

# KAŞEKTİN (TÜMÖR NEKROZ FAKTÖRÜ) I. YAPISI, BİYOSENTEZİ VE BİYOLOJİK ETKİLERİ

O. Şadi YENEN\*

## ÖZET

Son bir kaç yıldır, özellikleri yeni yeni belirlenmekte olan çok yönlü etkinliğe sahip Kaşektin (Tümör nekroz faktörü) isimli monokin büyük ilgi toplamaktadır. Bu yazıda onun bulunuş öyküsü, yapısı, biyosentezi ve hücreler ile dokular üzerinde biyolojik etkileri gözden geçirilmektedir.

## SUMMARY

Cachectin (Tumor Necrosis Factor)

I. Its structure, biosynthesis and biological effects

In recent years, particular interest has been focused on the newly characterized multipotent monokine: Cachectin (Tumor necrosis factor). This paper surveys its historical exploration, structure, biosynthesis and biological effects on cells and tissues.

## GİRİŞ

İster enfeksiyöz ister neoplastik olsun invaziv etkenlere karşı yanıtlar üzerindeki ya da enflamasyon ve bağışıklık konusundaki araştırmalar polipeptid mediyatörlerin önemini ortaya koymaktadır. Bağışıklık, uyku ve neoplazi gibi birbirinden çok farklı olaylarda merkezi roller üstlenmekte olup bu mediyatörlerin başlıca işlevi bir hücreden diğerine sinyaller aktarmaktadır. Başka maddelerle birlikte bunlar enflamasyon ve immünitinin moleküler dilini yapılandırmakta ve vücudun savunma tepkimeleri yöneten bir "karşılıklı etkileşen ve kimi kez etkileri çakışan sinyaller ağı" oluşturmaktadır. Büyüme faktörleri, diferansiyasyon faktörleri, interlökinler ya da sitokinler olarak da adlandırılan bu mediyatörler güçlü ve kimi koşullarda toksik proteinlerdir. Birbirlerinin etkilerini ortaya çıkarabilirler, inhibe edebilirler ya da arttırabilirler. Bunların başlıcaları Tablo-1 de sıralanmıştır.

İnvaziv hastalıklar, sıklıkla, konak bütünlüğünü tehlikeye sokacak şekilde glukoz, protein ve lipid metabolizmasında bozukluklara neden olabilmekte, organizma mada önemli derecede bir yıkıma (kaşeksi) ya da şokla yolaçabilmekte ve konağı ölüme götürmektedirler. İşte bu patolojik olayların araştırılması sırasında varlığı belirlenen Kaşektin ya da diğer adı ile Tümör Nekroz Faktörü, endotoksin şoku ile ka-

\* GATA, Haydarpaşa Eğitim Hast. İnfeksiyon Hastalıkları ABD, Doç. Dr.

şeksideki anahtar işlevi ve kimi tümörlerin nekrozuna neden olma gibi özellikleri nedeniyle son bir kaç yıldır üzerinde çok durulan ve klinik yarar gücü araştırılan bir polipeptid mediyatördür. Bu ve bunu izleyecek yazımız da bu mediyatörün moleküler yapısı, biyolojik etkinlikleri, klinik önemi ve gelecekte kendisinden bekleyebileceklerimiz üzerinde duracağız.

## KAŞEKTİN'in ÖYKÜSÜ

Bugün Kaşektin (= Tümör nekroz faktörü) diye adlandırdığımız immünopeptidin öykü sü iki ayrı konuda sürdürülen çalışmalardan kaynak olarak oluşmuştur. Bakteri enfeksiyonlarının ya da bakteri ürünlerinin kimi tümörlerin nekrozuna neden olduğunun ayırdına varılmasının yaklaşık yüz yıldır bir geçmişi vardır. (32, 52). Dr.W.Coley, (32) klasik çalışmasında, sarkomlu bir hastasında araya giren streptokok enfeksiyonunun tümörün hemorajik nekrozuna neden olduğu yollu gözlemi ni başlangıç noktası olarak ele almıştır.

1940'lı yılların başlarında bu fenomeni hayvan deneyleriyle araştıran Shear ve ark. (50, 57, 110, 111) bu etkinliğinin gerçekte *Serratia* türü bakterilere ait olduğunu gözlediler. *Serratia* kültür süzüntülerinden kimi fare tümörlerinin hemorajik nekrozuna neden olabilen polisakkarid bir faktör izole ettiler ki şimdi lerde gram negatif bakterilerin bu komponenti lipopolisakkarid (LPS) adı ile anılmaktadır. 1975 te ise Carswell ve ark. daha önce BCG gibi retikuloendotelial sistemde (RES) hiperplazi oluşturan maddelerle hazırlanmış ve sonra endotoksin (LPS) enjekte edilmiş farelerin serumda hücreler üzerine endotoksininkine eş et kileri olan bir faktör belirlediler ve buna "Tümör nekroz faktörü" (TNF) adı nı verdiler (27). Daha sonra TNF'nin monosit/makrofajlardan salındığı bulundu (73, 74, 75), farklı memeli türlerinde varolduğu gözlendi (75, 76, 132). İnsan TNF'si pürifiye edildi ve moleküler özellikleri belirlendi (5, 127).

