

Makrofagi to komórki pochodzące od monocytów obwodowych. Ze względu na ich plejotropowe biologiczne aktywności przypisuje się im zarówno progresywny, jak i regresywny wpływ na rozwój nowotworu. Antynowotworowe i pronowotworowe funkcje makrofagów są wynikiem ich prozapalnych i przeciwzapalnych właściwości. Polaryzacja w kierunku opisanych aktywności jest związana z czynnikiem je pobudzającym. Makrofagi rezydujące w obrębie nowotworu definiuje się jako makrofagi związane z nowotworem (*tumour associated macrophages* – TAMs). Aktywowane przez komórki nowotworowe, w większości wykazują fenotyp M2 i są zdolne do wydzielania szeregu cytokin, chemokin, czynników wzrostowych, a także czynników zapalnych. Makrofagi związane z nowotworem mogą promować rozrost nowotworu, a także przerzuty. Zwiększająca się infiltracja TAMs koreluje ze wzrostem guza i spadkiem przeżywalności chorych w przypadku wielu typów ludzkich nowotworów złośliwych.

Słowa kluczowe: makrofagi, makrofagi związane z nowotworem, cytokiny, chemokiny.

Aktywność makrofagów w rozwoju choroby nowotworowej

Macrophage activity in tumour development

Andrzej Eljaszewicz^{1,2}, Lidia Gackowska¹, Izabela Kubiszewska¹, Michał Jankowski³, Milena Urbańska¹, Małgorzata Wiese¹, Anna Helmin-Basa¹, Jacek Michałkiewicz⁴, Wojciech Zegarski³

¹Katedra i Zakład Immunologii, *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²NZOZ Centrum Medyczne, Klinika Leczenia Niepłodności „Genesis” w Bydgoszczy

³Klinika Chirurgii Onkologicznej, *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

⁴Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Wstęp

Rozwojowi choroby nowotworowej towarzyszy skomplikowany system zależnych od siebie procesów, wspierających rozrost nowo powstającej tkanki. Zaangażowane są tu mechanizmy immunologiczne zarówno wrodzone, jak i adaptacyjne. Elementami łączącymi oba rodzaje reaktywności są komórki prezentujące antygen (*antigen presenting cells* – APC) – przede wszystkim makrofagi ($M\phi$), monocyty (Mo) i komórki dendrytyczne (*dendritic cells* – DC). Stanowią one wraz z innymi komórkami naturalnego układu odporności pierwszą linię obrony, a także dzięki możliwości prezentacji antygenów dziewiczym limfocytom T współuczestniczą w generowaniu puli komórek immunokompetentnych.

Makrofagi to przede wszystkim komórki rezydujące w tkankach, których prekursorami obwodowymi są monocyty [1]. Wykazują plejotropowe właściwości biologiczne (prezentacja antygeny, cytotoksyczność, fagocytoza, kontrola nad procesami zapalnymi, sekrecja czynników biologicznie czynnych itp.). Powszechnie wiadomo, że makrofagi obecne w środowisku rozwoju nowotworu (*tumour-associated macrophages* – TAMs) stanowią znaczącą i istotną część nacieku leukocytnego. W związku z ich plejotropowymi właściwościami przypisuje się im wpływ zarówno na progresywny, jak i regresywny rozwój tkanki nowotworowej [2, 3]. Zdolności te są uzależnione od modulacyjnego działania komórek nowotworowych na układ immunologiczny. Poznanie mechanizmów regulujących te aktywności, a także odpowiednia kontrola funkcji makrofagów są niezmiernie istotne w planowaniu nowych terapii, a także w udoskonalaniu już istniejących. Dlatego też niniejsza praca stanowi charakterystykę aktywności i funkcji TAMs.

