

S. Chirumbolo***, A. Conforti*, S. Lussignoli*, R. Ortolani**, P. Bellavite***

BIOLOGIA MOLECOLARE E FUNZIONI DELLE CITOCHINE

Il termine citochine si riferisce ad una vasta serie di componenti proteiche prodotte dalle cellule in risposta ad una varietà di stimoli inducenti. I classici ormoni peptidici soddisfano una simile definizione ma essi sono prodotti da organi endocrini specifici mentre le citochine sono prodotte da diversi tipi cellulari in differenti tessuti [1,2].

Tutte le citochine condividono, dal punto di vista molecolare, la caratteristica comune di essere piccoli fattori proteici (tipicamente di 15-30 kDa), in alcuni casi modificati da residui carboidratici (glicoproteine).

In generale, si può ritenere come valido il concetto generale che l'azione delle citochine è quella di una componente che agisce su recettori definiti presenti sulle cellule bersaglio ed attiva una serie di modificazioni funzionali che possono essere principalmente:

- a** - mediazione della risposta immunitaria naturale o/e specifica tramite produzione di altre citochine o di altri mediatori e regolazione delle molecole di membrana (recettori);
- b** - azione sulla crescita ed il differenziamento cellulare;
- c** - azione sull'espressione e la sintesi proteica di altri fattori.

L'interazione citochina-cellule "target" (o "bersaglio") può essere distinta in tre categorie: autocrina, se la citochina agisce sulla cellula che l'ha prodotta; paracrina, se la citochina agisce su una cellula contigua ma differente rispetto al tipo cellulare che l'ha prodotta; telecrina se la citochina, prodotta da un definito tipo cellulare, viene rilasciata nel circolo sanguigno per agire su una cellula bersaglio in altra sede.

Per quanto riguarda la classificazione, si possono delineare alcune classi o raggruppamenti di citochine sulla base delle loro funzioni e del loro ruolo.

Una prima distinzione prevede il raggruppamento delle citochine in fattori di crescita, linfocine, fattori stimolanti le colonie o CSF (la lista delle abbreviazioni usate è riportata in fondo), fattori di crescita trasformanti o TGF, fattori di necrosi tumorale o TNF ed interferoni o IFN.

Una seconda classificazione distingue le linfocine (prodotte dai linfociti), le monocine (prodotte dai fagociti mononucleati) e le chemochine (dette anche intercrine), citochine pro-infiammatorie prodotte da diverse cellule [3]. Queste classificazioni assumono un semplice significato didattico, in quanto la maggior parte delle citochine ha un notevole pleiotropismo di bersagli e ridondanza d'azione e pertanto il ruolo di una citochina di un gruppo può spesso sovrapporsi a quello di una seconda citochina di altro raggruppamento. Tale concetto è illustrato dall'esempio riportato in figura 1, dove si vede come i fagociti (in questo caso i macrofagi) attivati da vari stimoli producono varie citochine che hanno varie azioni, più o meno ad ampio spettro.

Compatibilmente con delle esigenze didattiche, si può disegnare un quadro generale della funzione delle citochine prendendo in esame le loro attività come:

- agenti capaci di promuovere la crescita, la proliferazione ed il differenziamento cellulare (fattori di crescita);
- agenti capaci di instaurare reti di comunicazione nel sistema immunitario (linfocine ed interleuchine);
- agenti coinvolti nelle reazioni infiammatorie (chemochine, linfocine).

* Istituto di Farmacologia

** Istituto di Immunopatologia

*** Istituto di Chimica e Microscopia Clinica
Università di Verona

Ovviamente, un argomento di tale vastità non può essere trattato esaurientemente in una singola rassegna. Qui ci si limiterà ad alcune note di carattere generale ed a fornire notizie essenziali sulle azioni della maggior parte delle citochine note, rimandando ulteriori approfondimenti alla letteratura citata.

RUOLO DELLE CITOCINE COME FATTORI DI CRESCITA E DI DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

Uno dei ruoli più significativi delle citochine è quello di promuovere e controllare la crescita, la proliferazione ed il differenziamento cellulare; numerose citochine assolvono questo compito in modo pressoché univoco e per tale motivo vengono più comunemente conosciute con il nome di fattori di crescita (growth factors).

I fattori di crescita rappresentano una vastissima classe di componenti particolarmente implicate nella crescita e nel differenziamento cellulare. Sebbene, come avremo modo di constatare, ci sia una sovrapposizione di ruoli tra citochine diverse (ad esempio: l'interleuchina 3 è un noto fattore emopoietico), si possono considerare fattori di crescita le citochine elencate in Tabella 1.

Molte di queste componenti agiscono su cellule di origine ectodermica, sulle cellule epiteliali e su cellule di origine mesodermica e sono raggruppate in famiglie, come ad esempio la famiglia dei fattori di crescita trasformanti beta, TGF- β , di cui si conoscono almeno due dozzine di membri [4].

Un gruppo che si va ampliando è rappresentato dalla famiglia dei fattori di crescita epidermici di cui il fattore di crescita epidermico (EGF) è il rappresentante più noto [5]. Questa famiglia include diversi mitogeni, tra cui il fattore di crescita trasformante alfa (TGF- α) [6], il fattore di crescita vaccinico [7], il fattore di crescita derivato dall'anfregulina/schwannoma (AR o SDGF) [8], il fattore simil-EGF legante l'eparina (HB-EGF) [9], il fattore di differenziamento neuronale neu (NDF) [10] e le ereguline [11].

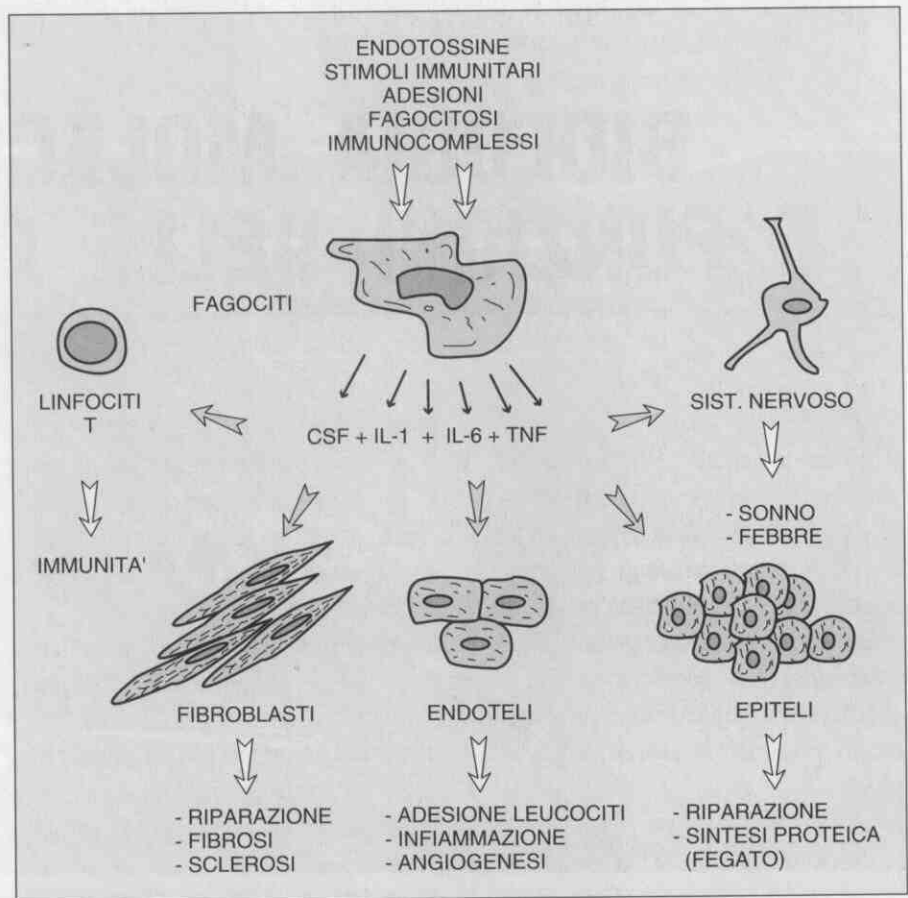


Fig. 1 - Rappresentazione schematica del pleiotropismo di funzioni caratterizzante l'azione delle citochine nella fisiologia dell'organismo. Vari stimoli di natura esogena od endogena innescano la produzione di citochine (citochine infiammatorie) da parte del sistema fagocitario. Questo meccanismo induce la risposta immunitaria specifica ed una serie di reazioni riguardanti: a) la riparazione dei tessuti lesi (azione sulle cellule mesodermiche ed epiteliali, fibroblasti, eventuale formazione di strutture fibrotiche o sclerotiche); b) l'endotelio (espressione di molecole adesive per i leucociti e le piastrine, produzione di sostanze legate all'infiammazione, angiogenesi); c) la sintesi di proteine epatiche (proteine della fase acuta); d) un'azione sul sistema nervoso centrale e sull'asse ipotalamo-ipofisario (produzione di ACTH, febbre, sonnolenza).