Öte yandan, bir başka grup çalışmacı da bir çok kronik hastalıkta organizmada ortaya çıkan yıkımın (kaşeksi) temel mekanizmaları üzerinde çalışmalarını sürdürmekteydi. Rouzer ve ark. *Trypanosoma brucei* ile enfekte tavşanların ileri derecede düşük parazitemi ve ihmal edilebilecek denli önemsiz parankimal organ tutulmasına karşın derin bir kaşeksiye girdiklerini, hastalığın gidişi sırasında vücut ağırlıklarının % 50 sine yakının yitirdiklerini gözlediler (99). Enfeksiyonun son döneminde hayvanlar ileri derecede zayıf olmalarına karşın be ligin şekilde lipemiktiler; serumda artan lipidlerin en baskın katmanı trigli seridlerdi ki bu sistemik bir lipoprotein lipaz (LPL) enzim yetmezliğinin belir tisiydi. İzleyen çalışmalarda endotoksine duyarlı (C3H/HeN) farelere LPS veril mesiyle LPL etkinliğinin belirgin şekilde baskılandığı ancak bu olayın endotok sine dirençli (C3H/HeJ) farelerle yapılan deneylerde gerçekleşmediği saptandı. Bununla beraber LPS verilmiş C3H/HeN farelerden elde edilmiş bir serum faktörü nün C3H/HeJ farelere verilmesiyle bu ikinci gruptaki hayvanlarda da LPL etkinli ğinin baskılandığı gösterildi. Bu serum faktörüne kaşeksi patojenezindeki ola sı etkinliği nedeniyle "Cachectin" adı verildi (58). Sonraki çalışmalar kaşektin in LPS'ye (59) ve mikrop ya da parazit kökenli başka maddeler (53) karşı yanıt ta monosit/makrofajlar tarafından in vitro

olarak üretilebildiğini ortaya koydu. Daha sonra, makrofaj hücre dizilerinden elde edilen kaşektinin pürifiye edilme si başarılıydı (19). Fare kaşektinin N-terminal sekansının belirlenmesi insan TNF 'siyle arasındaki şaşırı benzerliğin ayırıcısına varılmasına, pürifiye kaşektinin L-929 hücre dizisi üzerine TNF benzeri sitolitik etkilerinin olduğunun sap tanmasına ve her ikisinin özdeş maddeler olabileceğinin ileri sürülmesine neden oldu (17). Sonunda kaşektinin klonlanması ve sekanslarının belirlenmesiyle ortak biyolojik etkinlikleri olan kaşektinve TNF'nin özdeş oldukları ortaya çıkarıldı (26, 42, 93).

Böylelikle iki ayrı olayın araştırılması, çalışmacıları, sonunda makrofajlardan salınan tek bir solubl faktöre götürmüştü: TNF/Kaşektin (TNF/C). Biyolojik etkinlik alanını daha geniş olarak içermesi nedeniyle kimi yazarlar "Cachestin" terimlerini "TNF"den daha uygun bulmakta ve önermektedirler (16).

Bu arada, makrofajların yanısıra lenfositlerin de çeşitli hücre tipleri üzerinde toksik olabileceği gösterilmiş ve lenfosit sitotoksitesinin, topluca "Len fotoksin (ler)" olarak isimlendirilen solubl mediyatör(ler)e bağlı olduğu sap tanmıştı (45). Kaşektinin yanısıra lenfotoksinin (LT) de pürifiye edilmesi, primer yapısının belirlenmesi ve CDNA sının izolasyonu ile E.coli'de ekspresse ettirilmesi bu iki mediyatör arasındaki ilişkileri ortaya çıkardı (4,6,46,94). İnsan genomundaki TNF/C geninin kodladığı proteinin LT ile yaklaşık % 30 oranında bir aminoasit homolojisi gösterdiği belirlendi. Bu iki farklı proteinin benzer ya da özdeş biyolojik etkinliklerinin saplanması üzerine Genetech firması araştırmacıları klasik, makrofaj kökenli TNF'yi TNF-alfa, yine lenfosit kökenli LT yi de TNF-beta olarak isimlendirdiler (81). Biz bu derlememiz boyunca kaşektin ya da TNF/C adlarını birbirinin yerine kullanacağız ve LT yi olduğu gibi bırakacağız.

## YAPISAL ÖZELLİKLER VE BİYOSENTEZ

Pürifiye insan kaşektini yaklaşık 17 kilodalton (17100) mol ağırlığında ve izoelektrik noktası (pI) 5.3 olan bir proteinidir (5). 157 aminoasitten ibaret bu moleküldeki 2 sistein artığı, olasılıkla, tek bir molekül için disülfid köprü süyle tutulmaktadır (5). Bu bağlama, sadece tek sistein artığı bulunan LT'de yoktur. Ancak bu iki sitokinin yapısal benzerliklerini koruduğu düşünülmektedir, çünkü, her ikisi de aynı reseptörlere bağlanmaktadır (3).

Bilindiği gibi bir sitokinin özgül hücre reseptörlerinde bağlanması onun hedef hücre üzerinde etkisini göstermesinin ilk aşamasıdır. İşte TNF/C reseptörlerinin varolabileceği de bir çok şaşırı gözleme dayanılarak ileri sürülmüş ve giderek reseptör varlığı kanıtlanmıştır. Örneğin, TNF/C'nin doğrudan sitoplazma ya da nükleus içerisinde mikroenjeksiyonları sitolize neden olmamıştır (83). Tümör hücrelerinin proteazlarla önışlemleri onların TNF/C ye duyarlılıklarında bir gecikmeye neden olmuştur (83). Hedef hücrelerin, hücre iskeletini hasarlandıran ajanlarla önışlemleri ise TNF/C ye yanıtı bozmuştur (65,83). Giderek TNF /C için çeşitli hücrelerin özgül reseptörler gösterilmeye başlanmıştır (3,12,20,51 ,66,109,123,128). TNF/C reseptörünün rölatif moleküler kütlesi 95000 olarak hesaplanmaktadır (82). Bu re-