Makrofagi związane z nowotworem

Makrofagi to terminalnie zróżnicowane komórki pochodzenia szpikowego rezydujące w tkankach, których prekursorami obwodowymi są Mo [1]. Cechuje je zdolność do polaryzacji w kierunku odpowiedzi immunologicznej zarówno prozapalnej, jak i przeciwzapalnej, zależnie od aktywującego je sygnału, indukowanego przez określony stan patologiczny. Klasyczna aktywacja $M\phi$ w odpowiedzi na mikroorganizmy, ich fragmenty czy niektóre cytokiny (np. interferon γ – IFN- γ) nadaje im fenotyp M1 cechujący się m.in.:

Macrophages are derived from peripheral blood monocytes. Due to their pleiotropic biological activities they have been ascribed both a progressive (M1 phenotype) and regressive (M2 phenotype) impact on tumour growth. Anti- or pro-tumoural functions of macrophages are the consequence of their pro- and anti-inflammatory properties. The polarization in the direction of the described activities is connected with the activating agent. The macrophages within the tumour are referred to as tumour-associated macrophages (TAMs). Upon activation by cancer cells they mostly exhibit M2 phenotype and are able to release numbers of cytokines, chemokines, enzymes and inflammatory mediators. TAMs can enhance tumour growth and metastasis. Increasing TAMs infiltration correlates with cancer growth and poor prognosis in a variety of human carcinomas.

Key words: macrophages, tumour associated macrophages, cytokines, chemokines.

- podwyższoną zdolnością do prezentacji antygeny,
- wydzielaniem cytokin, m.in. czynnika martwicy nowotworu (*tumour necrosis factor* – TNF), interleukiny 1 (IL-1), interleukiny 6 (IL-6) [4], interleukiny 12 (IL-12) i interleukiny 23 (IL-23) [5, 6],
- wydzielaniem chemokin, m.in. CCL5, CCL8, CXCL2 i CXCL4 [7],
- polaryzacją odpowiedzi w kierunku Th1,
- podwyższoną produkcją aktywnych form tlenu, m.in. tlenku azotu (NO) [3],
- właściwościami cytotoksycznymi.

Makrofagi o fenotypie M1 są generalnie komórkami prozapalnymi, zaangażowanymi w uśmiercanie mikroorganizmów czy komórek nowotworowych, polaryzującymi odpowiedź immunologiczną w kierunku Th1, a także Th17 [8]. Cytokiny, takie jak np. interleukina 4 (IL-4), interleukina 13 (IL-13), interleukina 10 (IL-10) i inne, powodują aktywację makrofagów, nadając im fenotyp M2, cechujący się m.in.:

- ekspresją receptorów błonowych, takich jak receptor dla fragmentu Fc immunoglobuliny IgG typu 2 (Fc-R2, CD23), receptor mannozowy (MR), receptor CD14,
- wydzielaniem cytokin, m.in. IL-10, transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β), a także antagonisty receptora interleukiny 1 (IL-1RA),
- wydzielaniem specyficznych chemokin, m.in. CCL16, CCL18, CCL22 [7],
- niewywieraniem efektu cytotoksycznego [6],
- zwiększoną ekspresją arginazy 1 zmieniającej metabolizm L-argininy w kierunku produkcji ornitydyny i poliamin, co w konsekwencji blokuje indukowaną syntazę tlenku azotu (iNOS) [4].

Opisane cechy wskazują na przeciwzapalne właściwości makrofagów M2, polaryzujących odpowiedź immunologiczną w kierunku Th2, a także indukujących powstawanie limfocytów T regulatorowych (Treg). Skutkiem ich działania jest wzmożona produkcja przeciwciał przez plazmocyty oraz supresja limfocytów T cytotoksycznych (CD8+) i/lub komórek NK [8]. Makrofagi M2 kontrolują więc odpowiedź prozapalną, regulując aktywności zależne od komórek o fenotypie M1 [9]. Dlatego odpowiedni stosunek subpopulacji makrofagów M1/M2 jest równie istotny, jak stosunek populacji limfocytów Th1/Th2 w celu zachowania homeostazy organizmu [10].

Makrofagi stanowią istotną część nacieku leukocytnego wielu nowotworów (*tumour associated leukocytes* – TAL). Definiuje się je jako makrofagi związane z nowotworem (*tumour associated macrophages* – TAMs) wykazujące w przeważającej większości fenotyp M2 [2, 3], ich charakterystyka zależna jest jednak bezpośrednio od typu, stadium rozwojowego, lokalizacji [11–13], a także regionu tkanki nowotworowej [14] i ma bezpośredni związek z lokalnymi sygnałami docierającymi do tych komórek. Udział procentowy M_2 w nacieku leukocytnym zależy m.in. od zdolności wzbudzania chemotaksji przez komórki nowotworowe ich prekursorów obwodowych (M_0), a więc skorelowany jest również bezpośrednio z typem, a także stadium rozwojowym i waha się od 10 do 65%. Wskazuje się także na podwyższone zdolności proliferacyjne TAMs [15], które bez wątplenia mają wpływ na ich udział procentowy w obrębie rozwoju guza. Infiltracja makrofagów rozpoczyna się już w pierwszych etapach rozrostu nowotworu i intensywnie wzrasta w jego trakcie [9].

