

Received: 2014.01.24
Accepted: 2014.05.08
Published: 2014.06.30

Rola IL-10 w modulowaniu odpowiedzi odpornościowej w warunkach prawidłowych oraz w środowisku nowotworu

The role of IL-10 in the modulation of the immune
response in normal conditions and the tumor environment

Jagoda Kicielińska, Elżbieta Pajtasz-Piasecka

Laboratorium Doświadczalnej Terapii Przeciwnowotworowej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN
im. L. Hirsfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Pod wpływem różnorodnych stymulatorów wywołujących aktywację czynników transkrypcyjnych, takich jak c-Maf, NFIL3, ERK wiele prawidłowych i nowotworowych komórek jest zdolnych do wytwarzania tej samej cytokiny - IL-10. Istnieje coraz więcej dowodów na to, że cytokina ta ma znaczący wpływ na różne aspekty sterowania mechanizmami odpornościowymi. Ważne jest zatem pełne zrozumienie, jakie czynniki są odpowiedzialne za regulowanie ekspresji genu *Il10* i sekrecję białka.

Działanie IL-10 na komórki zależy, podobnie jak w przypadku innych cytokin, od obecności swojego dla niej receptora. Jego ekspresję wykazano m.in. na powierzchni komórek APC (DC, makrofagi, limfocyty B), komórek NK oraz limfocytów T CD8⁺ i CD4⁺ (w tym Tr1, Th2 i Th1), a więc komórek pełniących znaczącą rolę w kształtowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej. Dlatego też udział IL-10 w tym procesie jest rozpatrywany w coraz szerszym zakresie. Istnieje wiele danych dowodzących, że IL-10 uczestniczy w generowaniu immunosupresji, inne natomiast świadczą o właściwościach immunostymulujących tej cytokiny. Ten dualizm funkcjonalny IL-10 jest szczególnie istotny w kontekście regulacji wzrostu nowotworu, zarówno jego promowania, jak i zwalczania.

Słowa kluczowe:

interleukina 10 (IL-10) • limfocyty T CD4⁺ • odpowiedź przeciwnowotworowa

Summary

Under the influence of the various stimuli that activate transcription factors such as cMaf, NFIL3, and ERK, many normal and neoplastic cells are able to produce the same cytokine – IL-10. There is increasing evidence that this cytokine has a significant impact on various aspects of the immune control mechanisms. Therefore, it is important to complete understanding of which factors are responsible for regulation of *Il10* gene expression and protein secretion. The influence of IL-10 on cells, as in the case of other cytokines, depends on the presence of the specific receptor. Its expression has been shown, among others, on the surface of antigen-presenting cells (dendritic cells, macrophages, B cells), NK cells, T lymphocytes CD8⁺ and CD4⁺ (including Tr1, Th1 and Th2), which play an important role in the development of anti-tumor immunity. Therefore, the role of IL-10 in this process is considered to an increasing extent. There are a number of results showing that IL-10 is involved in the generation of immunosuppression, while others demonstrate immunostimulatory properties of this cytokine. This

Keywords:	functional duality of IL-10 is substantial in the context of the regulation of tumor growth, both its promotion and fighting against it. interleukin 10 (IL-10) • CD4⁺ T cells • antitumor response
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1111123
Word count:	4644
Tables:	2
Figures:	4
References:	82

Adres autorki: dr hab. Elżbieta Pajtasz-Piasecka, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: pajtasz@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **Ag** – antygen (antigen); **APC** – komórka prezentująca antygen (antigen presenting cell); **CSIF** – czynnik hamujący syntezę cytokin (cytokine synthesis inhibitory factor); **CTL** – limfocyt T cytotoksyczny (T cytotoxic lymphocyte); **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell); **DC-SIGN** – swoista dla komórek dendrytycznych nieintegryna wychwytyująca cząsteczkę adhezji międzykomórkowej (DC-specific ICAM3-grabbing non-integrin); **ERK** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signal-regulated kinase); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **HSP** – białko szoku cieplnego (heat-shock protein); **ICAM** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej (intercellular adhesion molecule); **ICOS** – kostymulujący receptor ICOS (inducible co-stimulator); **IFN-γ** – interferon gamma (interferon gamma); **IL** – interleukina (interleukin); **IL-10R** – receptor IL-10 (IL-10-receptor); **IP-10** – białko indukowane przez interferon (interferon inducible protein); **JAK** – kinazy Janusa (Janus kinases); **LPS** – lipopolisacharyd (lipopolysaccharide); **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen (mitogen-activated protein kinase); **mDC** – mieloidalna komórka dendrytyczna (myeloid dendritic cell); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **MyD88** – białko adaptorowe MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88); **Mφ** – makrofagi (macrophages); **NF-κB** – czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB); **NK** – naturalna komórka cytotoksyczna (natural killer); **pDC** – plazmacytoidalna komórka dendrytyczna (plasmacytoid dendritic cell); **PEG** – polietylenoglikol (polyethylene glycol); **PGE2** – prostaglandyna E2 (prostaglandin E2); **PI3-K** – kinaza PI3-K (phosphatidylinositol 3-kinase); **PRR** – receptory rozpoznające wzorce molekularne (pattern recognition receptors); **RBPJ** – białko RBPJ (recombination-signal-binding protein for immunoglobulin-κ J region); **RORγt** – receptor jądrowy RORγt (retinoic-acid-receptor-related orphan receptor-γt); **ROS** – reaktywne formu tlenu (reactive oxygen species); **siRNA** – małe interferujące RNA (small interfering RNA); **SOCS** – białko hamujące ścieżkę transdukcji sygnału JAK/STAT (suppressors of cytokine signaling); **STAT** – białko pełniące rolę transduktora sygnału i aktywatora transkrypcji (signal transducer and activator of transcription); **SYK** – śledzionowa kinaza tyrozynowa (spleen tyrosine kinase); **TAA** – antygen związany z nowotworem (tumor associated antigen); **TCR** – receptor limfocytów T (T-cell receptor); **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor-β); **Th** – limfocyt T pomocniczy (T helper lymphocytes); **TIL** – limfocyt naciekający guz (tumor infiltrating lymphocytes); **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll like receptor); **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu-α (tumor necrosis factor-α); **TRAF3** – czynnik związany z TNFR (TNFR-associated factor 3); **Treg** – regulatorowy limfocyt T (regulatory T cell); **TRIF** – białko zawierające domenę TIR indukujące interferon β (TIR – domain containing adapter inducing interferon-β); **Tyk2** – kinaza tyrozynowa 2 (non-receptor tyrosine-protein kinases 2).

AKTYWACJA ANTYPGENOWA A WYTWARZANIE IL-10

Interleukina 10 (IL-10) jest cytokiną o działaniu plejotropowym, uczestniczącą w immunoregulacji procesów zapalnych i przeciwalergiczych. Wraz z kilkoma innymi interleukinami (IL-19, -20, -22, -24, -26, -28, -29) tworzy dużą rodzinę cytokin, które wiążą się z receptorami typu II [12]. Ludzka IL-10 (hIL-10) jest homo-

dimerem o masie molekularnej 37 kDa, zbudowanym z podjednostek zawierających 160 aminokwasów. Mysia (mIL-10) i ludzka IL-10 wykazują homologię w 80% [3]. Interleukina 10 była początkowo opisywana jako czynnik hamujący syntezę cytokin (CSIF – cytokine synthesis inhibitory factor). W mysim układzie czynnik ten wydzielany przez komórki T pomocnicze typu 2 (Th2, T helper) był odpowiedzialny za hamowanie aktywacji

komórek Th1 i wytwarzanie przez nie cytokin (IFN- γ , IL-2, IL-3, GM-CSF) [19].

W środowisku nowotworu źródłem IL-10 mogą być same komórki nowotworowe. Wykazano, że świeżo izolowane z przerzutów komórki ludzkiego czerniaka początkowo wytwarzały IL-10, jednak po dłuższym czasie hodowli traciły taką zdolność [74]. Ekspresję mRNA IL-10 oraz jej wydzielanie stwierdzono także w innych ludzkich komórkach nowotworowych świeżo pobranych od pacjentów. Przykładem mogą być komórki raka jajnika [59], raka piersi [75], raka płuc [28]. Wytwarzanie IL-10 przez komórki nowotworowe może być uzależnione od warunków ich wzrostu. Sato i wsp. zaobserwowali, że komórki linii mysiego czerniaka B16 oraz komórki linii mysiego raka sutka 4T1 hodowane w warunkach *in vitro* nie wykazywały ekspresji mRNA interleukiny 10. Natomiast komórki obu linii rosnące w warunkach *in vivo* okazały się zdolne do ekspresji mRNA i wytwarzania tej cytokiny, a próbki surowicy pobrane od myszy obarczonych tymi nowotworami, zawierały podwyższone stężenie IL-10 [67]. Zwiększone stężenie tej cytokiny w surowicy zaobserwowano również u pacjentów chorych na czerniaka [18,42], chłoniaka rozlanego z dużych komórek B [52] oraz chłoniaka Hodgkina [24]. Jednak, czy za obecność wysokiego stężenia IL-10 w surowicy są odpowiedzialne jedynie komórki nowotworowe? Zespół Sato wykazał, że komórki nowotworowe mogą być stymulowane do wytwarzania IL-10 przez cytokiny uwalniane do tkanki nowotworowej przez naciekające komórki odpornościowe [67]. Jedną z takich cytokin jest IL-6. Na przykład w hodowlach ludzkich komórek raka jelita grubego HT-29, Colo 320 i Colo 205 wyindukowano produkcję IL-10 w obecności IL-6, a poziom wytwarzania cytokiny przez te komórki wzrastał wraz ze stężeniem stymulatora [26]. W przypadku komórek ludzkiego czerniaka linii CM005, wykazano, że ich zdolność do wytwarzania IL-10 może zależeć nie tylko od stężenia IL-6 w hodowli, ale także od czasu ich inkubacji [74].

Obecnie uznaje się, że wiele rodzajów komórek organizmu jest zdolnych do wytwarzania IL-10. Wśród komórek układu odpornościowego, zdolne do sekrecji IL-10 są zarówno limfocyty T CD4⁺ (Th1, Th2, Th17, Tr1, Treg), jak również limfocyty T CD8⁺ i limfocyty B. Innym potencjalnym producentem tej cytokiny są monocyty oraz odpowiednio aktywowane makrofagi i mieloidalne komórki dendrytyczne (mDC), granulocyty kwasochłonne oraz komórki tuczne [53]. Interleukina 10 może być również wytwarzana przez komórki nienależące bezpośrednio do układu odpornościowego, jednak biorące udział w reakcjach odpornościowych i współdziałające z komórkami odpornościowymi, takie jak keratynocyty lub komórki nabłonka [49].

Wytwarzanie IL-10 przez komórki odpornościowe, takie jak limfocyty B, makrofagi lub DC zależy od stymulacji antygenowej różnorodnymi stymulatorami, do których należy zarówno wiele produktów patogenów, jak i białka endogenne gospodarza, a więc - od przyłączenia się odpowiednich ligandów do receptorów znajdujących się

na powierzchni tych komórek. Natomiast w przypadku limfocytów T do wytwarzania IL-10 jest niezbędna nie tylko stymulacja swoistym antygenem, ale także obecność w mikrośrodowisku odpowiednich cytokin.