septörler homojen ya da heterojen olabilirler (89) ve her hücrede 1000-10000 arasında bulunurlar. Hücre yüzeyinde bulunan TNF/C'ye özgül reseptörlerin sayısı gamma interferon etkisi ile artar (3). Reseptör sayısında artışa neden olan bir başka etken de lektinlerdir (Con-A, PHA) (7). Gamma interferonun etkisi, TNF/C'nin etkisini antagonize eden kimi proteinlerin sentezini baskılamak ve dolaylı olarak reseptör sayısını arttırmak şeklinde iken lektinler TNF/C reseptörlerinin hücre yüzeyindeki "turnover"ını azaltarak etki etmektedirler. Öte yandan, yine bu çalışmalar hücrelerin TNF/C sitotoksisi tesine duyarlı olmaları için bu reseptörlerin gerekli olmalarına karşın yeterli olmadıklarını ortaya çıkarmıştır. Sitotoksik etkiye dirençli hücreler üzerinde ki TNF/C reseptörlerinin kaşektinin aşağıda ele alınacak çeşitli biyolojik etki lerinin oluşmasında rol almaları olasıdır. Burada, TNF/C ye yüksek afinite gös teren reseptörlerin normal işlevli çeşitli dokularda (karaciğer, akciğer, böbrek, cilt ve yağ dokusu) saptandığını da belirtelim (20).

TNF/C nin en önemli hücre kaynağı aktive olmuş monosit/makrofajlardır. Çalışmalar bu hücrelerin ölçülebilir miktarlarda TNF/C üretebilmeleri için önceden "primed" ya da aktive edilmeleri ve daha sonra bir uyarıcı ile (örneğin LPS ile) karşılaşmalarını gereğini ortaya çıkarmıştır (81). Hayvan modellerinde etkin in vivo "priming" etkenler olarak BCG (27), Corynebacterium parvum (11), Brucella abortus (31) ve zymosan (84) ile gamma interferon (81,105) bildirilmiştir. Makrofaj/monositlerin yanında NK hücrelerde, IL-3'e bağımlı kemik iliği kökenli mast hücrelerinde ve Natürel sitotoksik hücrelerde de kaşektin bulunabildiği gösterilmiştir (88). Kaşektin üretiminin başlıca uyarıcısı gram negatif bakterilerin endotoksinidir (LPS) ve etkinliğin Lipid A parçasından kaynaklandığı sanılmaktadır (49). Diğer uyarıcılar olarak muramyne dipeptid (61), protozoerler ve bakterilere ait çeşitli ürünler (53,99), mitojenler ve viruslar (1) bildirilmiştir.

Hem TNF/C hem de LT genlerinin 6. kromozom kısa kolu üzerinde MHC kompleksi içerisinde yer aldıkları gösterilmiştir (116); LT geni daha yakın olmak üzere her iki gen HLA-B genine sentromer yönünde çok yakın olarak yer almaktadır (115).

Memeli türlerinde, TNF/C bir prohormon olarak üretilir ki bu biyolojik olarak inaktiftir. Bu prekürsör asıl ve etkin kaşektin molekülünden, onun N-terminali ne bağlı 76 aminoasitlik bir fazlalığa sahiptir. TNF/C hücreden salınmadan önce bu 76 artıklık presenkas uzaklaştırılır (94,127). Bu olayın işlevi bilinmemektedir.

Aktive olmuş makrofajlarda TNF/C biyosentezinde hem transkripsiyonel hem de posttranskripsiyonel aktivasyon varlığı gereklidir. Böylelikle üretim sıkı bir biçimde denetlenmektedir ve bu özellik, kaşektinin arzu edilmeyen (gerekli olmayan) salınım şansını en aza indirir (18, 102). Aktive olmamış (resting) insan monositlerinde ise TNF/C gen ekspresyonunun transkripsiyonel düzeyde denetlendiği belirlenmiştir (102). Bu açıdan, LPS ve gamma interferon kombinasyonunun monositlerde sitotoksik etkinlik oluşturma yetenekleri, kısmen, bu maddelerin TNF/C genini transkripsiyonel olarak aktive etme yeteneklerine bağlı olabilir (18,33). Kaşektin geni aktivasyonunun protein sentezi olmadan da ortaya çıkabileceği ve bu nedenle, burada, hücrede varolan kimi faktörlerin modifikasyonunun olaya katkı

ması gerektiği ileri sürülmüştür (102). Öte yandan, aktif, reseptöre bağlanan TNF/C nin stabilitesi oldukça za yf bir dimer halinde bulunduğu, 37 C ve 4 C de bu dimerlerin hızla ya polimeri ze olduğu ya da monomerlerine ayrıldığı ileri sürülmüşken (95) son araştırmalar , TNF/C nin aktif formunun bir timer olduğunu göstermektedir (67,113,130). Re kominan insan kaşektini solüsyonda bir trimer halindedir ve bu trimer nonkova lan bir etkileşimle birarada tutulmaktadır (67). Son olarak, TNF/C trimerinin 2.9 A rezolüzyonda X-ışını kristallografisi ile yapısı belirlenmiştir (56). Sub ünitlerden birinin ana zincir katlanımı viral kapsid proteinlerinin yapısal mo tifine benzerlik göstermektedir. Bu, ortak bir evrimsel prekürsör göstergesi olabilir. Öte yandan, yine bu çalışmayla TNF/C , IL-2 ve IL-1 beta'nın farklı yapısal motiflere sahip oldukları ve benzeşik biyolojik rollerinin bu molekül lerin yapısında bir benzerliği yansıtmadığı açıklığa kavuşmuştur.