Czynniki modulujące infiltrację nowotworu przez makrofagi

Komórki nowotworowe poprzez profil wydzielanych cytokin i chemokin wpływają bezpośrednio na środowisko swojego wzrostu poprzez modulację chemotaksji leukocytów, regulację angiogenezy i wzrostu nowotworu, wpływają również na procesy przerzutowe [16, 17]. Część chemokin, a także cytokin produkowanych przez komórki nowotworowe, śródbłonek, fibroblasty, a także TAMs, wzbudzają chemotaksję M_0 [18, 19], jak również M_0 z okolicznych tkanek [10], przyczyniając się tym samym do wzrostu procentowego udziału tych komórek w środowisku rozwoju nowotworu. Do najbardziej istotnych czynników chemotaktycznych dla M_0 należą m.in. monocytarny chemotaktyczny czynnik białkowy 1 (*monocyte chemotactic protein-1* – MCP-1;

CCL2), czynnik pobudzający kolonie makrofagów (*macrophage colony stimulating factor* – M-CSF), czynnik stymulujący powstawanie kolonii granulocytów (*granulocyte colony-stimulating factor* – G-CSF), naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T (*regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted* – RANTES; CCL-5), interleukina 8 (IL-8; CXCL8), białko zapalne makrofagów 1α (*macrophage inflammatory protein 1\alpha* – MIP- 1α) [1, 15, 20]. Czynniki te wpływają na funkcje efektorowe monocytów, uczestniczą również bezpośrednio w rozwoju tkanki nowotworowej. Wysoki poziom niektórych z tych czynników w obrębie rozwoju nowotworu koreluje ze zwiększoną infiltracją TAMs, a także ze słabymi rokowaniami dla chorych [21, 22].

Monocytny chemotaktyczny czynnik białkowy 1 indukuje aktywności oksydacyjne, wzmacnia produkcję IL-1 i IL-6, a także produkcję urokinazowego aktywatora plazminogenu. Jego ekspresja jest silnie skorelowana ze stężeniami VEGF, TNF- α , i IL-8, co sugeruje istotną rolę w procesie angiogenezy. Działanie chemotaktyczne na Mo obwodowe jest związane z indukowaną ekspresją receptora dla urokinazowego aktywatora plazminogenu (uPA-R) [15]. Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu wywołuje natomiast ich chemotaksję poprzez aktywację receptora dla VEGF typu 1 (VEGFR-1, flt-1).

RANTES, podobnie jak MCP-1, należy do chemokin z rodziny CC [1]. Stymuluje Mo do wydzielania metaloproteinazy 9 (MMP-9) i metaloproteinazy 19 (MMP-19), angażując je w ten sposób w degradację błony podstawnej, a więc pośrednio w proces angiogenezy [18, 20]. Niektóre z omawianych czynników chemotaktycznych, np. trombospondyna 1 (TSP-1), korelują negatywnie ze wzrostem nowotworu poprzez mobilizację makrofagów M1 w obrębie jego rozrostu [23]. Trombospondyna 1 hamuje także bezpośrednio neowaskularyzację i wzrost guza [24].