Szlaki sygnałowe odpowiedzialne za wytwarzanie IL-10 przez komórki odpornościowe

Wykazano wiele molekularnych interakcji prowadzących do ekspresji genu *Il10*, wspólnych dla różnych komórek odpornościowych. Jednak istnieją również swoiste szlaki sygnałowe zdolne do pobudzenia wytwarzania tej cytokiny, charakterystyczne jedynie dla komórek odpornościowych określonego typu [66].

Komórki fagocytyzujące, takie jak makrofagi i DC, odpowiedzialne za naturalną obronę organizmu mogą w różny sposób reagować na pojawienie się zagrożenia. W wyniku silnej stymulacji wykazują właściwości żerne i aktywujące [39], natomiast w wyniku słabszego pobudzenia są zdolne do wydzielania IL-10 w warunkach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*.

Proces ten rozpoczyna aktywacja jednej z pięciu rodzin receptorów rozpoznających wzorce molekularne (PRR – pattern recognition receptors), wśród których rodzina receptorów Toll-podobnych (TLR – Toll like receptors) odgrywa znaczącą rolę [34,66]. Niektórzy badacze sugerują, że agoniści TLR2 (cząsteczki zawierające ugrupowania di- lub triacyloglicerolowe, białka, polisacharydy) [57] są cząsteczkami „wyspecjalizowanymi” do indukcji ekspresji genu *Il10* przez makrofagi oraz mDC [69]. Wysoka produkcja IL-10 przez te komórki powoduje również aktywacja TLR4 i TLR9 przez odpowiednie ligandy np. LPS lub CpG. Jednak jedynie makrofagi są zdolne do wytwarzania IL-10 w wyniku aktywacji szlaku sygnałowego zależnego od TLR3 [5] (tab. 1).

Po aktywacji receptorów TLR są uruchamiane kaskady sygnałowe, indukujące wytwarzanie zarówno IL-10, jak i cytokin prozapalnych. Głównym czynnikiem transkrypcyjnym warunkującym wytwarzanie IL-10 przez komórki mieloidalne jest kinaza ERK (extracellular signal-regulated kinase). Siła aktywacji ERK koreluje z wielkością wytwarzania IL-10 przez makrofagi, mDC oraz plazmocytoidalne DC (pDC). Makrofagi wykazują wysoką produkcję IL-10, mogą bowiem być indukowane za pomocą szlaków sygnałowych zarówno zależnych od TLR, jak i TLR-niezależnych. Mieloidalne DC, w związku z niższą aktywacją ERK, wytwarzają mniejsze ilości tej cytokiny. Natomiast pDC charakteryzują się niewielką ekspresją ERK i nie są zdolne do wytwarzania większych ilości IL-10 (ryc. 1) [5,66].

Tak jak to zaznaczono wyżej, wśród komórek limfoidalnych ważnymi producentami IL-10 są limfocyty B. Regulatorowe limfocyty B mogą być pobudzane przez takie stymulatory jak LPS lub CpG. Jednak część antygenów jest rozpoznawana za pomocą obecnego na powierzchni tych komórek receptora antygeny

Tabela 1. Komórki produkujące IL-10 pod wpływem różnorodnych stymulatorów

Komórki	Ligandy		Receptory
Th1	*↑ Ag-MHC II	IL-12	TCR, IL-12R
Th2	Ag-MHC II	IL-4	TCR, IL-4R
Th17	Ag-MHC II	TGF-β, IL-6, IL-21 i /lub IL-27	TCR, TGF-βR, IL-6R, IL-21R, IL-27R
Treg	Ag-MHC II	TGF-β	TCR, TGF-βR
Tr1	Ag-MHC II	IL-10	TCR, IL-10R
limfocyty T CD8 ⁺	Ag-MHC I, CD40L		TCR, CD40
limfocyty B	LPS, CpG		TLR4, TLR9
makrofagi	antygeny wirusowe i bakteryjne (np. LPS, CpG, lipopeptydy)		TLR2, TLR3, TLR4, TLR9
mDC	antygeny wirusowe i bakteryjne (np. LPS, CpG, lipopeptydy)		TLR2, TLR4, TLR9

*silny sygnał aktywacji

(BCR). Jako komórki prezentujące antygeny, limfocyty B uczestniczą w prezentacji antygenów limfocytom T i są zaangażowane w regulację reakcji odpornościowych. Omówienie udziału limfocytów B we wzbogacaniu środowiska w IL-10 przekracza ramy niniejszej pracy.

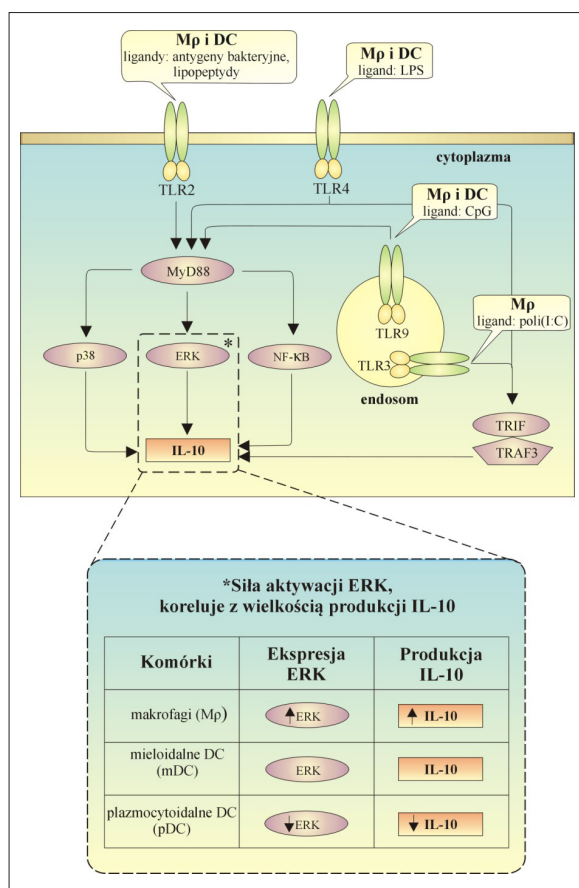
Wśród limfocytów T główną populacją zdolną do wytwarzania IL-10 są limfocyty T CD4⁺. Aby limfocyty te mogły uruchomić wytwarzanie IL-10 (tak jak innych cytokin), niezbędna jest ich pełna aktywacja przez komórki prezentujące antygeny, która najczęściej odbywa się w obwodowych narządach limfatycznych.

Pierwszy sygnał jest dostarczany w czasie rozpoznania antygeny przez TCR (T-cell receptor), drugi pochodzi od cząsteczek kostymulujących, a trzeci jest zależny od cytokin obecnych w mikrośrodkowisku [63] (ryc. 2). Przekazanie pierwszego sygnału do wnętrza komórki zapoczątkowuje nowo powstałe połączenie TCR z kompleksem składającym się z peptydu i cząsteczki głównego kompleksu zgodności tkankowej (p-MHC) tworzące synapsę immunologiczną. Do sygnału, który jest przekazywany przez kompleks TCR-pMHC, skupiony w części centralnej synapsy immunologicznej dołącza cząsteczka CD28, dla której ligandem są cząsteczki kostymulujące CD80/86. Powstający kompleks tworzy drugi sygnał aktywacji. Duża dawka antygeny silnie angażuje TCR i jednocześnie wpływa na wzrost ekspresji cząsteczki CD40L, która wraz z innymi stymulatorami mikrobiologicznymi synergistycznie działa na wzrost wytwarzania cytokin przez DC. Wydzielone w czasie stymulacji cytokiny kreują trzeci sygnał niezbędny do aktywacji dziewięciu limfocytów T [29,80].

Cytokiny, *via* swoiste receptory na powierzchni limfocytów T CD4⁺, przekazują sygnał do wnętrza pobudzanej komórki wykorzystując szlaki sygnałowe zależne od kinaz Janusa (JAK, Janus kinase) i białek STAT (signal transducers and activator of transcription). W ten sposób wpływają na wzrost ekspresji głównych czynników transkrypcyjnych (master transcription factors), ich współpracę z wtórnymi czynnikami transkrypcyjnymi, a w konsekwencji - na wzrost ekspresji genów odpowiednich cytokin i ich receptorów. Aktywacja głównych czynników transkrypcyjnych odpowiada za indukcję silnego pozytywnego sprzężenia zwrotnego ukierunkowującego polaryzację poszczególnych subpopulacji limfocytów T CD4⁺ (ryc. 2) [82].

W warunkach prawidłowych, dziewięć limfocytów T CD4⁺ mogą bezpośrednio różnicować się do komórek Treg i Tr1. Do powstania subpopulacji limfocytów Treg jest niezbędne działanie TGF-β, które prowadzi do zróżnicowania komórek o fenotypie FoxP3⁺CD25⁺. TGF-β aktywuje białko STAT5, które indukuje ekspresję czynnika transkrypcyjnego FoxP3 i powstanie limfocytów Treg. Natomiast komórki Tr1, wyróżniające się brakiem ekspresji czynnika transkrypcyjnego FoxP3, powstają dzięki aktywacji STAT1 z udziałem IL-27 lub samej IL-10 w wyniku indukcji ekspresji czynników transkrypcyjnych c-Maf i ICOS [61]. W zdrowym organizmie, komórki Treg i Tr1 są odpowiedzialne za wytwarzanie IL-10, dzięki czemu pełnią funkcje immunoregulacyjne.

W procesie różnicowania komórek T CD4⁺ do limfocytów Th17 jest konieczna obecność TGF-β oraz cytokin prozapalnych, takich jak IL-6/IL-21 i IL-23. We wczesnym eta-