Tutti questi membri si legano al medesimo recettore di superficie di 170 kDa e condividono una rilevante omologia di sequenza con alcuni domini dell'EGF, soprattutto per la conservazione di 6 residui di cisteina nelle posizioni 35-40.

Come l'EGF anche il TGF- α è un potente fattore angiogenico *in vivo* ed inoltre è uno stimolatore della migrazione dei cheratinociti. L'azione su cellule di origine ecto o mesodermica rappresenta uno degli elementi chiave nel ruolo assunto dalle citochine nello sviluppo e nella riparazione dei tessuti. Diversi fattori di crescita presentano anche pro-

prietà angiogeniche, cioè di crescita cellulare dei vasi sanguigni, proprietà che sono appannaggio di una citochina recentemente caratterizzata da linee tumorali umane di adenocarcinoma al colon, l'angiogenina umana (ANG) [12], le cui caratteristiche molecolari permetterebbero di includerla nella superfamiglia delle ribonucleasi. Attualmente, non esistono evidenze circa l'esistenza di un effetto diretto dell'ANG sulla crescita dei vasi: sembra, piuttosto, che essa faciliti il ruolo di altri fattori come il TGF- β e gli FGF acido e basico che vedremo più avanti. Inoltre, favorisce l'adesione e la migrazione

NOME	CARATTERISTICHE	FUNZIONI BIOLOGICHE
TGF- α	50 aa, 6 kDa	Mitogeno per fibroblasti. Induzione sviluppo epitelio e migrazione cheratinociti.
TGF- β	112 aa, 25 kDa Tre forme: TGF β 1, β 2 e β 3	Soppressione di funzioni dei linfociti T e B e di cellule NK e di monociti. Stimolazione chemiotassi dei fagociti. Stimola formazione di ECM e osteoblasti. Controllo dello sviluppo.
EGF	53 aa, 6 kDa	Crescita e differenziamento di epitelio e cellule mesenchimali. Inibizione della secrezione gastrica.
HB-EGF	86 aa	Ruolo nella riparazione delle ferite.
FGF	18-28 kDa 7 forme di FGF	Mitogeno per fibroblasti ed altre cellule di natura ecto, endo o mesodermica.
CSF	Distinti in GM-CSF, G-CSF e M-CSF	Ematopoiesi.
HGF	Due subunità: α (440 aa, 50.8kDa) e β (234 aa, 26 kDa) Presenza kringle	Stimolazione melanociti e cheratinociti, epitelio renale, dell'endotelio e sviluppo epatico.
IGF	Due forme: IGF-I (70 aa) e IGF-II (67 aa)	Crescita e mantenimento del tessuto nervoso. Regolazione crescita ossa e fetale.
NGF	121 aa, 13.5 kDa	Induzione Ig in linfociti B, Attivazione cellule infiammazione. Crescita del sistema nervoso.
PDGF	200 aa, 30 kDa	Attività mitogenica.
Vasculotropina	130 aa, 34-42 kDa	Attività angiogenica.
Angiogenina	123 aa, 14.2 kDa	Attività angiogenica.
SCF	189 aa, 23 kDa	Ematopoiesi.

Tab. 1 - Citochine e fattori di crescita

dei fibroblasti legandosi alla matrice extracellulare (ECM), e si pensa che favorisca la polimerizzazione ed il rilascio dell'actina della superficie cellulare, pre-requisito per l'ancoraggio delle cellule epiteliali all'ECM ed importante, ad esempio, nel caso della crescita dell'epitelio della cornea. Fondamentale è soprattutto il ruolo delle citochine nella crescita e fisiologia dei fibroblasti il quale viene assunto da alcuni fattori come l'HB-EGF [9], un fattore mitogenico specifico per i fibroblasti, che non agisce sulle cellule endoteliali a differenza di altre componenti della famiglia degli EGF a cui appartiene e, come gli FGF che vedremo avanti, interagisce con gli eparan-solfato proteoglicani (HSPG) presenti, ad esempio, sulla superficie delle cellule muscolari lisce: quest'ultima condizione sembra che venga ri-

chiesta per il legame ad alta affinità di HB-EGF al recettore per l'EGF. Probabilmente quest'ultimo dato indicherebbe che l'interazione con i componenti della matrice extracellulare, con le cellule epiteliali e/o endoteliali, sia, per molte citochine, un requisito importante per il ruolo come fattori di crescita: l'interazione rappresenta, probabilmente, un elemento in un complesso sistema di comunicazioni, finemente regolato, tra i diversi tessuti.

Nell'ambito dei fattori di crescita significative, a questo proposito, appaiono due categorie di citochine: i fattori di crescita del fibroblasto (FGF) e i fattori di crescita delle colonie emopoietiche (CSF). La famiglia degli FGF comprende almeno 7 membri finora noti i quali assumono un ruolo fondamentale nella fisiologia dei fibroblasti. Essi favori-

scono lo sviluppo, il mantenimento e la riparazione dei tessuti, la loro rigenerazione e riparazione ed inoltre sono implicati anche nella tumorigenesi e nelle metastasi.

I membri della famiglia hanno circa il 30-50% di omologia di sequenza, agiscono su cellule di origine meso-, ecto- ed endodermica, e quasi tutti sono mitogenici per i fibroblasti [13]. FGF-1 e FGF-2, ad esempio, stimolano tutte le cellule di origine mesodermica, oltre a cellule di altra origine. Il KGF o FGF-7, di 28 kDa, è un fattore legante l'eparina (da questo punto di vista simile all'HB-EGF) che viene prodotto in rilevanti quantità durante la reazione di riparazione dei tessuti, insieme ad un incremento di espressione del suo recettore (KGFR).

L'attività proliferativa e di crescita può riguardare molti altri tessuti ed organi, ad esempio: a) il tessuto nervoso, verso cui agisce la famiglia dei fattori di crescita simil-insulina (insulin-like), che hanno un ruolo anche nel differenziamento del tessuto timico e il fattore di crescita dei nervi (NGF) che, come vedremo più avanti, ha un ruolo anche nel sistema immunitario; b) il fegato, nei confronti del quale agisce il fattore di crescita degli epatociti (HGF).

Questa citochina ha un notevole pleiotropismo in quanto promuove anche la crescita e la sintesi di DNA nei melanociti dell'epidermide, nei cheratinociti, nell'epitelio gastrico, nell'endotelio vascolare, negli epatociti e nell'epitelio biliare.

Inoltre è interessante notare che la struttura molecolare dell'HGF presenta un motivo *kringle*, struttura condivisa anche dal fibrinogeno e dalla lipoproteina Lp(a).

I diversi distretti tissutali sono più o meno influenzati dall'azione dei fattori indicati; molto spesso l'azione proliferativa è da collegarsi con una risposta adattativa dell'organismo. È il caso, ad esempio, di alcune citochine coinvolte nella complessità dei meccanismi immunologici.

È ormai accertato che esista uno stretto collegamento tra il sistema immunitario e l'attività ematopoietica. I CSF sono un gruppo di citochine che possiedono la capacità

di stimolare *in vitro* la formazione di colonie di cellule progenitrici ematopoietiche. *In vivo* il loro ruolo è quello di stimolare la proliferazione e la funzione delle linee granulocito/monocitiche (GM-CSF), neutrofiliche (granulocitiche) (G-CSF) e macrofagiche (M-CSF) [14-16].

Il GM-CSF, di 124 aa, P.M. 35 kDa, codificato da un gene sul cromosoma 5 (linked ai geni per l'IL-3, l'IL-4 e l'IL-5), stimola la proliferazione delle colonie immature di neutrofili, monociti/macrofagi ed eosinofili ma anche quella dei progenitori della linea eritroide e dei megacariociti. La citochina viene espressa, come l'IL-3, dai linfociti T, ma anche dai fibroblasti e dalle cellule endoteliali del midollo osseo.

In effetti, quest'ultimo tipo di cellule esprime anche gli altri CSF citati, G-CSF, citochina attiva sulla linea granulocitaria, e M-CSF che è attiva sulla linea monocitico/macrofagica.

Queste due citochine non vengono prodotte dai linfociti T ma dall'endotelio, dalle cellule stromali del midollo, dai neutrofili e dai macrofagi.