Makrofagi pochodzące ze „zdrowych” tkanek wykazują szereg zdolności do prezentacji antygenów nowotworowych (*tumour associated antigens* – TAA), lizy komórek nowotworowych, stymulacji przeciwnowotworowych funkcji limfocytów T i komórek NK. Makrofagi rezydujące w obrębie rozwoju nowotworu w większości pozbawione zostają tych aktywności, czyniąc niemożliwym wzbudzenie skierowanej przeciw nowotworowi odpowiedzi immunologicznej. Szereg molekuł wydzielanych przez komórki nowotworowe (cytokin, czynników wzrostowych, proteaz itd.) wywiera bezpośredni wpływ na komórki układu immunologicznego znajdujące się w obrębie jego wzrostu, w tym przede wszystkim na M_0 [25, 26]. Wydzielane przez komórki nowotworowe: IL-4, IL-6, IL-10, transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), a także prostaglandyny E_2 (PGE $_2$) powodują blokadę aktywności cytotoksycznych makrofagów [25, 27]. Transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$, IL-10 i PGE $_2$ mogą ponadto powodować obniżenie ekspresji cząsteczek MHC klasy II na powierzchni omawianych komórek znajdujących się w obrębie rozrostu tkanki nowotworowej, a także tych znajdujących się poza jej rozrostem, np. w śledzionie czy otrzewnej. Może to skutkować obniżeniem zdolności do prezentacji antygenów dziewiczym limfocytom T w tych

rejonach [25]. Rozrastający się nowotwór wpływa w ten sposób bezpośrednio na układ immunologiczny, hamując niekorzystne dla niego mechanizmy odpowiedzi komórkowej, a także pośrednio angażując jego elementy, stwarza sobie optymalne środowisko do wzrostu.

Wpływ makrofagów związanych z nowotworem na rozwój tkanki nowotworowej

Funkcje makrofagów rezydujących w obrębie rozrostu tkanki nowotworowej są skrajnie różne. Jak już wspomniano, komórki te mogą działać przeciwnowotworowo (TAMs o fenotypie M1), a także wpływać pozytywnie na rozwój tkanki nowotworowej (TAMs o fenotypie M2) [28].

Regresywny wpływ na rozwój tkanki nowotworowej

Makrofagi jako komórki działające przeciwnowotworowo zaangażowane są w przebudowę podścieliska, a także w produkcję i wydzielanie czynników prozapalnych spełniających funkcję sygnału zagrożenia. W konsekwencji dochodzi do migracji makrofagów, komórek NK (NK), a także komórek dendrytycznych (DC) z okolicznych tkanek. Czynniki produkowane podczas procesu rearanżacji podścieliska indukują M_0 do produkcji IL-12, która następnie stymuluje komórki NK do produkcji IFN- γ , a także indukuje ich funkcje antynowotworowe. Aktywowane przez IFN- γ makrofagi wydzielają szereg czynników działających cytostatycznie, a także cytotoksycznie na komórki nowotworowe. Do czynników tych należą m.in.: reaktywne formy tlenu, TNF- α , IL-6, IL-1, arginaza [28]. Efekt cytotoksyczny względem komórek nowotworowych może być także wynikiem bezpośredniego kontaktu TAMs M1 – komórka nowotworowa [15]. Proces ten może odbywać się dwutorowo: na drodze niezależnej (*macrophage-mediated cytotoxicity* – MTC) lub zależnej (*antibody-dependent cell cytotoxicity* – ADCC) od przeciwciał. Cytotoksyczność niezależna od przeciwciał jest mechanizmem długotrwałym (trwa do 3 dni). Polega na bezpośrednim kontakcie makrofaga z komórką nowotworową, w trakcie którego wydzielane są duże ilości proteaz, czego wynikiem jest liza komórki nowotworowej. Podczas ADCC makrofagi wiążą się z fragmentem Fc przeciwciała opłaszczającego komórkę nowotworową, wykorzystując receptor dla fragmentu Fc znajdujący się na powierzchni błony komórkowej. Połączenie to stymuluje M_0 do produkcji szeregu enzymów, podobnie jak ma to miejsce podczas MTC. W porównaniu z MTC ADCC jest procesem efemerycznym (trwa do kilku godzin), a zatem wydajniejszym [1].

Aktywności cytotoksyczne skutkują uwolnieniem antygenów nowotworowych, które prezentowane są następnie przez APC (przede wszystkim M_0 i DC) antygenowo dziewiczym limfocytom T w węzłach chłonnych, wynikiem czego jest wygenerowanie puli komórek immunokompetentnych, a zatem uruchomienie mechanizmów odpowiedzi adaptacyjnej [1, 29].