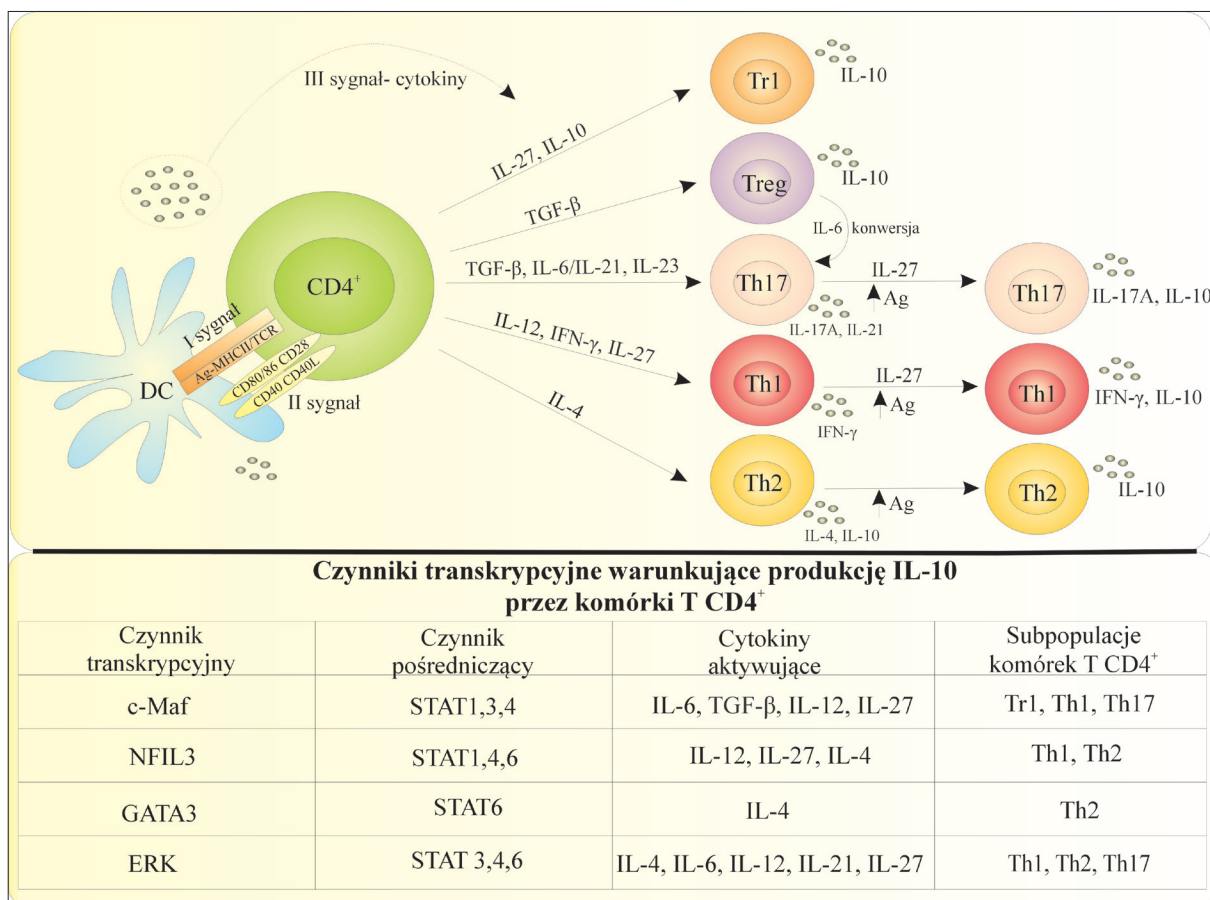
pie różnicowania IL-6, za pośrednictwem receptora IL-6R, aktywuje białko STAT3. W wyniku współdziałania TGF- β i IL-6 dochodzi do stymulacji ekspresji receptora jądrowego ROR γ t, przekazania sygnału i różnicowania komórek do Th17. Pod nieobecność IL-6, IL-21 wydzielana przez aktywowane limfocyty T CD4⁺ uruchamia alternatywny szlak prowadzący do aktywacji STAT3. W późniejszym etapie procesu, przy współdziale IL-21 i wytwarzanej przez komórki dendrytyczne IL-23 dochodzi do wydzielania IL-22, stabilizacji fenotypu oraz proliferacji komórek Th17. Dodatkowo w procesie dojrzewania tych komórek bierze udział IL-1 β , pełniąc funkcję pomocniczą w stosunku do IL-6 i TGF- β [27]. Możliwe jest także powstanie limfocytów Th17, w wyniku przekształcenia się już zróżnicowanych limfocytów Treg w obecności IL-6 [77]. W pełni aktywowane komórki Th17 są zdolne do wytwarzania IL-17A, IL-21. W wyniku silnej, chronicznej stymulacji antygenowej oraz w obecności IL-27 komórki Th17 są zdolne także do wytwarzania IL-10. W takich zmienionych warunkach jest aktywowane białko STAT3, a w niektórych przypadkach także STAT1, co prowadzi do ekspresji czynnika transkrypcyjnego c-Maf. Podobnie jak w przypadku komórek Tr1, białko to warunkuje ekspresję IL-10 również w komórkach Th17 [66,72].

Różnicowanie dziewiczych komórek T CD4⁺ w kierunku limfocytów Th1 zostaje zapoczątkowane przez aktywację białka STAT1 po związaniu IFN- γ i IL-27 do odpowiednich receptorów. Niezbędna jest także ekspresja

Ryc. 1. Środowiskowa aktywacja mieloidalnych komórek odpornościowych do wytwarzania IL-10 (wg [66] zmodyfikowano). Po aktywacji Toll-podobnych receptorów (na powierzchni makrofagów (TLR2,3,4,9) i mieloidalnych komórek dendrytycznych (TLR2,4,9), a następnie domeny TIR (Toll-interleukin-1 receptor), są uruchamiane kaskady sygnałowe, w których pośredniczy białko adaptorowe MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88) oraz TRIF (TIR-domain containing adapter inducing interferon- β). Białka te indukują wytwarzanie zarówno IL-10, jak i cytokin prozapalnych. Przyłączenie się cząsteczki MyD88 do domeny TIR prowadzi do aktywacji kinaz białkowych aktywowanych przez mitogen (MAPK, mitogen-activated protein kinase), takich jak p38 i ERK oraz czynnika jądrowego κ B (NF- κ B, nuclear factor κ B). Siła aktywacji ERK, koreluje z wielkością wytwarzania IL-10 przez makrofagi, mDC oraz plazmocytoidalne DC (pDC). Makrofagi wykazują znaczne wytwarzanie IL-10, bowiem mogą być indukowane za pomocą szlaków sygnałowych zarówno zależnych od TLR, jak i TLR-niezależnych [66]. Opisano dodatkowe sygnały prowadzące do wytwarzania IL-10 przez makrofagi. Wytwarzanie tej cytokiny indukowane przez LPS, wymaga aktywacji ścieżki sygnałowej z udziałem białek TRIF i MyD88 [5]. Co więcej, czynnik TRAF3 (TNFR-associated factor 3), ważny składnik szlaku wytwarzania interferonów jest również zaangażowany w pozytywną regulację ekspresji genu *IL10* [66]. Mieloidalne DC, w związku z mniejszą aktywacją ERK, wytwarzają mniej tej cytokiny. U mDC, sygnały indukowane przez DC-SIGN (DC-specific ICAM3-grabbing non-integrin) i kinazę RAF1 mogą wspomagać wytwarzanie IL-10 zależnie od pobudzenia TLR2. Jednak aktywacja dektyny1 i cząsteczki sygnałowej SYK (spleen tyrosine kinase) oraz ERK również wywołuje wytwarzanie IL-10. Plazmocytoidalne DC charakteryzują się niską ekspresją ERK i nie są zdolne do wytwarzania większych ilości IL-10 (wg [5,66] zmodyfikowano); IL-10 – interleukina 10 (interleukin 10), Mp – makrofagi (macrophages), mDC – mieloidalne komórki dendrytyczne (myeloid dendritic cells), pDC – plazmocytoidalne komórki dendrytyczne (plasmacytoid dendritic cells), LPS – lipopolisacharyd (lipopolisaccharide), TLR – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors), MyD88 – białko adaptorowe MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88), MAPK – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen (mitogen-activated protein kinase), p38 – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen, ERK – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signal-regulated kinase), NF- κ B – czynnik jądrowy κ B (nuclear factor κ B), TRIF – białko zawierające domenę TIR indukujące interferon β (TIR – domain containing adapter inducing interferon- β), TRAF3 – czynnik związany z TNFR (TNFR-associated factor 3)

receptora IL-12R, wiążącego IL-12 i pośredniczącego w aktywacji białka STAT4, które oddziałuje z czynnikiem transkrypcyjnym Tbet (T-box transcription factor), charakterystycznym dla tej subpopulacji. Ważną rolę w początkowych etapach tego procesu odgrywa IL-2, która indukuje aktywację białka STAT5, co prowadzi do wytwarzania IFN- γ , produkowanego w dużych ilościach przez rozwijające się komórki Th1. Przy braku IL-12 w środowisku, różnicowanie komórek Th1 jest wciąż możliwe, dzięki obecności cząsteczki Notch, aktywującej białko RBPJ [54,77].

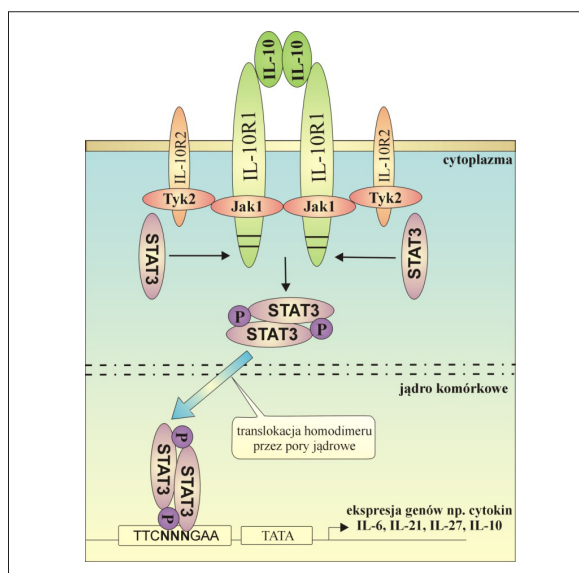
W pełni zróżnicowane komórki Th1 charakteryzujące się wysoką produkcją IFN- γ są odpowiedzialne za powsta-



Ryc. 2. Wpływ środowiska cytokinowego na różnicowanie się limfocytów T CD4⁺. Związanie dziewiczego limfocyta T z odpowiednim kompleksem MHC-peptyd prowadzi do przekazania sygnału do wnętrza komórki – I sygnał. Proces jest zainicjowany przez aktywację kinazy Lck, która fosforyluje reszty tyrozynowe sekwencji ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) występujące w domenie wewnątrzkomórkowej cząsteczek CD3 związanych z receptorem TCR i aktywuje białko ZAP-70. Ta ostatnia kinaza przyłącza się do ufosforylowanych reszt tyrozynowych sekwencji ITAM, uruchamiając ekspresję i wydzielanie IL-2. Rozpoznanie antygeny przez TCR prowadzi również do aktywacji kolejnych białek szlaków sygnałowych, takich jak NFAT, NFκB oraz AP-1 [82]. II sygnał aktywacji pochodzi od cząsteczek kostymulujących (CD80, CD86, CD40). Komórki APC wytwarzają wiele cytokin, które wiążąc się ze swoistymi receptorami na powierzchni limfocytów T CD4⁺ przekazują sygnał do wnętrza pobudzonej komórki – III sygnał. Aktywowane przez swoisty sygnał czynniki transkrypcyjne odpowiadają za ekspresję genów, charakterystycznych dla poszczególnych subpopulacji tych komórek. W warunkach prawidłowych, za wytwarzanie IL-10 są odpowiedzialne komórki Treg i Tr1. Subpopulacja limfocytów Treg, powstaje w obecności TGF-β w wyniku ekspresji czynnika transkrypcyjnego FoxP3. Komórki Tr1 powstają z udziałem IL-27 lub IL-10 w wyniku ekspresji białek c-Maf i ICOS. W swoistych warunkach limfocyty Th1, Th2 i Th17 także są zdolne do wytwarzania IL-10. W pełni aktywowane komórki Th1 i Th17, w wyniku chronicznej stymulacji antygenowej i w obecności IL-27 są zdolne do wytwarzania IL-10, oprócz cytokin charakterystycznych dla tych subpopulacji (odpowiednio IFN-γ i IL-17A). W przypadku komórek Th2, silna stymulacja antygenowa jest wystarczającym sygnałem do produkcji wyłącznie IL-10 przez te komórki; DC – komórki dendrytyczne (dendritic cells), Ag – antygen/stymulacja (antigen/antigen stimulation), MHC II – cząsteczka głównego układu zgodności tkankowej klasy II (major histocompatibility complex class II), TLR – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors), Ag-MHC II/TCR – kompleks TCR i cząsteczki MHC klasy II prezentującej antygeny (complex Ag-MHC II/TCR), IL – interleukina (interleukin), CD80/CD86 – cząsteczki kostymulujące (costimulatory molecules), TGF-β – transformujący czynnik wzrostu β (Transforming Growth Factor β), IFN-γ – interferon γ (interferon γ), Th – limfocyt T pomocniczy (T helper lymphocytes), Treg – limfocyt T regulatorowy (T regulator cell)

wanie odpowiedzi komórkowej. Jednak w wyniku silnej, chronicznej, antygenowoswoistej stymulacji TCR odbywającej się w obecności IL-27 – okazują się zdolne do wytwarzania zarówno IFN-γ, jak i IL-10 [56]. W indukowaniu ekspresji genu *Il10* przez komórki Th1 bierze udział szlak sygnałowy zależny od białek STAT4 i ERK. Co więcej, komórki Th1 zdolne do wytwarzania IL-10, oprócz charakterystycznego dla tej populacji czynnika Tbet, wykazują także ekspresję czynnika NFIL3 oraz podobnie jak komórki Tr1 i Th17 – c-Maf.