La citochina M-CSF, viene prodotta anche dai fibroblasti. Attualmente si conosce una ulteriore citochina ematopoietica, il fattore di crescita della cellula staminale (*stem cell factor*) o SCF, detto anche fattore di Steel. Questo fattore, prodotto dalle cellule stromali, agisce sui progenitori della linea mieloide e linfoide ma in particolare sui mastociti immaturi e maturi, per cui viene definito anche fattore di crescita delle mast cells o MGF, stimolando la proliferazione delle colonie e la produzione di mediatori infiammatori nei mastociti maturi, sia in assenza che in presenza di stimoli IgE-associati [17].

Il ruolo assunto dalle citochine come fattori di crescita, proliferazione cellulare e differenziamento è una caratteristica abbastanza comune alla maggioranza di questi fattori. Si tratta di una proprietà che consente a queste molecole di controllare la fisiologia cellulare in un modo che ricorda molto da vicino quello assunto dai classici ormoni peptidici.

Da questo punto di vista, si tratta di una funzione molto delicata e per ciò stesso "vulnerabile" dalla patologia: un'eccessiva produzione o una abnorme struttura molecolare delle citochine può rappresentare un elemento patogenetico fondamentale nello sviluppo delle neoplasie, come è dimostrato dal fatto che i geni codificanti per molte citochine si comportano da oncogeni quando affetti da mutazioni.

INTERLEUCINE E RUOLO DELLE CITOCINE NEL SISTEMA IMMUNITARIO

Molte citochine sono definite in un contesto molto più stringente e strategico che è quello della risposta immunitaria. In questo caso, comunque, non è appropriato fare una reale distinzione poiché molte citochine mediano la risposta immunitaria specifica (anticorpo dipendente) a quella aspecifica (fagociti) ed inoltre popolazioni cellulari coinvolte primariamente nei fenomeni di immunità naturale ed infiammatori (granulociti) producono citochine importanti nel reclutamento e nella comunicazione con i linfociti B e T.

Sicuramente, si possono ritenere citochine per antonomasia un gruppo di citochine prodotte dal sistema immunitario e definite *interleucine*. Questo termine è attribuito ad un gruppo di almeno 15 molecole note a tutt'oggi che hanno il compito precipuo di mediatori nella risposta immunitaria naturale e/o specifica (Tabella 2).

Queste molecole assolvono un compito strategico mediando la funzione del sistema immune naturale o aspecifico con quella del sistema immunitario specifico o anticorpo dipendente (Figura 2). La funzione stessa di queste citochine costituisce un "network" di interazioni nella quale medesime citochine agiscono su più cellule bersaglio.

L'interleuchina-1 (IL-1), definita anche pirrogene endogeno, agente della febbre, è probabilmente una delle citochine più note ed importanti [18]. Esistono due forme di interleuchina 1: l'IL-1 α e IL-1 β . Entrambe possiedono uno spettro di proprietà infiamma-

torie, metaboliche, fisiologiche, ematopoietiche ed immunologiche simili.

L'IL-1 α , attiva anche come pro-peptide di 31 kDa, ed l'IL-1 β esercitano i loro effetti legandosi a recettori specifici appartenenti alla famiglia delle immunoglobuline: un recettore di 80 kDa, indicato con IL-1RtI, presente sui linfociti T, i fibroblasti, i cheratinociti, le cellule endoteliali, le cellule della sinovia, i condrociti e gli epatociti, con un dominio intracitoplasmatico di 213 aa, ed un recettore di tipo II, indicato con IL-1RtII, espresso sui linfociti B, i neutrofili e le cellule del midollo osseo, del P.M. di 68 kDa, con una porzione citoplasmatica ridotta di 29 aa. L'azione delle due forme riguarda l'uso di entrambi i recettori, pur avendo struttura molecolare diversa e probabilmente funzione diversa.

Un ruolo per il recettore di tipo II, sprovvisto di una porzione che conduca a ritenere l'uso di un sistema di trasduzione del segnale come per il recettore di tipo I, potrebbe essere quello di essere impiegato principalmente come recettore solubile, che serve a regolare l'attività dell'IL-1, in appropriate condizioni. La produzione di IL-1 può essere influenzata da diversi fattori, come ad esempio le prostaglandine e le prostacicline, ed è determinata in seguito ad una infezione o all'incidenza di un danno cellulare. I tipi cellulari che producono citochine comprendono, oltre ai monociti-macrofagi, i linfociti B e T, i fibroblasti, i cheratinociti della pelle, gli astrociti e le cellule della microglia.

Le funzioni dell'IL-1 sono molteplici; probabilmente la sua funzione principe è quella di mediare la risposta infiammatoria dell'ospite nell'immunità naturale. L'IL-1 induce la sintesi dei fattori di necrosi tumorale e di IL-6 dai monociti/macrofagi, attiva le cellule T, soprattutto quelle CD4+, facendo esprimere, in questi linfociti, il recettore per l'IL-2 e inducendo nel contempo anche la produzione di IL-2. L'azione dell'IL-1 sui linfociti T inoltre induce sintesi di GM-CSF e di IL-4 da queste cellule. Inoltre IL-1 agisce sulle cellule natural killer (NK), come la IL-2, la IL-12 e la IL-15, e contribuisce con queste ultime citochine all'attività tumoricida.

NOME	CARATTERISTICHE	FUNZIONI BIOLOGICHE
Interleuchina 1	Due forme: IL-1a 159 aa ed IL-1b 153 aa. P.M. 17 kDa febbre.	Induzione e/o soppressione di altre citochine. Induce e attiva endotelio. Induce sintesi APP. Azione sinergica con IL-3 e GM-CSF. Co-stimolazione di linfociti B e T.
Interleuchina 2	133 aa, 15-18 kDa	Differenziamento dei linfociti T. Stimola i linfociti B e cellule NK.
Interleuchina 3	134.140 aa, 28 kDa	CSF multipotente. Stimola la crescita dei mastociti.
Interleuchina 4	120 aa, 19 kDa	Proliferazione linfociti B. Induce sintesi IgG ed IgE. Sinergismo con G-CSF.
Interleuchina 5	115 aa, 34 kDa	Differenziamento eosinofili
Interleuchina 6	189 aa, 21 kDa	Crescita e differenziamento di linfociti B. Co-stimola i linfociti T. Induce APP. Stimolazione epatica.
Interleuchina 7	152 aa, 15 kDa	Proliferazione timociti e linfociti T. CSF per la linea linfoide.
Interleuchina 8	72 aa, 8 kDa	Attivazione e chemiotassi dei neutrofili.
Interleuchina 9	126 aa, 14 kDa	Crescita dei CD4+. Stimolazione del BFU-E.
Interleuchina 10	160 aa	Inibizione sintesi di IFN e IL-2 dai linfociti T.
Interleuchina 11	178 aa, 19 kDa	Megacariocitopoiesi. Crescita delle linee cellulari indotte da IL-6.
Interleuchina 12	197 aa, 73 kDa	Sinergismo con IL-2 per l'attivazione delle cellule NK. Crescita dei linfociti T.
Interleuchina 13	132 aa	Attivazione di linfociti B. Crescita di linfociti B. Inibizione della sintesi di citochine nei monociti.
Interleuchina 14	483 aa	Crescita dei linfociti B. Inibisce secrezione Ig.
Interleuchina 15	114 aa	Proliferazione linfociti T. Attivazione cellule NK.
Fattore di necrosi	157 aa Due forme: α (17 kDa) e β (19 kDa)	Citotossicità per tumori. Crescita e differenziamento linfociti T. Induzione di integrine. Induce febbre. Attiva endotelio.
Interferone γ	143 aa, 20-25 kDa	Effetti anti-proliferativi. Attivazione cellule NK. Espressione antigeni MHC-II. Azione antivirale. Attiva macrofagi.
RANTES	60 aa	Chemioattrattante per monociti e linfociti T.
MCP-1/MCAF	76 aa	Regolazione espressione molecole di adesione e produzione citochine in monociti.
MIP	Due forme: MIP-1a (66 aa) e MIP-1b (69 aa)	Chemiotassi monociti. Attivazione mastociti.
GRO α /MGSA	73 aa	Chemiotassi dei neutrofili.
NAP-2		Chemiotassi dei neutrofili.
Fattore inibitorio leucemico		Sinergismo con IL-3 Attiva APP. Inibizione adipogenesi come IL-11.
Oncostatina M	28 kDa	Regola espressione IL-6 in endotelio. Induce APP ed espressione rec. HDL.
Pleiotrofina	136 aa	Ruolo in embriogenesi.
SLPI	11.7 kDa	Inibizione elastasi dei leucociti.
LMW-BCGF	106 aa, 12 kDa	Stimolazione linfociti B.