Progresywny wpływ na rozwój tkanki nowotworowej

Niestety, większość makrofagów związanych z nowotworem cechuje się fenotypem M2, a więc wykazują włą-

Tabela 1. Zależność pomiędzy przeżywalnością a wysoką infiltracją TAMs w różnych typach nowotworów
Table 1. Relationship between survival and high numbers of TAMs infiltration in different cancer types

Typ nowotworu	Dobre rokowania	Złe rokowania	Brak zależności	Piśmiennictwo
rak żołądka	+			[14]
rak piersi		+		[46]
rak prostaty		+		[47]
rak endometrium		+		[48]
rak pęcherza		+		[41]
rak nerki		+		[49]
rak jelita grubego	+[44,50]		+[43]	[43, 44, 50]
czerniak	+			[51]
rak płaskokomórkowy		+		[52]
chłoniak grudkowy	+[53]	+[54]		[53, 54]
czerniak złośliwy		+		[55]
rak szyjki macicy			+	[56]

ściwości pronowotworowe. Wydzielają szereg czynników wzrostowych, takich jak płytkowy czynnik wzrostu (*platelet-derived growth factor* – PDGF), epidermalny czynnik wzrostu (*epidermal growth factor* – EGF) [15, 28] czy TGF- β [30]. Komórki nowotworowe pobudzone działaniem EGF uwalniają do środowiska czynnik wzrostu kolonii makrofagów (CSF-1), który wzmacnia chemotaksję $M\phi$ oraz zwiększa sekrecję produkowanego przez nie EGF. Dochodzi zatem do sprzężenia zwrotnego dodatniego na linii EGF/CSF-1 [31], czego wynikiem jest indukowany przez czynniki wzrostowe, a zależny od makrofagów zintensyfikowany rozrost tkanki nowotworowej.

Makrofagi związane z nowotworem, obok płytek, to jedne komórki krwi wydzielające PDGF, który działa zarówno jako czynnik wzrostowy, jak i biorący udział w procesach angiogenezy. Angażuje perycyty do nowo powstałych naczyń, stabilizując ich strukturę [28]. Proangiogenne właściwości TAMs są związane również z ich zdolnością do kumulowania się w niedotlenionych regionach tkanek. Hipoksja indukuje syntezę szeregu czynników, takich jak np. VEGF, TNF- α , zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (*basic fibroblast growth factor* – bFGF) czy CXCL8, które wraz z mediatorami wydzielanymi bezpośrednio przez wzrastającą tkankę nowotworową indukują jej neowaskularyzację [1, 3]. Makrofagi związane z nowotworem wykazują także działanie immunosupresyjne. Wydzielane przez nie prostanoidy, a także w dużej ilości IL-10, wykazują silnie immunosupresyjny efekt na odpowiedź typu Th1, co w konsekwencji prowadzi do zaburzenia aktywności limfocytów T cytotoksycznych, a także komórek NK (w tym komórek typu LAK) [15]. Działanie immunosupresyjne wiąże się również z sekrecją profilu chemokiny, takich jak np. CCL17 i CCL22, wzбудzających chemotaksję komórek T regulatorowych i komórek Th2, które nie wykazują aktywności cytotoksycznych, działają ponadto supresyjnie względem prozapalnych komórek układu immunologicznego [9]. Badania przeprowadzone na modelu *in vitro* dowodzą, że reaktyw-

ne formy tlenu wydzielane przez makrofagi hodowane z komórkami nowotworowymi powodują modyfikację podjednostki ξ receptora TCR (CD3- ξ) limfocytów T [32]. Powszechnie wiadomo, że CD3- ξ odgrywa kluczową rolę w przekazywaniu sygnału prowadzącego do aktywacji limfocytów T [33, 34], jej uszkodzenie prowadzi zatem w konsekwencji do ich unieczynnienia i apoptozy. Badania *in vivo* potwierdzają znaczące obniżenie ekspresji tej cząsteczki na powierzchni limfocytów związanych z nowotworem i/lub obwodowych limfocytach T w wielu rodzajach nowotworów (np. czerniaka [35], raka jajnika [36], raka okrężnicy [37]). Makrofagi związane z nowotworem działają więc w głównej mierze supresyjnie względem odpowiedzi adaptacyjnej i prozapalnej, wydzielają również szereg czynników zwiększających proliferację komórek nowotworowych i supresyjnych względem odpowiedzi pierwotnej [38].