Różnicowanie komórek T CD4⁺ w kierunku limfocytów Th2 wymaga obecności IL-4 w środowisku (ryc. 2). Proces ten uruchamia szlak sygnałowy zależny od STAT6 prowadzący do aktywacji GATA3. Pierwotnie pobudzone komórki Th2 wykazujące ekspresję czynnika GATA3, mogą wytwarzać zarówno IL-4, jak i IL-10 [81]. Shoenmaker i wsp. sugerują, że GATA3 pełni kluczową rolę w regulacji ekspresji genu *Il10* w dziewiczych komórkach T CD4⁺, przez wywoływanie zmian w strukturze chromatinu i stabilizowanie locus IL-10 do postaci aktyw-



Ryc. 3. Funkcjonalny receptor dla IL-10 (IL-10R) (wg [49] zmodyfikowano).

Receptor IL-10 (IL-10R) jest kompleksem białek zbudowanym z dwóch kopii łańcuchów IL-10R1 i IL-10R2. Podjednostka IL-10R1 wiąże IL-10 ze stosunkowo dużym powinowactwem (50-200 pM). Obie podjednostki receptora są białkami transbłonowymi, zbudowanymi z 200-aminokwasowych domen zewnątrzkomórkowych, 20-aminokwasowych helis transbłonowych oraz domen wewnątrzkomórkowych utworzonych z 322 aminokwasów w przypadku podjednostki IL-10R1 i 62 aminokwasów podjednostki IL-10R2 [60]. Przyłączenie IL-10 do funkcjonalnego receptora, aktywuje kinazy tyrozynowe Janus, JAK1 oraz Tyk2, związane odpowiednio z ufosorylowanymi, wewnątrzkomórkowymi domenami podjednostek IL-10R1 oraz IL-10R2. W rezultacie do podjednostek IL-10R1 są przyłączane białka STAT3, dochodzi do ich homodimeryzacji i translokacji do jądra. Transport homodimeru STAT3 do jądra zależy od związania na ich powierzchni importynu ($\alpha 3$, $\alpha 6$ i $\beta 1$) i przebiega przez pory jądrowe [62]. W jądrze komórkowym, STAT3 łączy się z odpowiednią sekwencją DNA i wpływa na ekspresję wielu genów np. cytokin (IL-6, IL-21, IL-27, IL-10). STAT3 bierze udział w aktywacji ekspresji genu *IL10* oraz białka regulatorowego SOCS3 (suppressor of cytokine signaling -3). SOCS3 hamuje aktywność katalityczną kinaz Janusa, uniemożliwiając w ten sposób ekspresję genów dla cytokin. Co więcej, IL-10R nie ma miejsca wiązania SOCS3, a tym samym nie podlega jego regulacji w przeciwieństwie do innych receptorów cytokin [49]. Przypuszczalnie SOCS1 i SOCS3 mogą brać udział w hamowaniu odpowiedzi potencjalnie upośledzając wytwarzanie cytokin przez komórki odpornościowe. Tym samym geny SOCS stają się częścią mechanizmu ujemnego sprzężenia zwrotnego regulującego szlak IL-10/STAT. Wpływ IL-10 na czynnik NF- κ B, znajdujący się na końcu tego szlaku, może zależeć od rodzaju komórek docelowych, bo zahamowanie NF- κ B jest obserwowane w makrofagach i limfocytach T CD4⁺, podczas gdy jego aktywacja - w limfocytach T CD8⁺. Sugeruje to znaczne zróżnicowanie reakcji różnych typów komórek na IL-10 [44]. Szlak sygnałowy zależny od białek STAT może być uruchamiany przez przyłączenie się IL-10, jak i IL-6 do swojego receptora, co prowadzi do uruchomienia wspólnego genu jakim jest SOCS3. Jednak tylko przyłączenie się IL-10 do receptora umożliwia aktywację genów regulujących odpowiedź przeciwpalną [51]. Jak1 – kinaza Janusowa 1 (Janus kinases 1), Tyk2 – kinaza tyrozynowa 2 (non-receptor tyrosine-protein kinases 2), TATA – sekwencja/kaseta TATA (TATA box), STAT3 – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji 3 (signal transducer and activator of transcription 3)

nej transkrypcyjnie (transcriptionally active status). Czynnik ten charakteryzuje się zróżnicowaną ekspresją w limfocytach T CD4⁺. Jego ekspresja wzrasta w komórkach aktywowanych do wytwarzania IL-10, w porównaniu do komórek spoczynkowych. Wykazano także, że poziom ekspresji czynnika GATA3 występującego w komórkach T CD4⁺ zdolnych do wytwarzania IL-10 koreluje z poziomem ekspresji tej cytokiny [68]. Podobnie jak w przypadku komórek Th1 silna, chroniczna antygenowośwoista stymulacja TCR już zróżnicowanych komórek Th2, prowadzi do ekspresji czynnika NFIL3, a w konsekwencji głównie do wytwarzania IL-10.

Godnym podkreślenia jest udział dwóch czynników transkrypcyjnych, które okazały się niezwykle ważne w aktywacji genu *IL10* w komórkach T CD4⁺. Jednym z nich jest c-Maf. W jego aktywacji mogą brać udział czynniki STAT3, STAT4 i STAT1, pośredniczące również w przenoszeniu sygnału z receptorów, takich cytokin jak IL-6, TGF- β , IL-12 i IL-27. Czynnik c-Maf wiąże się do odpowiedniego miejsca na promotorze dla IL-10, co prowadzi do ekspresji genu tej cytokiny w komórkach Tr1 i Th17 i prawdopodobnie również Th1. Aczkolwiek w przypadku komórek Th1 miejsce wiązania c-Maf do *locus* IL-10 nie jest jeszcze znane. Drugim czynnikiem jest NFIL3. Na jego znaczącą rolę w ekspresji genu *IL10* wskazują wyniki badań z komórkami Th1 i Th2, w których zablokowano ekspresję tego czynnika (NFIL3^{-/-}). Obie populacje tych zmodyfikowanych komórek nie wykazywały pobudzenia genu *IL10*. W komórkach Th2, w aktywacji NFIL3 bierze udział IL-4 i białko STAT6. Czynnik NFIL3 wiąże się do intronów w obrębie *locus* IL-10, natomiast w komórkach Th1 miejsce wiązania tego białka do *locus* IL-10 nie zostało do tej pory poznane [66].

Tak więc, pod wpływem odmiennych stymulatorów i w wyniku aktywacji wielu różnych czynników transkrypcyjnych rozmaite komórki organizmu okazują się zdolne do wytwarzania jednej cytokiny jaką jest IL-10. Jej wytwarzanie może być wynikiem pozytywnego sprzężenia wywołanego przez główne czynniki transkrypcyjne w czasie pierwotnego pobudzenia, jak w przypadku komórek regulatorowych, ale także może być przykładem negatywnego sprzężenia będącego odpowiedzią na określone warunki środowiskowe w pełni zróżnicowanych komórek wielu linii rozwojowych [82].

Receptor dla IL-10

Oddziaływanie cytokin na komórki jest możliwe tylko wtedy, gdy na ich powierzchni znajduje się receptor swoisty dla danej cytokiny. Ekspresję receptora IL-10 wykazano m.in. na powierzchni komórek APC (DC, makrofagi, limfocyty B), komórek NK oraz limfocytów T CD8⁺ i T CD4⁺, w tym Th1, Th2 i Th17.

Funkcjonalny receptor IL-10 (IL-10R) należy do rodziny receptorów cytokin typu II i jest kompleksem białek zbudowanym z dwóch kopii łańcuchów IL-10R1 i IL-10R2 [17]. Obecna w środowisku IL-10, przyłącza się

do IL-10R1 indukując zmiany konformacyjne tej podjednostki, co umożliwia jej dimeryzację z łańcuchem IL-10R2, a w konsekwencji powstanie funkcjonalnego receptora (ryc. 3), aktywującego szlak sygnałowy w komórkach docelowych [30].

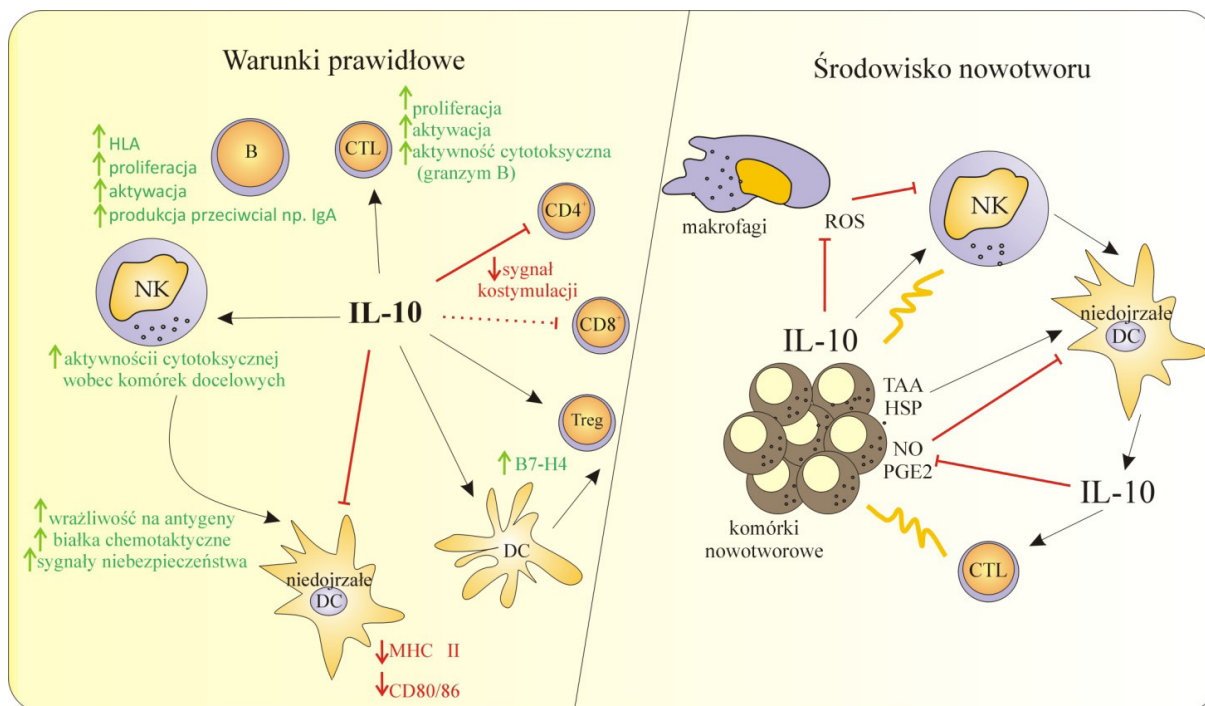
IMMUNOMODULUJĄCE DZIAŁANIE IL-10 W WARUNKACH PRAWDŁOWYCH

Przylączenie się IL-10 do funkcjonalnego receptora na komórkach docelowych może wpływać na pobudzenie ekspresji wielu genów, a co za tym idzie na działanie różnych białek w procesie różnicowania, proliferacji i aktywacji tych komórek (ryc. 4). Stąd jest opisywany jej wpływ na DC, dziewicze oraz zróżnicowane limfocyty T.