Tab. 2 - Interleuchine e citochine implicate nella risposta immune

L'azione modulatrice dell'IL-1 può coinvolgere l'attivazione di fattori nucleari implicati nella trascrizione genica. Si sa attualmente che almeno due fattori sono IL-1 inducibili: il fattore NF κ -B e il fattore AP-1. Questa azione di stimolazione o inibizione dell'espressione genica è varia: l'interleuchina 1 (IL-1) incrementa la sintesi della maggioranza delle interleuchine, dei TNF e di molti CSF, incrementa la sintesi di fattori collegati con le reazioni infiammatorie (complemento, PDGF, proteine amiloidogeniche, molecole di adesione, attivatore del plasminogeno) mentre inibisce, ad esempio, la sintesi di albumina, di tireoglobulina, di citocromo P450.

IL-1 non agisce solo sul sistema immunitario ma ha effetti sul sistema nervoso, aumentando, ad esempio, la funzione del recettore per il GABA, ha effetti sugli epatociti, sia attraverso la produzione di IL-6, sia direttamente, aumentando la sintesi proteica, in particolare di alcuni fattori come la SAA (la proteina siero-amiloide), il fibrinogeno, le metallotionine. È ben noto che la stessa molecola funge da pirogeno endogeno influenzando il centro termoregolatore dell'ipotalamo (insieme a TNF- α e a IL-6).

Recentemente è stato identificato un inibitore endogeno della funzione della IL-1, definito antagonista del recettore per l'IL-1 (IL-1ra) che viene rilasciato *in vivo* in alcuni casi come nella flogosi indotta o in alcune patologie infiammatorie. IL-1ra blocca l'attività di IL-1 sia *in vitro* che *in vivo*, legandosi al recettore di tipo II (IL-1RII); il compito di questo fattore, di 25 kDa, glicosilato, che mostra una omologia del 19% con IL-1 α e del 26% con IL-1 β , è quello di regolare l'attività dell'interleuchina che, se portata a condizioni estreme, può provocare sindromi da shock.

Mentre l'IL-1 assume il ruolo di citochina chiave nella risposta infiammatoria collegata con il sistema immunitario specifico, soprattutto grazie all'azione stimolante l'espressione dei recettori per l'interleuchina 2, quest'ultima citochina assume un ruolo importantissimo nella risposta immunitaria cellulo-mediata.

L'interleuchina 2 (IL-2) viene sintetizzata e secreta primariamente dai linfociti T helper dopo attivazione da parte di APC o mitogeni [19]. Si tratta di un prodotto specifico della linea Th1, la quale produce anche IFN- γ e TNF- β mentre non producono IL-4 e IL-5 che invece sono prodotti, con IL-6 e IL-9, dalla linea Th2.

Fondamentalmente, l'IL-2 si può considerare un fattore di crescita dei linfociti T.

È una glicoproteina caratterizzata per la prima volta nella linea leucemica Jurkat. Oltre ad assumere un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria specifica, la sua azione influenza altre cellule come i neutrofili ed i macrofagi, agisce probabilmente come neuromodulatore, come fattore di crescita delle cellule gliali, stimola l'attività delle cellule NK attivate (LAK) e delle cellule TIL (linfociti infiltrati nei tumori).

Chiave di volta del legame tra risposta immunitaria ed ematopoiesi sono alcune citochine legate sullo stesso cromosoma: l'interleuchina 3, l'interleuchina 4 e l'interleuchina 5: l'associazione genetica tra il GM-CSF ed alcune interleuchine, infatti, cioè la IL-3, IL-4 ed IL-5, suggerisce un ruolo per quest'ultime di mediazione tra la risposta immunitaria e la proliferazione ematopoietica.

Come l'IL-2 anche l'IL-3 viene prodotta dai linfociti T attivati [20]. La sua funzione, però, è proprio quella di un fattore emopoietico, come le citochine CSF, e di collegamento (interleuchina) tra il sistema immunitario maturo e la emopoiesi. Al pari di molte citochine, anche l'IL-3 ha molte cellule bersaglio: macrofagi, neutrofili, eosinofili, progenitori eritroidi, megacariociti, mastociti ed inoltre viene prodotta da diversi tipi cellulari come le cellule dell'epitelio timico e i neuroni/astrociti. Oltre al suo ruolo come ematopoietina, agisce come fattore di crescita dell'epitelio, protegge le *mast cells* dal fenomeno dell'apoptosi, agisce sui linfociti T e sui basofili.

L'interleuchina 4 (IL-4) [21] e l'interleuchina 5 (IL-5) [22] sono due citochine che inducono la proliferazione dei linfociti B, sebbene per l'IL-5 l'azione di proliferazione sui linfociti B è stata vista solo nel topo, mentre sull'uo-

mo è attiva solo sulla linea eosinofila. L'IL-4, prodotta dai linfociti T attivati, è una glicoproteina che attiva i linfociti B aumentando l'espressione degli antigeni MHC di classe II e del CD23, induce lo "switch" isotipico di IgE e di IgG₄, incrementa il potenziale citolitico dei linfociti T CD8+ e delle cellule LAK, funzionando in concerto con l'IL-2, e favorisce, come il fattore di Steel, la crescita dei mastociti. Per il suo ruolo stimolatore della sintesi di IgE, tale interleuchina è certamente coinvolta nella patogenesi delle allergie.

La maggior parte delle interleuchine ha quindi un ruolo nella crescita e della proliferazione linfocitaria e nel reclutamento dei leucociti dell'immunità naturale. D'altra parte, molte interleuchine assumono anche un ruolo determinante nel contesto dell'ematopoiesi e nella funzione e mantenimento delle linee mieloidi e linfoidi mature, oltre che di quelle eritroidi e megacariocitiche.

L'IL-7 è prodotta dalle cellule stromali del midollo ed è un potente fattore di crescita per i linfociti T e per i timociti: secondo alcuni autori essa rappresenta l'analogo dei CSF per la linea linfoide [23].

Anche l'interleuchina 6 ha un ruolo come fattore stimolatorio nei confronti dei linfociti B (la citochina viene infatti anche conosciuta come fattore stimolatorio 2 della cellula B o BSF-2), estrinsecandosi quindi nel differenziamento dei linfociti e nella produzione di anticorpi [24]. La funzione, però, dell'IL-6 è molteplice in quanto agisce sui linfociti T stimolandone la produzione di IL-2 e l'espressione del suo recettore IL-2R e incrementa il differenziamento dei linfociti T citotossici in presenza di IL-2 o interferone gamma (IFN- γ). L'IL-6 è una vera citochina pleiotropica, prodotta da diversi tipi cellulari (monociti/macrofagi, fibroblasti, epatociti, cheratinociti, astrociti, cellule dell'endotelio vascolare, osteoblasti, cellule del Sertoli, vari carcinomi e sarcomi) e che agisce sugli epatociti, stimolando, come l'IL-1, la sintesi di proteine della fase acuta, ed agisce anche sui precursori staminali ematopoietici.

Dell'interleuchina 8 (IL-8) si tratterà nella sezione successiva.

Le restanti interleuchine note, l'interleuchina 9 (IL-9), l'interleuchina 10 (IL-10), l'interleuchina 11 (IL-11), l'interleuchina 12 (IL-12), l'interleuchina 13 (IL-13), l'interleuchina 14 (IL-14) e l'interleuchina 15 (IL-15) sono quelle più recenti come scoperta.

L'interleuchina 9 (IL-9) [25] viene prodotta dalle stesse linee cellulari che producono la IL-4 e la IL-5, cioè i linfociti CD4+ Th2, insieme a tali interleuchine, ed alla IL-10, fa parte di quel gruppo di citochine che assumono un ruolo determinante nella risposta immunitaria specifica. Alcuni autori la ritengono un fattore di stimolazione autocrina per alcuni linfomi. Le sue azioni sono, oggi, ancora poco note: oltre a stimolare i linfociti CD4+, sembra che abbia un'azione sinergica con l'eritropoietina nello sviluppo delle BFU-E (unità formanti la proliferazione eritroide).