Podsumowanie

Procesy immunomodulacyjne związane z rozwojem nowotworu wpływają znacząco na aktywność $M\phi$. W większości makrofagów związanych z nowotworem następuje przełączenie funkcji obronnych na wspierające rozrost nowo powstającej tkanki, dlatego w przypadku większości guzów (np. raka piersi, prostaty, endometrium) zwiększony odsetek TAMs związany jest ze zmniejszoną przeżywalnością chorych. Należy równocześnie zaznaczyć, że w przypadku niektórych rodzajów nowotworów (np. żołądka, jelita grubego), ich zwiększona liczebność związana jest z lepszymi prognozami dla chorych (tab. 1). W przypadku guzów żołądka może mieć to związek z lokalizacją infiltracji TAMs w regionie gniazda komórek nowotworowych (*tumour nest*), gdzie pomimo niewielkiego odsetka makrofagów, w odniesieniu do ogólnej ich liczby obecnych w różnych częściach nowotworu, zaobserwowano: podwyższoną apoptozę komórek nowotworowych, a także zwiększoną infiltrację limfocytów T cytotoksycznych (*nest* – CD8+) [14]. Wskazuje to bezpośrednio na zaangażowanie $M\phi$ o fenotypie M1 w oma-

wianym regionie nowotworu i podkreśla, jak istotne jest wnikliwe analizowanie wszystkich fragmentów tkanki nowotworowej. Powszechnie w badaniach histochemicznych TAMs są charakteryzowane jako komórki o fenotypie CD68+ [39–42]. W przypadku nowotworów zlokalizowanych w jelicie grubym może nie wnosić do żadnej wartości diagnostycznej. Ponadto, Nagorsen nie zaobserwował zależności pomiędzy poziomem tak scharakteryzowanych makrofagów a infiltracją komórek cytotoksycznych czy limfocytów Treg. Podwyższona infiltracja TAMs wykazujących fenotyp CD163+ korelowała natomiast ze zwiększoną przeżywalnością chorych [43]. Pogląd ten pozostaje w sprzeczności z innymi pracami traktującymi o zależności poziomu infiltracji TAMs w rokowaniach klinicznych czy zaangażowania innych populacji komórek układu immunologicznego w tym typie nowotworów [44].

W praktyce wysoki odsetek makrofagów związanych z nowotworem może być niezależnym czynnikiem prognostycznym, pod warunkiem analizy wszystkich regionów guza oraz dokładniejszej analizy ich fenotypu. Również podwyższony poziom ich prekursorów obwodowych (Mo) we krwi został zakwalifikowany jako niezależny czynnik prognostyczny w niektórych typach nowotworów (np. raka jelita grubego) [45]. Niemniej jednak potrzebne są dalsze badania fenotypu oraz aktywności makrofagów rezydujących w obrębie rozwoju nowotworu, a także monocytów obwodowych.