Jak już wspomniano wcześniej, komórki dendrytyczne są znaczącym źródłem IL-10, ale także mogą być celem jej działania. Obecność IL-10 w środowisku DC, utrudnia prezentację antygenów limfocytom T CD4⁺ przez obniżenie ekspresji cząsteczek MHC klasy II [36], cząsteczek adhezji międzykomórkowej (ICAM) [11] oraz cząsteczek kostymulujących, takich jak: CD80 i CD86 [7]. Co ważne, IL-10 nie wpływa na obniżenie ekspresji cząsteczek MHC klasy I na powierzchni DC [10], a tym samym nie wpływa na efektywność prezentacji antygenów limfocytom T CD8⁺. Komórki dendrytyczne mogą prezentować antygeny egzogenne limfocytom T cytotoksycznym w kontekście cząsteczek MHC klasy I w wyniku prezentacji krzyżowej. Jednak IL-10 pogarsza zdolność DC do prezentacji antygenów przez zmniejszenie ekspresji cząsteczek MHC klasy II. Ponadto, obecna w środowisku IL-10 stymuluje ekspresję immunosupresyjnej cząsteczki B7-H4 na komórkach dendrytycznych, która wiążąc się

z receptorem na powierzchni limfocytów T CD4⁺ pomocniczych hamuje ich aktywację i proliferację, a także promuje ich różnicowanie do komórek Treg [25]. Dalsze badania wykazały, że DC inkubowane w obecności IL-10 z limfocytami T CD4⁺ lub CD8⁺ mogą indukować ich stan anergii wobec alloantygenów [70].

Morel i wsp. wykazali natomiast, że DC stymulowane przez IL-10 mają większą zdolność do wychwytywania antygenów, ale jednocześnie wykazują mniejszą zdolność do ich prezentacji [48]. Jednak wyniki uzyskane przez Corinti i wsp. ujawniły, że autokrynną IL-10 zapobiega spontanicznemu dojrzewaniu DC *in vitro* pod wpływem działania LPS i CD40 oraz wzmacnia własną produkcję przez te komórki. Ogranicza też dojrzewanie DC pochodzących od monocytów i ich zdolność do inicjowania reakcji komórek Th1. Autorzy wykazali, że dojrzałe DC gromadzą większe ilości mRNA dla IL-10R1 oraz wewnątrzkomórkowego IL-10R1, ale zmniejszają powierzchnię ekspresję IL-10R1 i aktywność wiązania IL-10. Zatem endogenne IL-10 i IL-10R wydają się ważnymi regulatorami działania DC [13]. Interleukina 10 powoduje także zwiększenie ekspresji TLR na komórkach monocytarnych, a tym samym uwrażliwia je na mediatory sygnału niebezpieczeństwa, takie jak białka szoku cieplnego (HSP), czy też dwuniciowe DNA [46]. Ze względu na to, że IL-10 odgrywa znaczącą rolę we wczesnej fazie dojrzewania DC - wpływa negatywnie na indukcję pierwotnej odpowiedzi odpornościowej. Niedojrzałe DC gromadzą się w tkankach i pochłaniają antygeny, co inicjuje ich migrację do wtórnych narządów limfatycznych oraz różnicowanie do profesjonalnych komórek prezentujących antygeny. Pojawienie się IL-10 w środowisku hamuje migrację DC do wtórnych narządów



Ryc. 4. Wpływ IL-10 na środowisko prawidłowe i nowotworowe (opis w tekście; wg [44] zmodyfikowano)

dów limfoidalnych, a także moduluje wytwarzania IL-12 w węzłach limfatycznych [16].

IL-10 może wpływać na aktywację i różnicowanie limfocytów T CD4⁺, pośrednio przez oddziaływanie na DC lub bezpośrednio wiążąc się do receptora IL-10, który może występować na powierzchni zarówno dziewiczych, jak i już zróżnicowanych limfocytów T CD4⁺. Podczas interakcji między komórką APC i dziewiczym limfocytom T dochodzi do kontaktu, a jedną z cząsteczek uczestniczących w tym oddziaływaniu jest CD28. Zahamowanie szlaku sygnałowego *via* CD28 zostało zaproponowane jako główny mechanizm supresji działania limfocytów T za pośrednictwem IL-10. Albowiem, aby mogło dojść do kontaktu między dwiema komórkami, musi powstać synapsa immunologiczna, a białka kostymulujące znajdujące się na powierzchni APC (CD80/86) muszą wejść w interakcję z cząsteczką CD28. Reszty tyrozyny na cząsteczce CD28 są fosforylowane i jest uruchamiany szlak sygnałowy zależny od PI3-K (kinaza trifosfoinozytolu, phosphoinositide 3-kinase). Przyłączenie się IL-10 do swojego receptora w czasie kostymulacji cząsteczki CD28, hamuje ufosforylowanie tyrozyny na tej cząsteczce. W konsekwencji jest blokowane przyłączenie się podjednostki p85 kinazy PI3-K, a tym samym przekazywanie sygnału do jądra komórki i aktywacja limfocytów T CD4⁺. Ten hamujący wpływ IL-10 jest wybiórczy i dotyczy odpowiedzi limfocytów T zależnej od CD28 i nie ma wpływu na aktywność komórek T pamięci. Zatem dziewicz, ale nie antygenowo aktywowane komórki T są głównym celem hamującego działania IL-10, czego rezultatem jest jej wpływ na adaptacyjną odpowiedź odpornościową [44,46].

Pierwsze doniesienia opisujące działanie IL-10 wskazywały na jej wpływ na obniżenie wytwarzania IL-2, IFN- γ oraz TNF- α przez mysie komórki Th1 [19]. Kolejne badania wykazały, że w przypadku ludzkich komórek Th1, IL-10 nie tylko hamuje wydzielanie IL-2 i IFN- γ [14,15], ale również ich proliferację [73]. Cytokina ta hamuje odpowiedź ludzkich limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ na antygeny allogeniczne w warunkach *in vitro* [9,23]. Ze względu na fizjologiczną rolę IL-10 w hamowaniu odpowiedzi komórkowej i promowaniu powstawania humoralnej odpowiedzi odpornościowej, nie dziwi, że IL-10 często jest nazywana cytokiną typu Th2.

Obecność swojego receptora na powierzchni limfocytów Th17 umożliwia bezpośrednie oddziaływanie IL-10 na te komórki prowadzące do obniżenia ich aktywności i tempa proliferacji.

Coraz więcej informacji dotyczących działania IL-10 wskazuje, że ma ona nie tylko właściwości immunosupresyjne, lecz także immunostymulujące. Kang i wsp. zaobserwowali, że limfocyty T CD8⁺ charakteryzowały się dłuższą przeżywalnością w hodowli w obecności IL-10, niż komórki niestymulowane [33]. Jednak wynik ten mógł wynikać ze zmniejszenia tempa proliferacji stymulowanych komórek. Zróżnicowane działanie tej cytokiny

na limfocyty T CD8⁺ mogło być spowodowane obecnością innych cytokin w środowisku [33].

Wykazano, że dożylne podanie rekombinowanej IL-10 zdrowym ochotnikom, godzinę po iniekcji LPS spowodowało zwiększenie uwalniania IFN- γ lub IP-10 (interferon inducible protein) oraz monokin indukowanych przez IFN- γ podczas indukowanej endotoksemii. Dodatkowo zaobserwowano silną aktywację limfocytów CTL i komórek NK, czemu towarzyszyło zwiększenie stężenia granzymu B w osoczu [38].

Mimo że IL-10 wpływa niekorzystnie na wytwarzanie IFN- γ oraz TNF- α przez komórki NK w warunkach *in vitro* [47], niektórzy autorzy sugerują, że stymuluje ona aktywność cytotoksyczną tych komórek. Efekt ten został zaobserwowany zarówno w badaniach *in vitro*, jak i w modelach przedklinicznych [44]. Komórki NK pośredniczą w cytolizie komórek docelowych, zapewniając źródło antygenów [55], białek chemotaktycznych [40] oraz sygnałów niebezpieczeństwa [20] dla DC, co ostatecznie może zainicjować proces dojrzewania tych komórek. Powyższe obserwacje potwierdzają hipotezę, że w pierwszych etapach odpowiedzi odpornościowej IL-10 może indukować liżę nieprawidłowych komórek przez stymulowanie mechanizmów odpowiedzi wrodzonej, co z kolei prowadzi do korzystnego wpływu na kształtowanie nabytej odpowiedzi odpornościowej.

W przeciwieństwie do działania IL-10 na komórki dendrytyczne, obecność tej cytokiny w otoczeniu zwiększa ekspresję antygenów zgodności tkankowej na limfocytach B. IL-10 ma też duży wpływ na proliferację, przeżycie i różnicowanie ludzkich limfocytów B [4], co jest związane ze wzrostem ekspresji białek antyapoptotycznych Bcl-2 [41]. IL-10 jest też silnym kofaktorem proliferacji limfocytów B [65], albowiem indukowana przez nią nadekspresja receptora IL-2 uwrażliwia limfocyty B, na działanie IL-2, tym samym powoduje zwiększenie tempa proliferacji tych komórek. Na różnicowanie komórek B oraz ich zmiany fenotypowe, warunkujące profil wytwarzanych przeciwciał (isotype switching) ma wpływ zarówno endogenna, jak i egzogenna IL-10 [8,43]. Długoterminowa hodowla limfocytów B w obecności IL-10 jednocześnie stymulowanych przeciwciałami anti-CD40 lub hodowanych wraz z folikularnymi DC powoduje przekształcenie się limfocytów B do komórek plazmatycznych [2]. W badaniach klinicznych wykazano, że u chorych cierpiących na niedobór IgA i zespół hiper-IgM sprzężony z chromosomem X, IL-10 może indukować wytwarzanie odpowiednio IgG i IgA przez limfocyty B [6].