Anche l'IL-10 è prodotta dai linfociti CD4+ Th2 ma, a differenza delle interleuchine viste finora, sembra che abbia una attività immunosoppressiva sulla proliferazione e sulla produzione di citochine dei linfociti Th1 e Th2 ed inibendo i macrofagi a presentare l'antigene ai linfociti [26]. Nel topo essa inibisce anche la produzione di IFN- γ e per questo motivo l'IL-10 è stata anche denominata "fattore che inibisce la sintesi delle citochine" o CSIF. Essa può sopprimere la produzione di numerose citochine pro-infiammatorie, incluso il TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, etc., dopo stimolazione dei monociti. Il suo ruolo può essere, dunque, rilevante nell'immunosoppressione, sebbene sia stato riscontrato che l'IL-10 abbia anche attività immunostimolanti nei confronti dei linfociti B, dei timociti e dei mastociti.

L'interleuchina 11, scoperta nel 1990 come fattore capace di indurre la produzione di IL-6 in linee di plasmacitoma umane, è stata evidenziata come fattore di crescita simile alla interleuchina 3 ed ai CSF [27]. La sua azione, infatti, è quella di regolare la crescita ed il differenziamento delle linee ematopoietiche ma è anche rivolta, come l'IL-6, agli epatociti per la produzione di proteine della fase acuta.

L'IL-12 assume un ruolo simile all'IL-2. In realtà, questa interleuchina, nota come fattore di stimolazione delle cellule natural killer o NKSF, una glicoproteina che presenta omologia con l'IL-6, assume un ruolo stimolatorio oltre che nei confronti delle cellule NK anche verso i linfociti T [28,29]. Inoltre contribuisce all'attivazione dei macrofagi tramite la sintesi di IFN- γ .

L'interleuchina 13 (IL-13), definita anche proteina P-600, viene prodotta dai linfociti T [30,31] ma non agisce su queste cellule. Essa induce la crescita ed il differenziamento cellulare dei linfociti B. Inoltre assume un ruolo inibitorio nei confronti della produzione di citochine infiammatorie da parte dei monociti/macrofagi.

Anche l'interleuchina 14 (IL-14) viene prodotta dai linfociti T ma essa sembra che induca la proliferazione solo dei linfociti B attivati e non *resting* (a riposo) [32]. Questo monomero di 468 aa, definito anche high molecular weight B cell growth factor (HMW-BCGF), cioè fattore di crescita dei linfociti B ad alto peso molecolare, inibisce anche la secrezione di immunoglobuline in linfociti B attivati da mitogeni ed assumerebbe, probabilmente, un ruolo nei fenomeni della tolleranza immunologica.

CHEMOCINE, TNF ED IFN E RUOLO DELLE CITOCINE NELL'INFIAMMAZIONE ED IMMUNITÀ NATURALE

Le chemochine [33-36] sono una famiglia di citochine con attività chemiotattica nei confronti dei fagociti mononucleati e dei granulociti polimorfonucleati. Esse assumono un ruolo nel sistema immunitario specifico e, di recente, sono state individuate anche come fattori importanti nel reclutamento delle cellule implicate nelle reazioni allergiche [37].

Inoltre sono importanti anche nella funzione degli eritrociti e nelle patogenesi microbiche [38]. Quest'ultima caratteristica è in relazione con l'omologia che i recettori di alcune chemochine hanno con l'antigene

Duffy, il quale media l'invasione eritrocitaria di *Plasmodium vivax* (plasmodio della malaria) [38,39].

L'IL-8, il rappresentante più noto delle chemochine, è un fattore chemiotattico dei fagociti, dei linfociti T e delle piastrine, che recluta nel focolaio infiammatorio [40]. L'IL-8 fu identificata principalmente sulla base della sua azione sui neutrofili: la citochina induce in queste cellule chemiotassi e rilascio di granuli. La chemiotassi è specifica per i neutrofili poiché l'IL-8 non induce chemiotassi nei monociti e negli eosinofili ma sembra che *in vitro* attragga anche i basofili, inducendo in essi rilascio di istamina e sulfido-leucotrieni.

Le chemochine sono distinte in due sottoclassi, α e β , sulla base della presenza di un motivo di residui cisteinici (C-X-C nell' α e C-C nel β) e della loro funzione: le chemochine α , di cui fanno parte l'IL-8, il NAP-2 e il fattore GRO α /MGSa, sono chemiotattici per i granulociti mentre in quelle β sono compresi fattori chemiotattici (MCP-1, MCP-2, MCP-3, RANTES, MIP-1 α) per i monociti/macrofagi.

RANTES, come l'IL-8, pare che sia chemiotattica anche verso i linfociti T.

La ricerca ha permesso di identificare due analoghi dell'IL-8, cioè il fattore GRO-a ed il fattore NAP-2, distinto dal fattore NAP-1 con cui viene designata l'interleuchina 8.

Quest'ultimo fattore, a differenza dell'IL-8, non è generato per induzione. Il NAP-2 deriva dal fluido extracellulare per mezzo di una scissione proteolitica di fattori proteici precursori conservati negli a-granuli delle piastrine.

GRO- α /MGSa, un polipeptide di 73 aa, è un membro della sottofamiglia α , un chemioattrattante 10 volte più potente dei neutrofili che l'IL-8, mentre la proteina 1 chemiotattica dei monociti (MCP-1), ad esempio, una proteina di 76 aa, è un membro della sottofamiglia β .

Recentemente, sono state scoperte molte citochine prodotte dai monociti/macrofagi. Si tratta di agenti chemioattrattanti per i monociti che però vengono prodotti anche da

altre popolazioni cellulari (fibroblasti, linfociti B). Tra queste si citano:

- a) - la proteina 1 chemiotattica dei monociti (MCP-1/MCAF), strettamente correlata al fattore MCP-2, MCP-3, probabilmente un monomero di 76 aa che regola l'espressione delle molecole di adesione e della produzione di citochine nei monociti [41];
- b) - la proteina 1 infiammatoria dei macrofagi, presente in due forme monomeriche: MIP-1 α (66 aa) e MIP-1 β (69 aa) (quest'ultima definita anche fattore attivante 2, Act2), prodotta anche dai linfociti T e dai mastociti [42].

Notevole importanza fisiopatologica assumono i fattori di necrosi tumorale (TNF, distinti in TNF- α e TNF- β) e gli interferoni (distinti in IFN- α , IFN- β e IFN- γ o interferone immuno) [43-45]. La loro importanza si rivela in due circostanze:

- 1 - azione contro le infezioni (principalmente di tipo batterico per i TNF e di tipo virale per gli IFN);
- 2 - azione contro i tumori. L'immunità naturale, infatti, si avvale fondamentalmente dell'azione dell'IL-1 e dei TNF, oltre all'azione in concerto di altre citochine, soprattutto quelle con funzione emopoietica o chemiotattica e di attivazione delle proteine della fase acuta. Come l'IL-1, anche i TNF sono alla base delle reazioni febbrili. A piccole concentrazioni (10^{-9} M) il TNF- α svolge funzioni essenziali nella risposta immune naturale: attiva i monociti ed i macrofagi in sinergia con l'IFN- γ , è chemiotattico per i monociti, induce la differenziazione di queste cellule proteggendole dall'apoptosi probabilmente perché induce il rilascio di CSF-1, aumenta la risposta dei linfociti T attivati all'IL-2 e la produzione di IL-2, induce la proliferazione dei timociti in presenza di IL-1, IL-2 ed IL-7, regola l'affinità e la risposta ai formil peptidi da parte dei neutrofili.

Inoltre agisce sulle cellule endoteliali, sul sistema della coagulazione, sull'e-

spressione delle citochine ematopoietiche, sui fibroblasti, sulla cartilagine e tessuto osseo, sul tessuto adiposo. Ad alte dosi induce febbre, sonnolenza, produzione di ACTH e stimolazione epatica alla sintesi delle proteine della fase acuta. Inoltre il TNF- α sembra che sia implicato anche nelle patologie autoimmuni [46].

I TNF sono noti anche come fattori di necrosi di alcune neoplasie ed è appunto da questa proprietà che hanno tratto il nome. Il TNF- α , detto anche cachessina, un polipeptide di 157 aa e dal PM. di 17 kDa e il TNF- β detto linfotossina, un polipeptide di 171 aa, e dal PM. di 25 kDa, possono agire sul tumore in tre modi:

- a) - per citotossicità diretta;
- b) - modulando l'endotelio che circonda il tumore;
- c) - stimolando la risposta dell'ospite al tumore.

L'attività citotossica diretta dei TNF si esplica attraverso l'attivazione di fosfolipasi, l'induzione di proteasi e probabilmente un danno al DNA ed è potenziata dall'IFN- α e dell'IFN- γ .

L'azione indiretta si esplica bloccando l'afflusso di sangue alle cellule tumorali, stimolando la citotossicità dei macrofagi, stimolando la produzione di anticorpi tumore-specifici. L'azione dei TNF è in concerto con quella degli interferoni. Si tratta di un gruppo di citochine che inducono una risposta antivirale e partecipano alla regressione e necrosi dei tumori.