Piśmiennictwo

- Leek RD, Harris AL. Tumor-associated macrophages in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; 7: 177-89.
- Tumor versus tumor-associated macrophages: how hot is the link? *Integr Cancer Ther* 2008; 7: 90-5.
- Mantovani A, Schioppa T, Porta C, Allavena P, Sica A. Role of tumor-associated macrophages in tumor progression and invasion. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 315-22.
- Benoit M, Ghigo E, Capo C, Raoult D, Mege JL. The uptake of apoptotic cells drives *Coxiella burnetii* replication and macrophage polarization: a model for Q fever endocarditis. *PLoS Pathog* 2008; 4: e1000066.
- Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 2004; 25: 677-86.
- Ohri CM, Shikotra A, Green RH, Waller DA, Bradding P. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival. *Eur Respir J* 2009; 33: 118-26.
- Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23: 549-55.
- Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE. Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1796: 11-8.
- Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 1065-73.
- Mantovani A, Allavena P, Sica A. Tumour-associated macrophages as a prototypic type II polarised phagocyte population: role in tumour progression. *Eur J Cancer* 2004; 40: 1660-7.
- Biswas SK, Gangi L, Paul S, et al. A distinct and unique transcriptional program expressed by tumor-associated macrophages (defective NF-kappaB and enhanced IRF-3/STAT1 activation). *Blood* 2006; 107: 2112-22.
- Saccani A, Schioppa T, Porta C, et al. p50 nuclear factor-kappaB overexpression in tumor-associated macrophages inhibits M1 inflammatory responses and antitumor resistance. *Cancer Res* 2006; 66: 11432-40.
- Sica A, Saccani A, Bottazzi B, Polentarutti N, Vecchi A, van Damme J, Mantovani A. Autocrine production of IL-10 mediates defective IL-12 production and NF-kappa B activation in tumor-associated macrophages. *J Immunol* 2000; 164: 762-7.
- Ohno S, Inagawa H, Dhar DK, et al. The degree of macrophage infiltration into the cancer cell nest is a significant predictor of survival in gastric cancer patients. *Anticancer Res* 2003; 23: 5015-22.
- al-Sarireh B, Eremin O. Tumour-associated macrophages (TAMs): disordered function, immune suppression and progressive tumour growth. *J R Coll Surg Edinb* 2000; 45: 1-16.
- Strieter RM, Belperio JA, Phillips RJ, Keane MP. CXC chemokines in angiogenesis of cancer. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 195-200.
- Murdoch C, Giannoudis A, Lewis CE. Mechanisms regulating the recruitment of macrophages into hypoxic areas of tumors and other ischemic tissues. *Blood* 2004; 104: 2224-34.
- Dirkx AE, Oude Egbrink MG, Wagstaff J, Griffioen AW. Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis. *J Leukoc Biol* 2006; 80: 1183-96.
- Wu Y, Li YY, Matsushima K, Baba T, Mukaida N. CCL3-CCR5 axis regulates intratumoral accumulation of leukocytes and fibroblasts and promotes angiogenesis in murine lung metastasis process. *J Immunol* 2008; 181: 6384-93.
- Ben-Baruch A. Inflammatory cells, cytokines, and chemokines in breast cancer progression: reciprocal tumor-microenvironment interactions. *Breast Cancer Res* 2003; 5: 31-6.
- Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 540-50.
- Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 71-8.
- Martin-Manso G, Galli S, Ridnour LA, Tsokos M, Wink DA, Roberts DD. Thrombospondin 1 promotes tumor macrophages recruitment and enhances tumor cell cytotoxicity of differentiated U937 Cells. *Cancer Res* 2008; 68: 7090-9.
- Wierzbowska A, Krawczyńska A, Wrzesień-Kuś A, Sobczak-Pluta A, Robak T. Thrombospondin-1 and its role in the biology of hematological malignancies. *Acta Haematol Pol* 2004; 35: 15-26.
- Elgert KD, Alleva DG, Mullins DW. Tumor-induced immune dysfunction: the macrophage connection. *J Leukoc Biol* 1998; 64: 275-90.
- Sunderkötter C, Goebeler M, Schulze-Osthoff K, Bhardwaj R, Sorg C. Macrophage-derived angiogenesis factors. *Pharmacol Ther* 1991; 51: 195-216.
- Ben-Baruch A. Inflammation-associated immune suppression in cancer: the roles played by cytokines, chemokines and additional mediators. *Semin Cancer Biol* 2006; 16: 38-52.
- Lamagna C, Aurrand-Lions M, Imhof BA. Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis. *J Leukoc Biol* 2006; 80: 705-13.
- Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002; 196: 254-65.
- Leivonen SK, Kahari VM. Transforming growth factor-beta signaling in cancer invasion and metastasis. *Int J Cancer* 2007; 121: 2119-24.
- Shih J-Y, Yuan A, Chen J-W, Yang P-C. Tumor-associated macrophage: its role in cancer invasion and metastasis. *J Cancer Mol* 2006; 2: 101-6.
- Sikora J, Dworacki G, Giersz R, Żeromski J. The role of monocytes/macrophages in TCR-zeta chain downregulation and apoptosis of T lymphocytes in malignant pleural effusions. *J Biol Regul Homeost Agents* 2004; 18: 26-32.
- Germain RN, Stefanová I. The dynamics of T cell receptor signaling: complex orchestration and the key roles of tempo and cooperation. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 467-522.
- Kersh EN, Shaw AS, Allen PM. Fidelity of T cell activation through multistep T cell receptor zeta phosphorylation. *Science* 1998; 281: 572-5.
- Zea AH, Curti BD, Longo DL, et al. Alterations in T cell receptor and signal transduction molecules in melanoma patients. *Clin Cancer Res* 1995; 1: 1327-35.