Przytoczone wyżej przykłady zróżnicowanego działania IL-10 na komórki odpornościowe, potwierdzają udział tej cytokiny w kształtowaniu ogólnoustrojowej odpowiedzi odpornościowej. Jednak IL-10 wpływa nie tylko na ogólną odpowiedź odpornościową, pełni również znaczącą rolę w regulowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej.

IMMUNOMODULUJĄCE DZIAŁANIE IL-10 W ŚRODOWISKU NOWOTWORU

Rola IL-10 w modulowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej jest zagadnieniem coraz częściej poruszonym przez badaczy. Wspomniano już, że niektóre komórki nowotworowe mogą ją wytwarzać samoistnie lub w ściśle określonych warunkach używając jej jako czynnika immunosupresyjnego umożliwiającego im ucieczkę spod nadzoru immunologicznego (ryc. 4). Komórki układu odpornościowego są więc narażone na wyższe stężenie tej cytokiny w środowisku nowotworowym.

Jednym z zasadniczych aspektów działania IL-10 jest jej negatywny wpływ na funkcjonalność DC, co w przypadku rozwijającego się nowotworu utrudnia prawidłową prezentację antygenów związanych z nowotworem (TAA). Tym samym negatywnie oddziałuje na aktywację limfocytów T CD4⁺ oraz limfocytów T CD8⁺, jednak także prowadzi do różnicowania się limfocytów T regulatorowych [78]. Limfocyty T CD8⁺ hodowane z DC uprzednio stymulowanymi IL-10 mogą ulegać anergii na antygeny związane z nowotworem, uniemożliwiając im liżę komórek nowotworowych [70]. Podobne działanie zaobserwowano w przypadku ludzkiego raka płaskonabłonkowego i podstawnokomórkowego, gdzie IL-10 wytwarzana przez komórki nowotworowe utrudnia liżę komórek docelowych przez limfocyty napływające do tkanki nowotworowej [35]. W warunkach *in vitro* IL-10 hamuje transport białek oraz obniża ekspresję cząsteczek MHC klasy I na komórkach mysiej białaczki YAC-1, co uniemożliwia komórkom T CD8⁺ rozpoznanie epitopów TAA, lecz wspomaga aktywność komórek NK [58]. IL-10 wpływa częściowo na stymulowanie nadekspresji cyklooksygenazy 2 przez komórki nowotworowe, a w rezultacie - na zaburzenie mechanizmów nabytej odpowiedzi odpornościowej [71].

Immunosupresyjne działanie IL-10 w środowisku nowotworowym zostało wielokrotnie potwierdzone i stosunkowo dobrze poznane. Jednak pojawia się coraz więcej doniesień o immunostymulującej aktywności tej cytokiny, potwierdzonych w badaniach przedklinicznych.

Ze względu na udział IL-10 zarówno w odpowiedzi wrodzonej, jak i adaptacyjnej, cytokina ta może hamować lub wzmacniać reakcję odpornościową w zależności od warunków środowiska. Wykazano, że podanie IL-10 przed zastosowaniem szczepionek przeciwnowotworowych powoduje zahamowanie reakcji układu odpornościowego i progresji nowotworu, w wyniku negatywnego wpływu IL-10 na prezentację antygenów przez DC. Zastosowanie IL-10 natomiast bezpośrednio po immunizacji znacznie zwiększa odporność przeciwnowotworową i skuteczność szczepionek. Co więcej, liczba CTL antygenowoswoistych jest większa u zwierząt leczonych szczepionkami i IL-10, niż po podaniu samych szczepionek przeciwnowotworowych. Zatem w środowisku nowotworowym IL-10 wpływa korzystnie na aktywność limfocytów T cytotoksycznych, bez potrzeby stałego utrzymywania odpowiedniego poziomu TAA, a także

zwiększa dostępność TAA, przez stymulowanie komórek NK pośredniczących w cytolicie komórek nowotworowych. Dane te wskazują na duże znaczenie IL-10 jako adiuwantu immunologicznego zarówno w mechanizmach wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi odpornościowej [44].

Kolejną populacją komórek napływających do tkanki nowotworowej są makrofagi. Komórki te mogą wytwarzać reaktywne formy tlenu (ROS), a tym samym hamować aktywność komórek NK [37]. Inne cząsteczki wytwarzane przez te komórki to przede wszystkim tlenek azotu (NO) i prostaglandyny (np. PGE2) [79], biorące udział w hamowaniu zarówno wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi odpornościowej, co sprzyja ucieczce nowotworu spod nadzoru immunologicznego. Wytwarzanie ROS, NO i PGE2 przez makrofagi napływające do tkanki guza może zostać ograniczona przez działanie IL-10. Obserwacje te są kolejnym przykładem potwierdzającym immunostymulujący wpływ IL-10 na powstawanie odpowiedzi przeciwnowotworowej w modelach mysich [44].

Podsumowując, we wczesnych etapach odpowiedzi przeciwnowotworowej, IL-10 wytwarzana przez komórki układu odpornościowego napływające do tkanki nowotworowej może wspomagać aktywność komórek prezentujących antygen przez zwiększenie aktywności cytotoksycznej komórek NK i CTL, natomiast w późniejszym etapie odpowiedzi odpornościowej cytokina ta hamuje aktywację niedojrzałych komórek DC, a tym samym aktywację limfocytów T.

WYKORZYSTANIE IMMUNOMODULUJĄCYCH WŁAŚCIWOŚCI IL-10 W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

Coraz częściej rozważane jest wykorzystanie udziału IL-10 w odpowiedzi przeciwnowotworowej. W terapiach eksperymentalnych istnieją dwa odmienne podejścia związane z tym zagadnieniem. W pierwszym z nich IL-10 pełni rolę czynnika terapeutycznego, zaś w drugim - stosuje się czynniki blokujące aktywność tej cytokiny, takie jak przeciwciała anti-IL-10 lub anti-IL-10R lub siRNA wyciszający ekspresję mRNA IL-10 [45] (tabela 2).

Mumm i wsp. przeprowadzili badania mające na celu ustalenie wpływu IL-10 na funkcjonowanie układu odpornościowego w odpowiedzi na rozwój nowotworu. Wykorzystano trzy typy myszy: typu dzikiego, z wyciszoną ekspresją IL-10 oraz z nadekspresją IL-10 w komórkach prezentujących antygen. U myszy indukowano chemicznie raka skóry, a kinetyka jego rozwoju, a także przeżywalność zależały od typu myszy. U myszy typu dzikiego oraz z nokautem IL-10 nowotwór rozwijał się równie często, natomiast u myszy z nadekspresją IL-10 w bardzo niewielu przypadkach. Co więcej, mimo obecności dużej ilości cytokiny u myszy z jej nadekspresją obserwowano wysoki poziom ekspresji IFN- γ , a także dużą liczbę limfocytów CD8⁺ infiltrujących nowotwór, a także wysoki poziom ekspresji MHC klasy I w porównaniu do wyników uzyskanych dla

Tabela 2. Przykłady eksperymentalnej terapii przeciwnowotworowej uwzględniającej immunomodulujące właściwości IL-10

Model doświadczalny	Zastosowana terapia	Wynik terapii	Piśmiennictwo
A. Wykorzystanie właściwości immunostymulujących IL-10			
Chemicznie indukowany rak skóry	podanie PEG-IL-10	zahamowanie wzrostu guza, ↑ liczby limfocytów T CD8 ⁺ napływających tkankę nowotworową, ↑ odsetka komórek Th1 wytwarzających IFN-γ, ↑ poziomu ekspresji cząsteczek MHC I i CD44 na komórkach nowotworowych	[50]
Mysi rak okrężnicy CT26	podanie transdukowanych komórek nowotworowych CT26-IL-10	zahamowanie wzrostu guza, udział limfocytów T CD4 ⁺ i CD8 ⁺ w powstawaniu odpowiedzi odpornościowej, ↑ produkcji IL-4 przez splenocyty, ↑ poziomu ekspresji cząsteczek MHC I i CD44 na komórkach CT26-IL-10	[1]
Mysi czerniak B16	podanie transfekowanych komórek nowotworowych B16-IL-10	↓ tumorogenności ↑ immunogenności powstanie odpowiedzi odpornościowej	[21]
B. Neutralizacja immunosupresyjnych właściwości IL-10			
Mysi szpiczak mnogi	2-krotne podanie przeciwciał anty-IL-10, niskie dawki melfalanu (L-PAM)	↑ przeżywalności myszy obciążonych nowotworem, ↑ aktywności cytotoksycznej komórek TIL pobranych z węzłów chłonnych	[31]
Mysi czerniak	immunizacja myszy DC/gp100, 3-krotne podanie przeciwciał anty-mIL-10	zahamowanie wzrostu guza	[32]
Mysi rak okrężnicy CT26	podanie przeciwciał anty-IL-10R, podanie CpG ODN	odrzućenie nowotworu ↑ wytwarzanie IL-12 przez DC naciekające tkankę guza, indukowanie pamięci immunologicznej	[76]

myszy typu dzikiego oraz z nokautem IL-10. W związku z otrzymanymi wynikami, badania zostały uzupełnione o określenie wpływu egzogennej IL-10 na wzrost nowotworu. Myszom z zaawansowanym nowotworem piersi podawano IL-10, którą skoniugowano z cząsteczkami PEG w celu wydłużenia czasu półtrwania białka *in vivo*. U myszy traktowanych PEG-IL-10 obserwowano zahamowanie wzrostu, a w niektórych przypadkach nawet odrzucenie guzów. Dodatkowo, w badanej grupie myszy odnotowano zwiększoną liczbę limfocytów CD8⁺ infiltrujących tkankę nowotworową, a także podwyższony odsetek komórek Th1 zdolnych do wydzielania IFN-γ. Podanie myszom PEG-IL-10 wpłynęło także na podwyższenie poziomu ekspresji cząsteczek MHC klasy I w komórkach guza nowotworowego [50].

W oparciu o właściwości immunostymulujące IL-10, Adris i wsp. zbadali wpływ transdukcji komórek mysiego raka okrężnicy CT26-IL-10 na wzrost nowotworu. Badania histologiczne ujawniły, że w pierwszych 3-5 dniach pojawiły się drobne guzy nowotworowe, które następnie przestały rosnąć. Ostatecznie stwierdzono, że podanie komórek CT26 z nadekspresją IL-10 wywołało powstanie ogólnoustrojowej odpowiedzi

przeciwnowotworowej, angażującej zarówno limfocyty T CD4⁺, jak i CD8⁺. Komórki CT26-IL-10 wykazywały zwiększoną ekspresję cząsteczek MHC klasy I oraz CD44, natomiast splenocyty pobrane od myszy traktowanych charakteryzowały się wyższą produkcją IL-4, co wskazywało na ukierunkowanie odpowiedzi immunologicznej w kierunku Th2 [1].

Podobne obserwacje zanotowali także inni badacze. Transfekcja IL-10 komórek nowotworowych mysiego raka sutka [22], chemicznego raka jajnika [64], a także mysiego czerniaka B16 [21] wywołała utratę tumorogenności, czemu towarzyszyła zwiększona immunogenność oraz powstanie trwałej pamięci immunologicznej.