Come agenti antivirali gli IFN sono potentissimi: ad esempio, bastano 3 pg di l'IFN- α per rendere circa 10^6 cellule resistenti all'attacco di 10^7 particelle virali. La loro azione anti-virale è legata a diverse azioni: a) alla stimolazione della sintesi di $(2'-5')A_n$ sintetasi che attiva delle endoribonucleasi cellulari, b) all'attivazione di protein chinasi PI (una chinasi serina-treonina) che fosforila l' α subunità di eIF2, fattore di inizio nella sintesi proteica, c) alla produzione dell'Mx protein, una GTPasi con azione antivirale, omo-

loga alle dinammine e alla proteina VPS1 del lievito (enzimi coinvolti nel traffico intracellulare delle proteine) e che è specificamente diretta contro il virus dell'influenza nel topo e contro il virus della stomatite vescicolare nell'uomo [47].

L'IFN- γ , o interferone immune, ha invece un ruolo strategico proprio come citochina: in effetti non tutti gli autori sono propensi a considerare citochine anche gli IFN- α e IFN- β . L'interferone immune è una glicoproteina di 143 aa, di circa 20-25 kDa che oltre ad avere proprietà anti-virali, ha anche attività immunomodulatrice: aumenta la produzione di IL-1, di PDGF, di H_2O_2 e pterina nei monociti/macrofagi; incrementa le ICAM-1 e non le selectine sull'endotelio, protegge i monociti dalla lisi delle LAK.

AZIONE DELLE CITOCINE E RUOLO BIOLOGICO

Resta una sfida della biologia molecolare quella di disegnare il quadro organico delle funzioni di queste sostanze nell'immunità specifica e naturale, nell'embriogenesi e nel differenziamento, nei tumori e nella difesa da agenti batterici o virali.

Per quanto riguarda il meccanismo d'azione di queste sostanze, attualmente, l'interesse è localizzato sul problema dei recettori e della trasduzione del segnale.

Le citochine si legano a recettori presenti sulla superficie delle cellule bersaglio: nei fluidi esse possono essere presenti a concentrazioni molto basse e da questo punto di vista ricordano gli ormoni peptidici.

Il complesso recettore-ligando viene internalizzato per endocitosi e può esercitare un'azione diretta sul nucleo come per l'IFN- γ .

I sistemi di trasduzione del segnale possono coinvolgere:

- 1 - la fosforilazione di proteine attraverso tirosin-chinasi sia direttamente sia indirettamente come nel caso dell'IL-3. Hanno attività tirosin-chinasica i recettori di diverse citochine fattori di crescita (IGF-I, M-CSF) e lo stesso recettore per il fattore NAP;

- 2 - l'accoppiamento con proteine G che regola l'attività di adenilato-ciclastasi, con produzione di cAMP, e attivazione delle cascate fosfolipasiche con produzione di inositolo 1,3,5 trifosfato e diacilglicerolo. Si sa anche che l'inositolo trifosfato attiva le protein-chinasi intracellulari Ca^{++} dipendenti, mobilitando il Ca^{++} intracellulare;

- 3 - attivando la via di produzione di prostaglandine, di leucotrieni e vari secondi messaggeri lipidici.

Come si è già accennato sopra, le citochine giocano un ruolo preponderante nella coordinazione delle risposte immunitarie ed infiammatorie; ad esempio, un ruolo fondamentale viene svolto verso i linfociti T [48].

Mentre i fattori di crescita hanno recettori con una attività tirosin-chinasica, i recettori delle citochine non hanno attività tirosin-chinasica intrinseca.

In base alla loro struttura i recettori delle citochine sono divisi in diversi gruppi: i recettori ad alta affinità per l'IL-2, IL-3, IL-5, IL-6 e GM-CSF sono composti da almeno due subunità, α e β , e quest'ultima è uguale per il GM-CSF e l'IL-3.

Questo fatto permette il cosiddetto "cross talk" tra citochine a livello recettoriale, per cui si capisce il ruolo molto simile di citochine diverse. Come avviene realmente la trasduzione del segnale? Una singola citochina può agire sia come segnale positivo che come segnale negativo nella cellula bersaglio. Il ligando si lega al recettore presente sulla superficie cellulare.

L'internalizzazione avviene per endocitosi del complesso citochina-recettore e la citochina induce "down regulation" del numero di recettori sulla superficie.

Questo fenomeno di controllo, che implica la diminuzione della presenza di recettori cellulari, può limitare la grandezza o la durata della risposta cellulare. L'internalizzazione può essere già il meccanismo con cui la citochina induce i suoi effetti.

Il recettore è dunque accoppiato ai sistemi enzimatici cellulari (proteasi, fosfolipasi) dalle GTP-binding proteins (o proteine G). Di queste proteine si conoscono due classi:

ra un problema arduo e bisogna limitarsi ad alcuni aspetti parziali (v. ad es. figure 1 e 2).

Sicuramente, un quadro generale sugli aspetti della comunicazione cellulare nel quale venga compendiata la funzione ed il ruolo delle citochine consentirebbe, ad esempio, di delucidare moltissimi aspetti funzionali di queste molecole [51]. Attualmente, in questo contesto, sono stati identificati nuovi fattori promoventi la trascrizione genica da parte delle citochine (fattore NF-AT_p, ad esempio) [52].

Il pleiotropismo di funzioni, inoltre, può rivelarsi come elemento di connessione tra sistemi distinti (Figura 1). Fattori come il fattore di crescita dei nervi (NGF), ad esempio, assumono ruoli molto diversificati. L'NGF fa parte di una famiglia di proteine, le *neurotrofine*, caratterizzati dalla proprietà peculiare di promuovere il differenziamento delle cellule nervose e la loro sopravvivenza [53,54].

È interessante notare come questo fattore sia in grado anche di indurre delle risposte funzionali nei fagociti (chemiotassi, "burst" respiratorio), di indurre il differenziamento dei linfociti B e di promuovere la sintesi di immunoglobuline (particolarmente le IgG₄) in queste cellule; si tratta di una serie di dati che testimoniano anche per la stretta connessione esistente tra il sistema nervoso ed il sistema immunitario, come già visto, ad esempio, per l'IL-1.

Le citochine interagiscono una con l'altra in una varietà di network *in vivo*. Le citochine possono stimolare o inibire la sintesi e la secrezione di altre citochine, sia in modo diretto sia modificando la risposta della cellula ad altri agenti inducenti.

Molte delle attività sovrapposte derivano dall'impiego di recettori in comune (è il caso, ad esempio del TGF- α e dell'EGF) o dai simili percorsi (*pathways*) di trasduzione del segnale recettoriale. Lo spettro di effetti provocato da una singola citochina può dipendere sia dalla natura che dallo stato funzionale della cellula bersaglio.

Una stessa citochina può avere attività inibitoria nei confronti di certi tipi cellulari

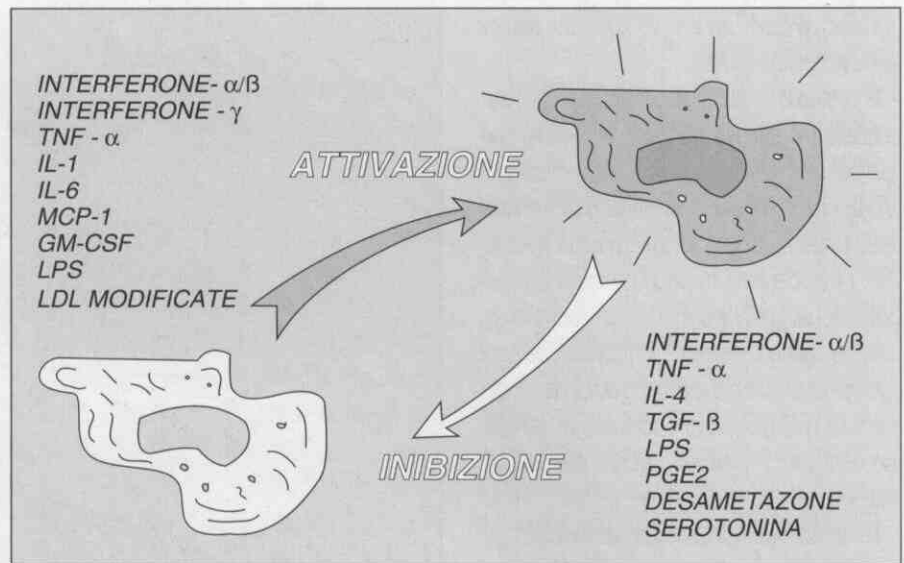


Fig. 3 - Effetti di diverse citochine ed altri agenti biologici sui macrofagi. La figura evidenzia i possibili effetti opposti delle stesse molecole su tali cellule a seconda dello stato di attivazione.

ed attività stimolatoria nei confronti di altri. È il caso, ad esempio, del TGF- β che è un inibitore della crescita di cellule epiteliali, endoteliali ed ematopoietiche ma è un mitogeno (attivatore della crescita) per alcuni tipi cellulari di origine mesenchimale.