36. Lai P, Rabinowich H, Crowley-Nowick PA, Bell MC, Mantovani G, Whiteside TL. Alterations in expression and function of signal-transducing proteins in tumor-associated T and natural killer cells in patients with ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 161-73.
37. Mulder WM, Bloemena E, Stukart MJ, Kummer JA, Wagstaff J, Scheper RJ. T cell receptor-zeta and granzyme B expression in mononuclear cell infiltrates in normal colon mucosa and colon carcinoma. *Gut* 1997; 40: 113-9.
38. van Netten JP, Ashmead BJ, Parker RL, Thornton IG, Fletcher C, Cavers D, Coy P, Brigden ML. Macrophage-tumor cell associations: a factor in metastasis of breast cancer? *J Leukoc Biol* 1993; 54: 360-2.
39. Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1414-21.
40. Piras F, Colombari R, Minerba L, Murtas D, Floris C, Maxia C, Corbu A, Perra MT, Sirigu P. The predictive value of CD8, CD4, CD68, and human leukocyte antigen-D-related cells in the prognosis of cutaneous malignant melanoma with vertical growth phase. *Cancer* 2005; 104: 1246-54.
41. Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol* 2000; 7: 263-9.
42. Saji H, Koike M, Yamori T, Saji S, Seiki M, Matsushima K, Toi M. Significant correlation of monocyte chemoattractant protein-1 expression with neovascularization and progression of breast carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 1085-91.
43. Nagorsen D, Voigt S, Berg E, Stein H, Thiel E, Loddenkemper C. Tumor-infiltrating macrophages and dendritic cells in human colorectal cancer: relation to local regulatory T cells, systemic T-cell response against tumor-associated antigens and survival. *J Transl Med* 2007; 5: 62.
44. Funada Y, Noguchi T, Kikuchi R, Takeno S, Uchida Y, Gabbert HE. Prognostic significance of CD8+ T cell and macrophage peritumoral infiltration in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2003; 10: 309-13.
45. Maliszewski D, Jastrzębski T, Drucis K, Kopacz A. Prognostic factors in colon cancer – what can we add to the standards? *Współcz Onkol* 2008; 12: 212-6.
46. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 4625-9.
47. Shimura S, Yang G, Ebara S, Wheeler TM, Frolov A, Thompson TC. Reduced infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression. *Cancer Res* 2000; 60: 5857-61.
48. Ohno S, Ohno Y, Suzuki N, et al. Correlation of histological localization of tumor-associated macrophages with clinicopathological features in endometrial cancer. *Anticancer Res* 2004; 24: 3335-42.
49. Hamada I, Kato M, Yamasaki T, et al. Clinical effects of tumor-associated macrophages and dendritic cells on renal cell carcinoma. *Anticancer Res* 2002; 22: 4281-4.
50. Tan SY, Fan Y, Luo HS, Shen ZX, Guo Y, Zhao LJ. Prognostic significance of cell infiltrations of immunosurveillance in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1210-4.
51. Piras F, Colombari R, Minerba L, et al. The predictive value of CD8, CD4, CD68, and human leukocyte antigen-D-related cells in the prognosis of cutaneous malignant melanoma with vertical growth phase. *Cancer* 2005; 104: 1246-54.
52. Koide N, Nishio A, Sato T, Sugiyama A, Miyagawa S. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 expression and macrophage infiltration in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1667-74.
53. Taskinen M, Karjalainen-Lindsberg ML, Nyman H, Eerola LM, Leppä S. A high tumor-associated macrophage content predicts favorable outcome in follicular lymphoma patients treated with rituximab and cyclophosphamide-doxorubicin-vincristine-prednisone. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5784-9.
54. Farinha P, Masoudi H, Skinnider BF, et al. Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma (FL). *Blood* 2005; 106: 2169-74.
55. Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 1414-21.
56. Davidson B, Goldberg I, Gotlieb WH, Lerner-Geva L, Ben-Baruch G, Agulansky L, Novikov I, Kopolovic J. Macrophage infiltration and angiogenesis in cervical squamous cell carcinoma – clinicopathologic correlation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 240-4.

Adres do korespondencji

mgr **Andrzej Eljaszewicz**
Katedra i Zakład Immunologii
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
ul. M. Curie-Skłodowskiej 9
85-094 Bydgoszcz
e-mail: a.eljaszewicz@cm.umk.pl