Natomiast Jonasevic i wsp. przeprowadzili badania opierające się na immunosupresyjnych właściwościach IL-10, w których zastosowano przeciwciała anty-mIL-10 w celu podwyższenia skuteczności terapii. W leczeniu myszy z rozwijającym się szpiczakiem mnogim zastosowano małą dawkę melfalanu (L-PAM), a terapię dodatkowo uzupełniono o dwukrotne podanie przeciwciał anty-mIL-10. Przeprowadzona terapia spowodowała istotne zwiększenie przeżywalności myszy obciążonych

szpiczakiem mnogim, w porównaniu do grupy myszy, które otrzymały tylko cytostatyki. Wykazano także podwyższoną aktywność cytotoksyczną komórek TIL izolowanych z węzłów chłonnych myszy traktowanych melfalanem i przeciwciałami anty-mIL-10 [31].

Badania nad wpływem przeciwciał neutralizujących IL-10 na rozwój nowotworu przeprowadzili także Kalli i wsp. Podczas eksperymentu, przed podaniem komórek czerniaka, myszy immunizowano za pomocą komórek dendrytycznych stymulowanych antygenem gp100. W terapii rozpoczętej we wczesnym stadium nowotworu wykorzystano przeciwciała anty-mIL-10, które podawano trzykrotnie w odstępach tygodniowych. Taka terapia poprzedzona immunizacją myszy skutkowałą całkowitym zahamowaniem wzrostu guza [32].

Jak już wcześniej wspomniano, inną strategią zniesienia immunosupresyjnego działania IL-10 może być zablokowanie receptorów IL-10 obecnych na powierzchni komórek. W badaniach przeprowadzonych na myszach BALB/c obarczonych nowotworem CT26 przez Vicarię i wsp. dootrzewnowe podawanie przeciwciał anty-IL-10R w połączeniu z okołoguzowym podawaniem CpG ODN (agonisty receptora TLR9) powodowało m.in. mniejszą zapadalność myszy na nowotwór. Dodatkowo wykazano wpływ CpG i przeciwciał anty-IL-10R na zwiększenie wytwarzania IL-12 przez komórki dendrytyczne naciekające tkankę guza. Zastosowanie tej terapii u myszy obarczonych nowotworem CT26 wpłynęło nie tylko na odrzucanie nowotworu, lecz także na indukowanie pamięci immunologicznej. U myszy, u których nie rozwinął się nowotwór po pierwszym wszczepieniu komórek CT26, guzy nie pojawiły się również po ponownym podaniu komórek nowotworowych. Najlepszy wynik

odnotowano w grupie myszy otrzymujących zarówno przeciwciała anty-IL-10, jak i CpG, w porównaniu do grup myszy traktowanych tylko jednym ze składników terapii [76].

Wyniki powyższych badań sugerują, że rola IL-10 w terapii przeciwnowotworowej jest zależna od rodzaju zwalczanego nowotworu, a także od rodzaju zastosowanej terapii. Interleukina 10 może stymulować odpowiedź przeciwnowotworową lub wręcz przeciwnie, zmniejszenie stężenia tej cytokiny w organizmie może wspomagać proces leczenia.

PODSUMOWANIE

Pleiotropowy charakter IL-10 jest powodem kontrowersji dotyczących roli tej cytokiny w kontrolowaniu wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej, gdzie może ona odgrywać odmienne funkcje. Ten dualizm funkcjonalny jest szczególnie istotny w regulacji wzrostu nowotworu. IL-10 może być ważnym czynnikiem wzrostu dla komórek nowotworowych, jednak może też modulować mikrośrodowisko guza przez indukcję tolerancji w komórkach nowotworowych. Dane literaturowe opisujące udział IL-10 w odpowiedzi przeciwnowotworowej odzwierciedlają podwójną rolę tej cytokiny. Tak więc, szeroki zakres działania IL-10, a przede wszystkim jej właściwości immunosupresyjne i immunostymulujące wobec komórek układu odpornościowego i komórek nowotworowych, mogą mieć istotny wpływ na modulowanie odpowiedzi odpornościowej. Szczegółowe poznanie warunków sprzyjających generowaniu jednego ze sposobów działania IL-10 pozwoliłoby na świadome wykorzystanie tej cytokiny w zwalczaniu choroby nowotworowej.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adris S., Klein S., Jasnias M., Chuluyan E., Ledda M., Bravo A., Carbone C., Chernajovsky Y., Podhajcer O.: IL-10 expression by CT26 colon carcinoma cells inhibits their malignant phenotype and induces a T cell-mediated tumor rejection in the context of a systemic Th2 response. *Gene Ther.*, 1999; 6: 1705-1712
- [2] Agematsu K., Nagumo H., Oguchi Y., Nakazawa T., Fukushima K., Yasui K., Ito S., Kobata T., Morimoto C., Komiyama A.: Generation of plasma cells from peripheral blood memory B cells: synergistic effect of interleukin-10 and CD27/CD70 interaction. *Blood*, 1998; 91: 173-180
- [3] Asadullah K., Sterry W., Volk H.: Interleukin-10 therapy - review of a new approach. *Pharmacol. Rev.*, 2003; 55: 241-269
- [4] Beebe A., Cua D., De Waal Malefyt R.: The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS). *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2002; 13: 403-412
- [5] Boonstra A., Rajsbaum R., Holman M., Marques R., Asselin-Paturoel C., Pereira J., Bates E.E. M., Akira S., Vieira P., Liu Y., Trinchieri G., O'Garra A.: Macrophages and myeloid dendritic cells, but not plasmacytoid dendritic cells, produce IL-10 in response to MyD88- and TRIF-dependent TLR signals, and TLR-independent signals. *J. Immunol.*, 2006; 177: 7551-7558
- [6] Briere F., Bridon J., Chevet D., Souillet G., Bienvenu F., Guret C., Martinez-Valdez H., Banchereau J.: Interleukin 10 induces B lymphocytes from IgA-deficient patients to secrete IgA. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 97-104
- [7] Buelens C., Willems F., Delvaux A., Pierard G., Delville J., Velu T., Goldman M.: Interleukin-10 differentially regulates B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) expression on human peripheral blood dendritic cells. *Eur. J. Immunol.*, 1995; 25: 2668-2672
- [8] Burdin N., Van Kooten C., Galibert L., Abrams J., Wijdenes J., Banchereau J., Rousset F.: Endogenous IL-6 and IL-10 contribute to the differentiation of CD40-activated human B lymphocytes. *J. Immunol.*, 1995; 154: 2533-2544
- [9] Caux C., Massacrier C., Vanbervliet B., Barthelemy C., Liu Y.J., Banchereau J.: Interleukin 10 inhibits T cell alloreaction induced by human dendritic cells. *Int. Immunol.*, 1994; 6: 1177-1185
- [10] Chang D.M., Chu S.J., Chen H.C., Kuo S.Y., Lai J.H.: Dehydroepiandrosterone suppresses interleukin 10 synthesis in women with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004; 63: 1623-1626
- [11] Chatelain R., Wollenberg A., Martin C., Panhans-Gross A., Bieber T., Degitz K., Heckmann M.: IL-10 inhibits ICAM-1 expression on hu-

- man Langerhans cells but not on keratinocytes, dermal endothelial cells or fibroblasts. *Arch. Dermatol. Res.*, 1998; 290: 477-482
- [12] Commins S., Steinke J., Borish L.: The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 121: 1108-1111
- [13] Corinti S., Albanesi C., La Sala A., Pastore S., Girolomoni G.: Regulatory activity of autocrine IL-10 on dendritic cell functions. *J. Immunol.*, 2001; 166: 4312-4318
- [14] De Waal Malefyt R., Figdor C., Huijbens R., Mohan-Peterson S., Bennett B., Culppepper J., Dang W., Zurawski G., De Vries J.: Effects of IL-13 on phenotype, cytokine production, and cytotoxic function of human monocytes. Comparison with IL-4 and modulation by IFN- γ or IL-10. *J. Immunol.*, 1993; 151: 6370-6381
- [15] Del Prete G., De Carli M., Almerigogna F., Giudizi M., Biagiotti R., Romagnani S.: Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J. Immunol.*, 1993; 150: 353-360
- [16] Demangel C., Bertolino P., Britton W.J.: Autocrine IL-10 impairs dendritic cell (DC)-derived immune responses to mycobacterial infection by suppressing DC trafficking to draining lymph nodes and local IL-12 production. *Eur. J. Immunol.*, 2002; 32: 994-1002
- [17] Donnelly R., Dickensheets H., Finbloom D.: The interleukin-10 signal transduction pathway and regulation of gene expression in mononuclear phagocytes. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1999; 19: 563-573
- [18] Dummer W., Becker J., Schwaaf A., Leverkus M., Moll T., Brocker E.: Elevated serum levels of interleukin-10 in patients with metastatic malignant melanoma. *Melanoma Res.*, 1995; 5: 67-68
- [19] Fiorentino D., Bond M., Mosmann T.: Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J. Exp. Med.*, 1989; 170: 2081-2095
- [20] Gallucci S., Matzinger P.: Danger signals: SOS to the immune system. *Curr. Opin. Immunol.*, 2001; 13: 114-119
- [21] Gerard C., Bruyns C., Delvaux A., Baudson N., Dargent J., Goldman M., Velu T.: Loss of tumorigenicity and increased immunogenicity induced by interleukin-10 gene transfer in B16 melanoma cells. *Hum. Gene Ther.*, 1996; 7: 23-31
- [22] Giovarelli M., Musiani P., Modesti A., Dellabona P., Casorati G., Allione A., Consalvo M., Cavallo F., Di Pierro F., De Giovanni C.: Local release of IL-10 by transfected mouse mammary adenocarcinoma cells does not suppress but enhances antitumor reaction and elicits a strong cytotoxic lymphocyte and antibody-dependent immune memory. *J. Immunol.*, 1995; 155: 3112-3123
- [23] Groux H., O'Garra A., Bigler M., Antonenko S.E., De Vries J., Roncarolo M.: A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature*, 1997; 389: 737-742
- [24] Guney N., Soydu H., Basaran M., Bavbek S., Derin D., Camlica H., Yasasever V., Topuz E.: Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 in Turkish patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2009; 10: 669-674
- [25] He C., Qiao H., Jiang H., Sun X.: The inhibitory role of B7-H4 in antitumor immunity: association with cancer progression and survival. *Clin. Dev. Immunol.*, 2011; 2011: 695834
- [26] Herbeuval J., Lelievre E., Lambert C., Dy M., Genin C.: Recruitment of STAT3 for production of IL-10 by colon carcinoma cells induced by macrophage-derived IL-6. *J. Immunol.*, 2004; 172: 4630-4636
- [27] Hirota K., Martin B., Veldhoen M.: Development, regulation and functional capacities of Th17 cells. *Semin. Immunopathol.*, 2010; 32: 3-16
- [28] Huang M., Wang J., Lee P., Sharma S., Mao J., Meissner H., Uyemura K., Modlin R., Wollman J., Dubinett S.: Human non-small cell lung cancer cells express a type 2 cytokine pattern. *Cancer Res.*, 1995; 55: 3847-3853
- [29] Iezzi G., Sonderegger I., Ampenberger F., Schmitz N.J., Marsland B., Kopf M.: CD40-CD40L cross-talk integrates strong antigenic signals and microbial stimuli to induce development of IL-17-producing CD4. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 876-881
- [30] Josephson K., Logsdon N., Walter M.: Crystal structure of the IL-10/IL-10R1 complex reveals a shared receptor binding site. *Immunity*, 2001; 15: 35-46
- [31] Jovasevic V., Gorelik L., Bluestone J., Mokyr M.: Importance of IL-10 for CTLA-4-mediated inhibition of tumor-eradicating immunity. *J. Immunol.*, 2004; 172: 1449-1454
- [32] Kalli F., Machiorlatti R., Battaglia F., Parodi A., Conteduca G., Ferrera F., Proietti M., Tardito S., Sanguineti M., Millo E., Fenoglio D., De Palma R., Inghirami G., Filaci G.: Comparative analysis of cancer vaccine settings for the selection of an effective protocol in mice. *J. Transl. Med.*, 2013; 11: 120
- [33] Kang K., Im S.: Differential regulation of the IL-10 gene in Th1 and Th2 T cells. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2005; 1050: 97-107
- [34] Kawai T., Akira S.: The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 373-384
- [35] Kim J., Modlin R., Moy R., Dubinett S., Mchugh T., Nickoloff B., Uyemura K.: IL-10 production in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. A mechanism for evading the local T cell immune response. *J. Immunol.*, 1995; 155: 2240-2247
- [36] Koch N., Stanzl U., Jennewein P., Janke K., Heufler C., Kampgen E., Romani N., Schuler G.: High level IL-12 production by murine dendritic cells: upregulation via MHC class II and CD40 molecules and downregulation by IL-4 and IL-10. *J. Exp. Med.*, 1996; 184: 741-746
- [37] Kono K., Salazar-Onfray F., Petersson M., Hansson J., Masucci G., Wasserman K., Nakazawa T., Anderson P., Kiessling R.: Hydrogen peroxide secreted by tumor-derived macrophages down-modulates signal-transducing zeta molecules and inhibits tumor-specific T cell- and natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Eur. J. Immunol.*, 1996; 26: 1308-1313
- [38] Lauw F., Pajkrt D., Hack C., Kurimoto M., Van Deventer S., Van Der Poll T.: Proinflammatory effects of IL-10 during human endotoxemia. *J. Immunol.*, 2000; 165: 2783-2789
- [39] Lawrence T., Willoughby D., Gilroy D.: Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002; 2: 787-795
- [40] Le Y., Murphy P., Wang J.: Formyl-peptide receptors revisited. *Trends Immunol.*, 2002; 23: 541-548
- [41] Levy Y., Brouet J.: Interleukin-10 prevents spontaneous death of germinal center B cells by induction of the bcl-2 protein. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 424-428
- [42] Mahipal A., Terai M., Berd D., Chervoneva I., Patel K., Mastrangelo M., Sato T.: Tumor-derived interleukin-10 as a prognostic factor in stage III patients undergoing adjuvant treatment with an autologous melanoma cell vaccine. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2011; 60: 1039-1045
- [43] Malisan F., Briere F., Bridon J.M., Harindranath N., Mills F.C., Max E.E., Banchereau J., Martinez-Valdez H.: Interleukin-10 induces immunoglobulin G isotype switch recombination in human CD40-activated naïve B lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 1996; 183: 937-947
- [44] Mocellin S., Marincola F., Riccardo Rossi C., Nitti D., Lise M.: The multifaceted relationship between IL-10 and adaptive immunity: putting together the pieces of a puzzle. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2004; 15: 61-76
- [45] Mocellin S., Marincola F., Young H.A.: Interleukin-10 and the immune response against cancer: a counterpoint. *J. Leukoc. Biol.*, 2005; 78: 1043-1051
- [46] Mocellin S., Panelli M., Wang E., Nagorsen D., Marincola F.: The dual role of IL-10. *Trends Immunol.*, 2003; 24: 36-43