## **KAŞEKTİN (TNF/C)'NİN BİYOLOJİK ETKİNLİKLERİ**

### **Nötrofiller ve Makrofajlar Üzerinde Etkileri**

TNF/C hem nötrofilleri hem de monosit/makrofajları doğrudan aktive eder ve böylelikle enfeksiyona karşı konağın immün yanıtının modülasyonunda önemli bir rol oynar. TNF/C nötrofilleri aktive ederek fagosit işlevlerini artırır (108). Gam ma interferonla birlikte, düşük konsantrasyonlarda, *Candida albicans* üremesini inhibe etmek üzere nötrofilleri güçlendirdikleri saptanmıştır (38). Eozinofil ler üzerinde etki göstererek, onları *Schistosoma mansoni* larvalarına karşı tok sik etki göstermeleri bakımından stimüle eder (112). Ayrıca yine nötrofiller üzerinde migrasyon inhibisyonu (109), respiratuvar "burst" ve degranülasyonun stimülasyonu (62, 125), antikorla kaplı tümör hücrelerinin "killing"i (108) gibi etkilere sahip olması yanında onların endotel hücrelerine adherenslerinin artmasına da neden olur (24,44,96). Öte yandan, A\*kinson ve ark. (10) rekombin an insan kaşektini (rHuTNF/C)'nin nötrofillerdeki F<sub>1</sub>LP (N-formyl-methionylleu cylphenyl-alanine) reseptörlerini, süperoksit anyonu üretimi neden olarak, modü le ettiğini göstermişlerdir. FMLP bilindiği gibi sentetik kemotaktik bir peptid dir (8). Reseptör modülasyonuna karşılık, yine rHuTNF/C, nötrofillerin FMLP ile uyarılmış olan motilitelerini de inhibe etmektedir ve FMLP reseptör popülasyonu nun afiniteleri rHuTNF/C ile değiştiriliyor olmalarına karşın reseptörlerin toplam sayısı değişmeden kalmaktadır (10).

Bu özellikler, nötrofillerin, TNF/C kaynaklı tümör rejeksiyon alanı çevresinde görülen enflamatuvar reaksiyonlarda önemli bir yol oynadıklarını ve TNF/C nin intravenöz verilmesinin çok sayıda olumsuz etkilere de neden olabileceğini düşündürmektedir.

Kaşektin monositlerden kendisinin üretimini regülasyonunda otokrin bir işleve sahiptir (98). İster endojen olarak gamma interferon etkisi altında üretilsin isterse eksojen verilsin insan monositlerinde DR gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (9). Monositlerin, ayrıca, hemodiyaliz esnasında aktive olarak IL-1 salmaları yanında (22), TNF/C üretimi bakımından da uyardıkları bildirilmiştir (72).

### Endotel Hücreleri Üzerine Etkileri

Kaşektinin endotel hücreleri üzerinde etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu etkiler nötrofiller üzerine etkilerle birlikte ele alındığında, LPS kökenli fizyopatolojik değişikliklerin çoğunu açıklayabilecek düzeydedirler. TNF/C, yukarıda da değinildiği gibi, nötrofillerin endotel hücrelerine adherenslerini artırır. Buna ek olarak, TNF/C ile ön işlemden geçirilmiş nötrofiller endotel hücrelerinde, in vitro, hasarlandırıcı etkiye sahiptirler (109). TNF/C nin endotel hücreleri üzerine diğer etkileri şöyle özetlenebilir:

- a) Reorganizasyon (elongasyon, hücrelerin overlapping'i, aktin filamentlerinin yeniden düzenlenmesi ve boyanabilir fibronektin matriksinin yitimi) (117),
- b) Doku faktörü benzeri bir prokoagülen etkinliğin ortaya çıkması (21.80),
- c) Trombomodülin etkinliğinde azalma (80),
- d) Plazminojen aktivatör inhibitörünün (PAI-I) artışı (107,126),
- e) MHC class I antijen ekspresyonu (34).

Damarıçi boşluktan damardışındaki enfeksiyon alanlarına nötrofillerin göçü, başlıca, onların endotel hücrelerine adherenslerine bağlıdır. Kaşektin, hem nötrofiller hem de damar endotel hücreleri üzerinde hücre yüzeyi moleküllerinin yeniden düzenlenmesi ile ilgili bir mekanizmayla adherensi artırıyor gözükme tedir. Öte yandan, TNF/C makrofajları ve endotel hücrelerinden IL-1 salınım gibi diğer sitokinlerin transkripsiyon ve salınımlarını da modüle etmektedir (11, 71,79).

### Lenfositler Üzerine Etkileri

Aktive olmuş lenfositlerde TNF/C ye özgül reseptörler saptanmamış (66) olmasına karşın aktivasyonla perifer T lenfositler üzerinde bu reseptörlerin ortaya çıkma bildiği gösterilmiştir (106). Ayrıca IL-2 ye bağımlı T hücrelerinin yüksek doz da TNF/C ile önışlemleri hem proliferasyonda bir artışa hem de gamma interferon üretimine yolaçmaktadır. İmmünofloresan ile incelemeler, TNF/C nin bu hücreler üzerine etkisiyle HLA ve Tac (IL-2 reseptörü) antijenlerinin ortaya çıkışında bir artışa neden olduğunu göstermiştir.

Kaşektinin hem T hücreler (133) hem de B hücreler (55,60) için bir büyüme faktörü gibi davrandığı da gösterilmiştir.

Öte yandan, TNF/C nin iri granüllü lenfositlerin (LGL) IL-2 ile aktive olarak LAK (lymphokin-activated killer) hücreleri haline dönüşmelerine katkıda bulun duğu gösterilmiş ve adoptif immünoterapide IL-2 gereksiniminin daha küçük dozla ra düşmesine yol açabileceği ileri sürülmüştür (29).