Per la sua attività inibitoria sullo sviluppo della risposta immunitaria, il TGF- β viene oggi considerato un potenziale immunosoppressore naturale che potrebbe assumere grande importanza nelle terapie delle malattie autoimmunitarie. In cellule che possono assumere stati funzionali diversi, proprietà tipica, ad esempio, del macrofago (residente, infiammatorio, attivato), alcune citochine hanno ruoli diversi, persino opposti, a seconda della sensibilità e disponibilità della cellula in un determinato momento o in una determinata localizzazione (figura 3) [55].

L'attività autocrina e paracrina assume un ruolo strategico in molte condizioni.

Questo è rilevante, ad esempio, nel caso delle cellule stromali del midollo osseo che possono produrre CSF per regolare l'attività dei precursori ematopoietici limitrofi. Alcuni effetti autocrini e paracrini possono assumere un significato importante per

quanto concerne l'abilità di crescita dei tumori: è stato mostrato che questo caso può essere responsabile delle caratteristiche pato-fisiologiche del sarcoma di Kaposi associato ad AIDS.

RUOLO DELLE CITOCHINE NEL CANCRO

La proliferazione e trasformazione cellulare, anche nella problematica dei tumori, rappresenta uno dei molteplici tasselli nel complesso mosaico di azioni svolte dalle citochine come fattori di crescita.

Come molecole in grado di costituire una rete di relazioni biologiche con diversi tessuti, in particolare con quelli impegnati in attività proliferative (endotelio, cellule di derivazione neuroectodermica e mesenchimale, progenitori eritroidi e mieloidi) e regolative (sistema immunitario), le citochine possono essere implicate nei complessi fenomeni della patogenesi e nella regressione immunologica del cancro: difatti, ciò comprende un quadro articolato di funzioni che spesso riguarda la comunicazione cellulare nella quale le citochine assumono un ruolo preponderante.

In questo contesto si rivela importante la ricerca sui geni che codificano per la risposta alle citochine da parte delle cellule target [56]. Alcuni fattori sono stati collegati con la problematica dei tumori per la loro attività antitumorale (tumor necrosis factor alfa, TNF- α , interferoni) o proliferativa (*transforming growth factor* β , TGF- β).

Gli interferoni, in particolare l'IFN- α , assumono un ruolo nella citotossicità cellulare. La loro azione incrementa l'attività citotossica di macrofagi, neutrofilii, linfociti T8, e cellule NK. Questo aspetto è interessante per quanto concerne la regressione di neoplasie in quanto l'azione del sistema immunitario contro i tumori coinvolge una attività citotossica leucocitaria nei confronti delle cellule cancerogene [57].

I meccanismi dell'azione anti-tumorale degli interferoni possono riguardare:

- a) -la regolazione diretta delle cellule tumorali (inibizione di proteine proliferative o trasformanti, induzione del differenziamento, inibizione della produzione di fattori di crescita autocrini, down-regulation dei recettori per i fattori di crescita);
- b) -l'avvio o l'incremento della risposta immune contro il tumore;
- c) -la perturbazione dei rapporti metabolici del tumore con l'ospite.

Quest'ultimo particolare è stato indagato di recente e riguarderebbe, ad esempio, l'induzione di alcune sostanze. L'induzione dell'enzima indolammino 2,3-diossigenasi (IDO), ad esempio, degrada l'aminoacido triptofano il quale è un fattore limitante per la crescita cellulare e per la sintesi di neurotrasmettitori (serotonina).

I fattori di necrosi tumorale (TNF- α , detto cachessina e il TNF- β , o linfotossina) sono citochine molto indagate nell'ambito delle neoplasie. I TNF mediano i fenomeni legati alla lisi cellulare attivando probabilmente delle fosfolipasi cellulari, inducendo la sintesi di proteasi e forse quella di alcune endonucleasi per danneggiare il DNA delle cellule neoplastiche. L'attività antitumorale dei TNF si esplica in collaborazione con il si-

stema immunitario dell'ospite; essa può essere diretta o indiretta, secondo i meccanismi già trattati in precedenza (vedi).

Tuttavia, l'utilizzo pratico di tutti questi fattori nella terapia del cancro presenta molti problemi, tali per cui esso può essere effettuato solo in condizioni estremamente controllate. Anzitutto, resta aperto il problema delle dosi di citochina, delle modalità e delle vie di somministrazione e degli effetti collaterali: proprio per la poliedricità di azioni di questi fattori, una piena comprensione e sicurezza di azione terapeutica si potrà avere quando il quadro fisiologico del ruolo delle citochine venga completato.

Questo aspetto è necessario trattarlo con maggiore attenzione, in quanto l'utilità e la possibilità di impiegare le citochine nella terapia del cancro è ancora un campo aperto. Sebbene la letteratura clinica presenti alcuni casi felici di regressione di forme neoplastiche e di guarigione essi sono sporadici, risentono della variabilità dell'espressione dei tumori nei diversi individui e della resistenza immunologica dell'ospite, del tipo di tumore, della possibilità di effetti secondari all'assunzione di citochine, della dose ottimale di citochine nella somministrazione, eccetera.

Una speranza recente sembrava venisse offerta dall'IL-2 e dall'IL-12 come citochine capaci di attivare il sistema NK/LAK. I modelli murini avevano fatto sperare alla possibilità di utilizzare l'IL-2 ad alte dosi per la regressione dei tumori: buoni risultati si sono verificati anche nell'uomo, ma resta aperto il problema del controllo degli effetti dell'IL-2 sulla risposta dei linfociti e della tossicità dell'IL-2. Una ipotesi potrebbe essere quella di associare l'azione di alcune citochine con quella di chemioterapici o di eseguire una leucaferesi autologa (trasferimento di leucociti resi competenti *in vitro* per la distruzione immunologica dei tumori); attualmente, nell'ambito dell'immunoterapia del cancro, si stanno tentando molte strade, tra cui la "re-direzione" artificiale di linfociti T citotossici contro le cellule cancerogene, utilizzando anticorpi a specifi-

cità bivalente che si legano al complesso TCR/CD3 (*T-cell retargeting*) [58].

Nell'uomo è stato impiegato l'interferone alfa (IFN- α) nel trattamento della leucemia a cellule capellute (hairy cell leukaemia) a partire dal 1984 con una risposta abbastanza alta (70-90%).

I successi ottenuti hanno incoraggiato l'impiego dell'IFN- α anche in altre neoplasie a carico delle popolazioni linfo-mieloidi: linfomi, leucemie mieloidi croniche, mielomi multipli ed in altre patologie tumorali e tumori solidi (melanomi, carcinomi renali, sarcoma di Kaposi) [57].

In conclusione, la comprensione generale del compito delle citochine nella fisiologia dell'organismo e l'utilità delle citochine nel cancro è ancora un argomento di indagine.

