenic microenvironment. *Cell Mol. Life Sci.* 2012, 7, 1167-1178.
25. Vineis P., Schatzkin A., Potter J. D.: Models of cancerogenesis: an overview. *Carcinogenesis* 2011, 31, 1703-1709.
26. Wang Y.: Wnt/Planer cell polarity signaling: a new paradigm for cancer therapy. *Mol. Cancer Ther.* 2009, 8, 2103-2109.
27. Xie K., Huang S.: Regulation of cancer metastasis by stress pathways. *Clin. Exp. Metastasis* 2003, 20, 31-43.
28. Zheng L., Lee W. H.: The retinoblastoma gene: a prototypic and multifunctional tumor suppressor. *Exp. Cell Res.* 2001, 264, 9-15.

Adres korespondencyjny: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław; e-mail: janusz.madej@up.wroc.pl