### Tümör Hücreleri Üzerine Etkileri

TNF/C, in vitro olarak, çeşitli tümör hücre dizilerine doğrudan toksik etki gösterir ve bu etki hücreler üzerindeki TNF/C reseptörleri sayısından bağımsızdır (100,118,127). Karşılaştırmalı çalışmalarda normal hücrelerin yanında bir bölüm tümör hücrelerinin de TNf/C ye dirençli olduğu gözlenmiştir (118,124). Ancak bu direnç ne TNF/C reseptörleri yokluğuna ne de TNF/C bakımından zayıf afiniteye

bağlıdır. Bunun yanında, RNA ya da protein sentezi inhibe edildiğinde çeşitli normal dokulara ait hücre dizilerinde de TNF/C ye bağlı lizis saptanır (41). Bu olay, TNF/C nin sitotoksik ve sitosidal etkilerinden farklı mekanizmaların sorumlu olabileceğini göstermektedir. Nitekim, kimi proteaz inhibitörlerle rinin insan ve fare hücrelerini TNF/C sitotoksitesinden tümüyle koruyabildikleri gösterilmiştir (23).

TNF/C nin monositleri (40,64), NK hücreleri (37) ve doğal sitotoksik (NC) hücreler (54, 86) tarafından tümör hücrelerine karşı gösterilen sitotoksik etki nin bir mediyatörü olduğu ileri sürülmüştür. Ancak, örneğin, NK hücrelerin gös terdiği sitotoksikite ile TNF/C üretimi arasında bir ilişki olmadığı gibi çeliş ki sonuçlar da bildirilmektedir(30). Diğer taraftan, yine TNF/C nin, NK hücre lerin litik yeteneklerini güçlendirdiği ve bu hücrelerin IL-2 ile aktive olma kapasitelerini arttırdığı da gösterilmiştir (87).

TNF/C in vitro olduğu kadar in vivo olarak da tümör lizisine neden olabilmektedir (47,114). İnsan tümörü aktarılmış nüd farelerde çeşitli tümör hücrelerine karşı TNF/C nin etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (129). Gamma interferon ve TNF/C kombinasyonu tümör hücreleri üzerinde sinerjistik antiproliferatiften (70, 118) sitotoksik yanıtlara (13,43) kadar değişen çeşitli etkinlikler gösterir. İn vivo olarak, TNF/C nin tümör hücrelerinde oluşturduğu doğrudan sitoli zin immün modülasyon yoluyla mı yoksa tümör vaskülatürü üzerine doğrudan etkisiyle mi antitümör bir ajan olarak etki ettiği sorusu ortaya çıkmaktadır (36,104). Bu konudaki araştırmalar sürmektedir (2,14,48).

Öte yandan, kimi malign hücreler, örneğin kronik B-hücre malignite hücreleri için, TNF/C nin otokrin bir tümör büyüme faktörü gibi davrandığı gösterilmiştir (35). Bu özelliğin uygulamada ne gibi sonuçlar getireceği şimdilik bilinmiyor ise de kanımızca üzerinde önemle durulmalıdır.

### **Yağ Dokusu Üzerine Etkisi**

Kaşektinin yağ dokusuna özgül çeşitli enzimlerin ekspresyonunu baskıladığı (120), yağ dokusuna esetat uptake'ini inhibe (89) ve yağ dokusundan belirgin bir trigliserid yitimine neden olduğu (120) gösterilmiştir. Yine kaşektin, 3T3-L1 adipozitlerde LPL aktivitesini (19) ve yağ asitleri biyosentezinde işe karışan enzimlerin sentezini (91) baskılama yeteneğindedir. Bu noktadan kalka rak Beutler ve ark (28) TNF/C nin kronik enfeksiyonlar ve diğer kronik hastalık durumlarına eşlik eden, adipoz kütle ve vücut ağırlığı yitimi (yani kaşeksi) için bir sinyal olduğunu ileri sürmüşlerdir. Enfeksiyon sırasında salınan kaşektinin anoreksi, kilo yitimi ve yağ dokusu ile iskelet kası kütleindeki azalmay la özellenen kaşektik bir durumu indüklediği düşünülmektedir (28,92)

Öte yandan, Enders ve ark (39) gönüllülerle yaptıkları çalışmada diyetle uzun zincirli n-3 yağ asitlerinin eklenmesinin monoküleer hücreler karafından TNF/C sentezini (IL-1 sentezi ile birlikte) baskıladığını göstermişler ve bunun bu yağ asitleri için bildirilmiş olan antienflamatuvar etkiden kısmen sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

### **İskelet Kası Üzerine Etkileri**

TNF/C nin kas hücrelerinin transmembran potansiyelini azalttığı gösterilmiştir (121). Böylelikle sodyum-potasyum'a bağımlı adenozintrifosfat'ı etkisizleştirecek olan sodyum permeabilizasyonunun hücre iç ve volüm genişlemesine yol açacağı ve sodyum ile suyun hücre içindeki tutulabileceği ve bir çok klinik durum da ortaya çıkan suyun üçüncü boşlukta (?) tutulma olayında TNF/C nin dolaylı da olsa, rol alabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kaşektin kas glikojenolizini stimüle eder, böylelikle laktat üretimi ve hücre içi glukoz transportu artar (69).