- [47] Moore K., De Waal Malefyt R., Coffman R., O'Garra A.: Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu. Rev. Immunol.*, 2001; 19: 683-765
- [48] Morel A., Quarantino S., Douek D., Londei M.: Split activity of interleukin-10 on antigen capture and antigen presentation by human dendritic cells: definition of a maturative step. *Eur. J. Immunol.*, 1997; 27: 26-34
- [49] Mosser D.M., Zhang X.: Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol. Rev.*, 2008; 226: 205-218
- [50] Mumm J. B., Emmerich J., Zhang X., Chan I., Wu L., Mauze S., Blaisdell S., Basham B., Dai J., Grein J., Sheppard C., Hong K., Cutler C., Turner S., LaFace D. et al.: IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance. *Cancer Cell*, 2011; 20: 781-796
- [51] Murray P.J.: The JAK-STAT Signaling Pathway: Input and Output Integration. *J. Immunol.*, 2007; 178: 2623-2629
- [52] Nacinovic-Duletic A., Stifter S., Dvornik S., Skunca Z., Jonjic N.: Correlation of serum IL-6, IL-8 and IL-10 levels with clinicopathological features and prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Inter. J. Lab. Hematol.*, 2008; 30: 230-239
- [53] Ng T., Britton G., Hill E., Verhagen J., Burton B., Wraith D.: Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10. *Front. Immunol.*, 2013; 4: 129
- [54] O'Shea J.J., Paul W.E.: Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4⁺ T cells. *Science*, 2010; 327: 1098-1102
- [55] Ochsenbein A., Sierro S., Odermatt B., Pericin M., Karrer U., Hermans J., Hemmi S., Hengartner H., Zinkernagel R.: Roles of tumour localization, second signals and cross priming in cytotoxic T-cell induction. *Nature*, 2001; 411: 1058-1064
- [56] O'Garra A., Vieira P.: TH1 cells control themselves by producing interleukin-10. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007; 7: 425-428
- [57] Oliveira-Nascimento L., Massari P., Wetzler L.M.: The role of TLR2 in infection and immunity. *Front. Immunol.*, 2012; 3: 79
- [58] Petersson M., Charo J., Salazar-Onfray F., Noffz G., Mohaupt M., Qin Z., Klein G., Blankenstein T., Kiessling R.: Constitutive IL-10 production accounts for the high NK sensitivity, low MHC class I expression, and poor transporter associated with antigen processing (TAP)-1/2 function in the prototype NK target YAC-1. *J. Immunol.*, 1998; 161: 2099-2105
- [59] Pisa P., Halapi E., Pisa E., Gerdin E., Hising C., Bucht A., Gerdin B., Kiessling R.: Selective expression of interleukin 10, interferon γ , and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in ovarian cancer biopsies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 7708-7712
- [60] Pletnev S., Magracheva E., Wlodawer A., Zdanov A.: A model of the ternary complex of interleukin-10 with its soluble receptors. *BMC Struct. Biol.*, 2005; 5: 10
- [61] Pot C., Jin H., Awasthi A., Liu S., Lai C., Madan R., Sharpe A., Karp C., Miaw S., Ho I., Kuchroo V.K.: Cutting edge: IL-27 induces the transcription factor c-Maf, cytokine IL-21, and the costimulatory receptor ICOS that coordinately act together to promote differentiation of IL-10-producing Tr1 cells. *J. Immunol.*, 2009; 183: 797-801
- [62] Reich N., Liu L.: Tracking STAT nuclear traffic. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 602-612
- [63] Reis e Sousa C.: Dendritic cells in a mature age. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006; 6: 476-483
- [64] Richter G., Kruger-Krasagakes S., Hein G., Huls C., Schmitt E., Diamantstein T., Blankenstein T.: Interleukin 10 transfected into Chinese hamster ovary cells prevents tumor growth and macrophage infiltration. *Cancer Res.*, 1993; 53: 4134-4137
- [65] Rousset F., Garcia E., Defrance T., Peronne C., Vezzio N., Hsu D., Kastelein R., Moore K., Banchereau J.: Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 1890-1893
- [66] Saraiva M., O'garra A.: The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010; 10: 170-181
- [67] Sato T., Terai M., Tamura Y., Alexeev V., Mastrangelo M., Selvan S.: Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anti-cancer immunotherapy. *Immunol. Res.*, 2011; 51: 170-182
- [68] Shoemaker J., Saraiva M., O'Garra A.: GATA-3 directly remodels the IL-10 locus independently of IL-4 in CD4⁺ T cells. *J. Immunol.*, 2006; 176: 3470-3479
- [69] Sing A., Roggenkamp A., Geiger A., Heesemann J.: *Yersinia enterocolitica* evasion of the host innate immune response by V antigen-induced IL-10 production of macrophages is abrogated in IL-10-deficient mice. *J. Immunol.*, 2002; 168: 1315-1321
- [70] Steinbrink K., Jonuleit H., Muller G., Schuler G., Knop J., Enk A.H.: Interleukin-10-treated human dendritic cells induce a melanoma-antigen-specific anergy in CD8⁺ T cells resulting in a failure to lyse tumor cells. *Blood*, 1999; 93: 1634-1642
- [71] Stolina M., Sharma S., Lin Y., Dohadwala M., Gardner B., Luo J., Zhu L., Kronenberg M., Miller P., Portanova J., Lee J.C., Dubinett S.M.: Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J. Immunol.*, 2000; 164: 361-370
- [72] Świst K., Pajtasz-Piasecka E.: Wpływ czynników transkrypcyjnych na różnicowanie limfocytów T CD4⁺. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 414-426
- [73] Taga K., Cherney B., Tosato G.: IL-10 inhibits apoptotic cell death in human T cells starved of IL-2. *Int. Immunol.*, 1993; 5: 1599-1608
- [74] Terai M., Eto M., Young G., Berd D., Mastrangelo M., Tamura Y., Harigaya K., Sato T.: Interleukin 6 mediates production of interleukin 10 in metastatic melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2012; 61: 145-155
- [75] Venetsanakos E., Beckman I., Bradley J., Skinner J.: High incidence of interleukin 10 mRNA but not interleukin 2 mRNA detected in human breast tumours. *Br. J. Cancer*, 1997; 75: 1826
- [76] Vicari A.P., Chiodoni C., Vaure C., It-Yahia S., Dercamp C., Matsos F., Reynard O., Taverne C., Merle P., Colombo M.P., O'Garra A., Trinchieri G., Caux C.: Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpG immunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody. *J. Exp. Med.*, 2002; 196: 541-549
- [77] Wilson C., Rowell E., Sekimata M.: Epigenetic control of T-helper-cell differentiation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 91-105
- [78] Wojas J., Pajtasz-Piasecka E.: Oddziaływanie komórek dendrytycznych z limfocytami T regulatorowymi. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 167-174
- [79] Yang L., Yamagata N., Yadav R., Brandon S., Courtney R.L., Morrow J.D., Shyr Y., Boothby M., Joyce S., Carbone D.P., Breyer R.M.: Cancer-associated immunodeficiency and dendritic cell abnormalities mediated by the prostaglandin EP2 receptor. *J. Clin. Invest.*, 2003; 111: 727-735
- [80] Yokosuka T., Takamatsu M., Kobayashi-Imanishi W., Hashimoto-Tane A., Azuma M., Saito T.: Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J. Exp. Med.*, 2012; 209: 1201-1217
- [81] Zhou L., Chong M., Littman D.: Plasticity of CD4⁺ T cell lineage differentiation. *Immunity*, 2009; 30: 646-655
- [82] Zhu J., Yamane H., Paul W.E.: Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu. Rev. Immunol.*, 2010; 28: 445-489

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.