Tutto ciò è dovuto al fatto che la complessità delle citochine e delle loro interrelazioni fa sì che la comprensione dell'attività di queste molecole nell'organismo sia ancora piena di lacune. Probabilmente, lo sviluppo crescente della ricerca in questo campo consentirà notevoli progressi nello studio del ruolo di questi fattori e del significato della loro pleiotropicità di azioni. □

Abbreviazioni usate

aa: aminoacidi; ACTH: adreno-corticotropico hormone; ANG: angiogenin; APC: antigen presenting cell; AP-1: activating protein 1; APP: acute phase protein; AR: amphiregulin; BFU-E: burst forming unit (erythroid); BSF: B-cell stimulating factor; cAMP: cyclic adenosin mono-phosphate; CD: cluster differentiation; CSF: colony stimulating factor; CSIF: citochine synthesis inhibitory factor; ECM: extra-cellular matrix; EGF: epidermal growth factor; eIF-2: eukariotic elongation factor-2; FGF: fibroblast growth factor; GABA: gamma aminobutirric acid; G-CSF: granulocyte colony stimulating factor; GM-CSF: granulocyte-monocyte colony stimulating factor; GRO: growth; GTP: guanosin tri-phosphate; HB-EGF: heparin binding epidermal growth factor; HDL: high density lipoprotein; HGF: hepatocyte growth factor; HMW-BCGF: high molecular weight B-cell growth factor; HSPG: heparan sulphate proteo-glycan; ICAM: intercellular adhesion molecules; IFN: interferon; IGF: insulin-like growth factor; IL: interleukin; IL-1ra: in-

terleukin 1 receptor antagonist; **IL-1Rt**: recettore tissutale dell'IL-1; **IP-3**: inositol 3-phosphate; **KDa**: kilodalton; **KGF**: keratinocyte growth factor; **KGFR**: keratinocyte growth factor receptor; **LAK**: limfocina attivata killer; **LIF**: leukemia inhibiting factor; **LMW-BCGF**: low molecular weight B-cell growth factor; **L-PS**: lipopolisaccaride; **LT**: lymphotoxin; **M-CSF**: monocyte colony stimulating factor; **MCAF**: monocyte chemotactic and activating factor; **MCP**: monocyte chemotactic protein; **MGF**: mast-cell growth factor; **MGSA**: melanoma growth stimulating activity; **MHC**: major histocompatibility complex; **MIP**: monocyte inflammatory protein; **NAP**: neutrophil activating peptide; **NDF**: neu-differentiating factor; **NGF**: nervous growth factor; **NF-ATp**: nuclear factor of activated T-cell preexisting; **NF-k-B**: nuclear factor k-B; **NK**: natural killer; **NKSF**: natural killer stimulatory factor; **PDGF**: platelet derived growth factor; **PGE**: prostaglandin E; **PTN**: pleiotrophin; **RANTES**: regulated upon activation normal T cell expressed and secreted; **SAA**: serum amyloid protein; **SCF**: stem cell factor; **SDGF**: schwannoma derived growth factor; **TCR**: recettore delle cellule T; **sTNFR**: soluble TNF receptor; **SLPI**: secretory leukocyte protease inhibitor; **Th**: thymocyte; **TGF**: transforming growth factor; **TIL**: tumor infiltrating lymphocytes; **TNF**: tumor necrosis factor; **VEGF**: vasculo endothelial growth factor.

Bibliografia

- Shaw, A.R. In: *The Cytokine Handbook*, A. Thompson ed., Academic Press, New York, pp. 19-46, 1991
- Romagnani, S. *Gior. It. Chim. Clin.* 17: 397, 1992
- Miller, M. and Krangel, M.S. *Crit. Rev. Immunol.* 12: 17, 1992
- Massagué, J., Attisano, L. and Wrana J.L. *Trends Cell Biol* 4(5):172, 1994
- Carpenter G. *Curr. Opin. Cell Biol.* 5:261, 1993
- Massagué J. *J. Biol. Chem.* 265:21393, 1990
- Brown J.P., Twardzik D.R., Marquardt H. and Toldaro G.J. *Nature* 313:491, 1985
- Kimura H., Fischer H.W. and Schubert D. *Nature* 348:257, 1990
- Higashiyama S. *J. Biol. Chem.* 267:6205, 1992
- Wen D., Peles E., Cupples R., Suggs S.V., Bacus S.S., Luo Y., Trail G., Silbiger S.M., Levy R.B., Kosk R.A., Lu S.H. and Yarden Y. *Cell* 69:559, 1992
- Holmes W.E., Sliwkowski M.X., Akita R.W., Henzel W.J., Lee J., Park J.W., Yansura D., Abadi N., Raab H., Lewis G.D., Shepard H.M., Kuang W.J., Wood W.I., Goeddel D.V., R.L. Vandlen *Science* 256:1205, 1992
- Soncini F. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2232, 1992
- Baird A. and P. Bohlen In: *Peptide Growth Factors and Their Receptors I*, Sporn M.B. and A.B. Roberts, eds., Springer-Verlag, New York, p. 369, 1990
- Costello R.T. *Acta Oncol.* 32:403, 1993
- Gabrilove J.L. *Growth Factors* 6:187, 1992
- Roth P. and Stanley E.R. *Current Topics In Microbiol. Immunol.* 181:141, 1992
- Morrison-Graham K. and Takahashi Y. *BioEssays* 15:77, 1993
- Dinarello C.A. *Blood* 77:1627, 1991
- Taniguchi T. and Minami Y. *Cell* 73:5, 1993
- Ihle J. *Chem. Immunol.* 51:65, 1992
- Puri R.K. and Siegal J.P. *Cancer Invest.* 11:473, 1993
- Mahanty S. and Nutman T.B. *Cancer Invest.* 11:624, 1993
- Appasamy P.M. *Cancer Invest.* 11:487, 1993
- Kiang S.C., Hsu W., Natkunam Y. and Zhang X. *Curr. Opin. Immunol.* 5:124, 1993
- Quesniaux V.F. *Res. Immunol.* 143:385, 1992
- Moore K.W., ÓGarra A., de Waal Malefyt R., Vieira P. and Mosmann T.R. *Ann. Rev. Immunol.* 11:165, 1993
- Kawashima I. and Takiguchi Y. *Progr. Growth Factor Res.* 4:191, 1992
- Scott P. *Science* 260:496, 1993
- Trinchieri G. *Immunol. Today* 14(7):335, 1993
- McKenzie A.N.J., Culppepper J.A., de Waal Malefyt R., Brière F., Punnonen J., Aversa G., Sato A., Dang W., Cocks B.G., Menon S., de Vries J.E., Banchereau J. and Zurawski G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:3375, 1993
- Zurawski G. and de Vries J.E. *Immunol. Today* 15(1):19, 1994
- Ambrus J.L., Pippin J., Joseph A., Xu C., Blumental D., Tamayo A., Claypool K., McCourt D., Srikiatchatochorn A. and Ford R.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6330, 1993
- Schall T.J. *Cytokine* 3:165, 1991
- Miller M.D. and Krangel M.S. *Crit. Rev. Immunol.* 12:17, 1992
- Schall T.J., Jongstra J., Dyer B.J., Jorgensen J., Clayberger C., Davis M.M. and Krensky A.M. *J. Immunol.* 141:1018, 1988
- Taub D.D. and Oppenheim J.J. *Cytokine* 5:175, 1993
- Baggiolini M. and Dahinden C.A. *Immunol. Today* 15(3):127, 1994
- Ahuja S.K., Gao J.L. and Murphy P.M. *Immunol. Today* 15(6):281, 1994
- Horuk R. *Immunol. Today* 15(4):169, 1994
- Baggiolini M., Dewald B. and Walz A. In: *Inflammation-Basic Principles and Clinical Correlates*, J.I. Gallin, I.M. Goldstein and R. Snyderman, eds., Raven Press, New York, p.247, 1992
- Leonard E.J. and Yoshimura Y. *Immunol. Today* 11:97, 1990
- Wolpe S.D. and Cerami A. *FASEB J.* 3:2565, 1989
- Vilcek J. and Lee T.H. *J. Biol. Chem.* 266:7313, 1991
- Vilcek, J. In: *Peptide Growth Factors and Their Receptors II*, M.B. Sporn and A.B. Roberts, eds. Springer Verlag, New York, p.3, 1990
- Ferrar M. and Schreiber R.D. *Annu. Rev. Immunol.* 11:571, 1993
- Jacob C.O. *Immunol. Today* 13:122, 1992
- Staehele P., Pitossi F. and Paulovic J. *Trends Cell Biol.* 3(8):268, 1993
- ÓGarra A. and Murphy K. *Curr. Opin. Immunol.* 6:458, 1994
- Ihle J.N., Witthuhn B.A., Quelle F.W., Yamamoto K., Thierfelder W.E., Kreider B. and Silvernoinen O. *Trends Biol. Sci.* 19(5):222, 1994
- Armitage R.J. *Current Opin. Immunol.* 6:407, 1994
- Edwards D.R. *Trends Pharmacol. Sci.* 15:239, 1994
- Rao A. *Immunol. Today* 15(6):274, 1994
- Glass D.J. and Yancopoulos G.D. *Trends Cell Biol.* 3(8):268, 1994
- Johnson J. and Oppenheim R. *Current Biology* 4(7):662, 1994
- Adams, D.O. and Hamilton, T.A. in: *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates* (Gallin, J.I., Goldstein, I.M., Snyderman, R. eds.). Raven Press, N. York, p. 637.
- Beadling C. and Smith K.A. *Immunol. Today* 15(5):197, 1994
- Gutterman J.V. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91(2):1198, 1994
- Beun G.D.M., van de Velde C.J.H. and Fleuren G.J. *Immunol. Today* 15(1):11, 1994