### **Fibroblastlar, Sinoviyal Epitel ve Konnektif Doku Üzerine Etkileri**

Kaşektin kartilaj eksplantlarında proteoglycan rezorpsiyonunu stimüle, proteoglycan sentezini ise inhibe eder (101). Kondroitin Sulfat'tan zengin proteoglycan, kartilaj matriksinin temel bir komponentidir. Romatoid artrit, osteoartrit ve diğer eklem hastalıklarında görülen proteoglycan yitimi kartilaj işlevinde ciddi bozulmalara yol açar. TNF/C ayrıca, kültür ortamında düşük konsantrasyonlarda bulunduğu bir fibroblast büyüme faktörü olarak davranmaktadır (118). Hem TNF/C hem de LT osteoblastlardan yeni kemik oluşumunun göstereceği bir enzim olan alkalen fosfat içeriklerini azaltırlar (15). Myeloma, T hücre lenfoması ve Burkitt lenfoma gibi lenfoid hücrelerin malign hastalıklarında sıklıkla gözlenen kemik yıkımı ve hiperkalseminin bu malign hücrelerin TNF/C ve LT üretme yetenekleriyle ilişkili olabileceğine dair veriler elde edilmiştir (63,97).

### **Hematopoetik Prekürsör Hücreler Üzerine Etkileri**

Kaşektin ile yapılan in vitro çalışmalarda hematopoetik prekürsör hücreler üzerinde, genellikle, inhibitör bir etki gözlenmektedir (27,37,90,103). Öte yandan, özellikle eritrojenik prekürsör hücreler ve monosit/makrofaj CSF için stimülatör etkili olduğuna dair göstergeler de belirlenmiştir (78,119,122). Anlaşılan odur ki TNF/C hem stimülatör hem de inhibitör etkiler yoluyla hematopoez üzerinde homeostazın sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır. Ancak, bu etkilerin doğrudan mı yoksa aracı bir başka molekülle mi gerçekleştirildiği sorusu na yanıt henüz açık değildir. Geçenlerde ise, Wong ve Goedel (131), çeşitli insan karsinoma hücre dizilerinin de TNF/C ile önışlemin hem in vivo hem de in vitro olarak mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) için mRNA'yı seçici ve hızla indüklediğini göstermişlerdir. LT ve IL-1 de aynı etkiyi göstermektedirler. Yazarlar, bu nedenle, TNF/C, LT ve IL-1 in hematopietik progenitor hücrelerle birlikte diğer hücrelerin radyasyon etkisinden korunmalarında katkıları olduğunu ve yine bu hücrelerin TNF/C nin sitotoksik etkilerinden korunmalarında görev alan proteinlerden birinin de MnSOD olduğunu ileri sürmektedirler.

### **SONUÇ**

Görüleceği gibi TNF/C çok yönlü biyolojik etkinliklere sahip bir immünopeptid dir. Dikkatle incelendiğinde bu etkilerin büyük bir bölümünün IL-1 ile ortak olduğu gözlenir (Kaynak 68 ve 77 de ayrıntılı olarak gözden geçirilmiştir). (Tablo-II). Bununla



birlikte aralarında belirgin farklar vardır: TNF/C tümör hücreleri üzerinde daha güçlü bir tümör nekroze edici etkiye sahiptir; yine kaşektin endotel hücreleri üzerinde MHC antijen ekspresyonunu artırır ancak IL-1 in böyle bir etkisi yoktur. Öte yandan, IL-1, TNF/C ye göre daha geniş bir hücre çeşidi spektrumu tarafından üretilebilmekte ve T hücre aktivasyonu için (TNF/C nin aksine) önemli bir sinyal oluşturmaktadır (85).

Kaşektinin bu geniş etkinlikler spektrumu, onun enflamasyon, immünite ve tümör nekrozundaki rollerine temel oluşturmaktadır. Pek doğal henüzaçıklığa kavuştu rulmamış yanıtlarıyla pek çok soru karşımızda durmaktadır: Her şeyden önce, kaynak hücre olan monosit/makrofajların toplam 100 kadar olan yanıt sal ürünleri arasında kaşektinin gerçek yeri nedir? TNF/C gerek makrofaj/monositlerin diğer ürünleri ile gerekse diğer immün hücre ürünleri ile hangi düzeyde ve hangi yönde etkileşmektedir? Üretimi ve yararlı ya da zararlı etkileri hangi koşullarda ve hangi feedback mekanizmalarla denetlenmektedir? Deney koşullarında saptanan etkilerinden hangisi gerçekten önemlidir? TNF/C ye karşı in vivo hangi sistemik yanıtlar gelişmektedir? Klinikte doğrudan TNF/C nin ya da anti-TNF/C antikorların tedavi edici gücü var mıdır?

TNF/C nin moleküler yapısının açıklığı kavuşturulması ve rekombinan molekülün elde edilmesi bu sorulara aranan yanıtların ortaya konmasında büyük yararlar sağlamaktadır. Elde edilen veriler izleyen yazımızda gözden geçirilecektir.

**Tablo-I**

**Enflamasyon, bağışıklık ve “büyüme” ile ilgili önemli polipeptid mediyatörler**

Grup	Üyeler	Diğer isimleri
İnterferonlar	IFN-alfa IFN-beta IFN-gamma	Lökosit interferonu Fibroblast interferonu İmmür İnterferon
İnterlökinler	IL-1 IL-2 IL-3 IL-4 IL-5 IL-6	Lenfosit aktive edici faktör Endojen pirojen T hücre büyüme faktörü Mast hücre büyüme faktörü B hücre stimulatuar faktörü 1 (BSF-1) Eozinofil diferansiyasyon faktörü B hücre stimulatuar faktörü 2 (BSF-2) Hepatosit stimüle edici faktör İnterferon <span style="float: right;">beta<sub>2</sub></span>
Koloni stimüle edici faktörler	GM-CSF G-CSF M-CSF Eritropoietin	(Granülosit/Makrofaj CBF) (Granülosit CSF), Pluripoietin (Makrofaj CSF), CSF-1
Tümör nekroz faktörleri	TNF/C Lenfotoksin	TNF-alfa, kaşektin TNF-beta

**Tablo-II**  
**TNF/C ve IL-1 in Biyolojik Etkileri\***

Etkinlik	TNF/C	IL-1
T hücre aktivasyonu	±	+
Monosit aktivasyonu	+	±
Nötrofil aktivasyonu	+	+
Obsteoklast aktivasyonu	+	+
Fibroblast proliferasyon artışı	+	+
Sinovyositlerde PGE2, kollajenaz sentezi	+	+
İnterferon beta2 indüksiyonu	+	+
GM-CSF indüksiyonu	+	+
Prokoagülan aktivite indüksiyonu	+	+
Nötrofil ve monositlerin endotele adhesian'u	+	+
TNF/C sentezi indüksiyonu	+	+
IL-1 sentezi indüksiyonu	+	+
LPL sentezinde azalma	+	+
İskelet kası membran depolarizasyonu	+	-
HLK-A, -B antijenleri indüksiyonu	+	-
Akut faz yanıtı indüksiyonu**	+	+
Priojenik etki**	+	+
Antiviral etki**	+	-
Eozinofillerin schistosoma'lara toksisitesi	+	-
Tümör hücreleri üzerine sitotoksik-sitostatik etki	+	±

\* Yazı yayına hazırlandığı sırada elde edilebilen verilere göre hazırlanmıştır.

\*\* Sonraki sayıda ele alınacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Aderka D, Holtmann H, Toker L, Hahr T, Wallach D: Tumor necrosis factor induction by Sendai virus. *J Immunol* 136:2938, 1986
2. Agah R, Malloy B, Sherrod A, Bean P, Girgis E, Manzumder A: Therapy of disseminated NK-resistant tumor by the synergistic effects of recombinant interleukin-2 and tumor necrosis factor. *J Biol Response Modifiers* 7:140, 1988
3. Aggarwal BB, Eessaalu TE, Hass PE: Characterization of receptors for human tumor necrosis factor and their regulation by gamma-interferon. *Nature* 318:665, 1985
4. Aggarwal BB, Henzel WJ, Harkins RN: Primary structure of human lymphotoxin derived from 1788 lymphoblastoid cell line. *J Biol Chem* 260:2334, 1985
5. Aggarwal BB, Kohr WJ, Hass PE, Moffat B, Spencer SA, Henzel WJ, Bringman TS, Nedwin GE, Goeddel DV, Harkins RN: Human tumor necrosis factor: Production, purification, and characterization. *J Biol Chem* 260:2345, 1985
6. Aggarwal BB, Moffat B, Harkins RN: Human lymphotoxin. *J Biol Chem* 259:686, 1984
7. Aggarwal BB, Trafuina PR, Eessaalu TE: Modulation of receptors and cytotoxic response of tumor necrosis factor - by various lectins. *J Biol Chem* 261: 13652, 1986

8. Allen RA, Traynor AE, omann GM, Jesaitis AJ: The chemotactic peptide receptor: A model for future understanding of chemotactic disorders. *Hematol/Oncol Clin North Amer* 2:33, 1988
9. Arenzana-Seisdedos F, Mogensen SC, Vuillier F, Fiers W, Virelizire J-L: Autocrine secretion of tumor necrosis factor under the influence of interfero- amplifier HLA-DR gene induction in human monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 6087, 1988
10. Atkinson YH, Marasco WA, Lopez AF, Vadas MA: Recombinant human tumor necrosis factor : Regulation of N-formylmethionylleucylphenylalanine receptor affinity and function on human neutrophils. *J Clin Invest* 81:759, 1988
11. Bachwich PR; Chensue SW, Larrick JW, Kunkel SL: Tumor necrosis factor stimulates IL-1 and PGE2 production in resting macrophages *Biochem Biophys Res Commun* 136: 94,1986
12. Baglioni C, McCandles S, Tavernier J, Fiers W: Binding of human tumor necrosis factor to high affinity receptors on HeLa and lymphoblastoid cells sensitive to growth inhibition, *J Biol Chem* 260:13395, 1985
13. Balkwill FR, Lee A, Aldam G, Moodie E, Thomas JA, Tavernier J, Fiers W: Human tumor xenografts treated with recombinant human tumor necrosis factor alone or in combination with interferons. *Cancer Res* 46:3990, 1986
14. Balwill FR, Ward BG, Fiers W: Effects of tumournecrosis factor on human tumor xenografts in nude mice. *Tumor Necrosis Factor and Related Cytotoxins*, (Ed: Bock G, Marsh J)'de. Ciba Foundation Symposium, No:131, Jeohn Wiley and Sons, Chichester, 1987, s 154
15. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS; Smith DD, Mundy GR: Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factors. *Nature* 319:516. 1986
16. Beutler B, Cerami A: Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 320: 584, 1986
17. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan Y-CE, Mathison J, Ulevitch R, Cerami A: Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin. *Nature* 316:552, 1985
18. Beutler B, Kochin n, Milsark IW, Luedke C, Cerami A: Control of cachectin (tumor necrosis factor) synthesis: Mechanisms of endotoxin resistance. *Science* 231:977, 1986
19. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A: Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin- induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 161: 984, 1985
20. Beutler B, Milsark IW, Cerami A: Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution, and metabolic fate in vivo. *J Immunol* 135: 3972, 1985
21. Bevilagua MP, Pober JS, Majeau GR, Fiers W, Cotran RS; Gimbrone MA jr: Recombinant tumor necrosis factor induces porcoagulant activity in cultured human vascular endothelium: Characterization and comparison with the actions of interleukin 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:4533, 1986
22. Bingel M, Lonnemann G, Shaldon S, Koch KM, Dinarello CA: Human interleukin -1 production during hemodialysis. *Nephron* 43:161, 1986
23. Boglioni C, Ruggiere V, Latham K, Öohnson SE: Cytocidal activity of tumour necrosis factor: Protection by protease inthibitors. *Tumour Necrosis Factor and Related Cytotoxins*, (Ed: Bock G, Marsh J)'de. Ciba Foundation Symposium No:131, Chichester, John Wiley and Sons, 1987, s 52
24. Broudy VC, Harlan jM, Adamson JW: Disparate effects of tumor necrosis factor-alpha/cachectin and tumor necrosis factor-beta/lymphotoxin on hematopoietic growth factor production and neutrofil adhesion molecule expression by cultured human endothelial celles. *J Immunol* 138: 4298, 1987
25. Broxmeyer HE, Williams DU, Lu L: The suppressive influences of human tumor necrosis factor on bone marrow hematopoietic progenitor cells from normal donors and patients with leukemia: Synergism of tumor necrosis factor and interferon- $\gamma$ . *J Immunol* 136: 4487,1986

26. Caput D, Beutler Hartog K, Brown-Shimer S, Cerami A: Identification of a common nucleotide sequence in the 3'-untranslated region of mRNA molecules specifying inflammatory mediators. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:1670, 1986
27. Carswell EC, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 72:3666, 1975
28. Cerami A, Ykeda Y, Le Trang N, Hotez PJ, Beutler B: Weight loss associated with an endotoxin-induced mediator from peritoneal macrophages: The role of cachectin (Tumor necrosis factor). *Immun Lett* 11:173, 1985
29. Choib S, Bertoglio J, Blay J-Y, Marchiol-Fournigault C, Fradelizi D: Generation of lymphokine-activated killer cells: Synergy between tumor necrosis factor and interleukin-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:6875, 1988
30. Christmas SE, Meager A, Moore M: Production of interferon and tumor necrosis factor by cloned human natural cytotoxic lymphocytes and T cells. *Clin Exp Immunol* 69: 441, 1987
31. Clark IA: Suggested importance of monokines in pathophysiology of endotoxic shock and malaria. *Klin Wochenschr* 60:756, 1982
32. Coley WB: The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas; with a report of ten original cases. *Am J Med Sci* 105: 487, 1983
33. Collart MA, Belin D, Vassali JD, Vassali JD, de Kossoda P: Gamma-interferon enhances macrophage transcription of the tumor necrosis factor/cachectin, interleukin 1, and urokinase genes, which are controlled by short lived repressors. *J Exp Med* 164:2113, 1986
34. Collins T, Lapiere LA, Fiers W, Strominger JL, Pober JS: Recombinant human tumor necrosis factor increases mRNA levels and surface expression of HLA-A, B antigens in vascular endothelial cells and dermal fibroblasts in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:446, 1986
35. Cordingley FT, Bianchi A, Hoffbrand AV, Reittie JE, Heslop HE, Vyakarnam A, Turner M, Meager A, Brenner MK: Tumor necrosis factor as an autocrine tumour growth factor for chronic B-cell malignancies. *Lancet* i:969, 1988
36. Creasey AA, Reynolds MT, Laird W: Cures partial regression of murine and human tumors by recombinant human tumor necrosis factor. *Cancer Res* 46:5687, 1986
37. Degliantoni G, Murphy M, Kobayashi M, Francis MK, Perussia B, Trinchieri G: Natural killer (NK) cell-derived hematopoietic colony-inhibiting activity and NK cytotoxic factor: Relationship with tumor necrosis factor and synergism with immune interferon. *J Exp Med* 162:1512, 1985
38. Djeu JY, Blanchard DK, Halkias D, Friedman H: Growth inhibition of *Candida albicans* by human polymorphonuclear neutrophils: Activation by interferon gamma and tumor necrosis factor. *J Immunol* 137:2980, 1986
39. Enders S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, Van der Meer JWM, Cannon JG, Rogers TS, Klempner MS, Weber PC, Schaefer AJ, Wolff SM, Dinarello CA: The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by monocyte cells. *N Engl J Med* 320:265, 1989
40. Feinman R, Henriksen-Destefano D, Tsujimoto M, Vilcek J: Tumor necrosis factor is an important mediator of tumor cell killing by human monocytes. *J Immunol* 138:635, 1987
41. Flick DA, Gifford GE, Tumor necrosis factor. *Biological Response Modifiers New approaches to Disease Intervention*, (Ed: Torrence PF) de. New York, Academic Press, 1985, s 171
42. Fransen L, Muller R, Marmenout A, Tavernier J, Van der Heyden J, Kawashima E, Chollet A, Tizard R, Van Heuverswyn H, Van Vliet A, Ruyschaert M-R, Fiers W: Molecular cloning of mouse tumor necrosis factor cDNA and its eukaryotic expression. *Nucl Acids Res* 13:4417, 1985
43. Fransen L, Van der Heyden J, Ruyschaert M-R, Fiers W: Recombinant tumor necrosis factor: Its effect and synergism with interferon-gamma on a variety of normal and transformed human cell lines. *Eur J Cancer Clin Oncol* 22: 419, 1989

44. Gamble JR, Harlan JM, Klebanoff Sj, Vadas MA: Stimulation of the adherence of neutrophils to umbilical vein endothelium by human recombinant tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:8667, 1985
45. Granger GA, Williams TW: Lymphocyte cytotoxicity in vitro. Activation and release of a cytotoxic factor. *Nature* 218:1253, 1968
46. Gray PW, Aggarwal BB, Benton CV, Bringman TS, Henzel WJ, Jarrett JA, Leung DW, Moffat B, Ng P, Svedersky Lp, Palladino MA, Nedwin GE: Cloning and expression of cDNA for human lymphotoxin, a lymphokine with tumor necrosis activity. *Nature* 322:721, 1984
47. Haranaka K, Satomi N, Sakurai A: Antitumor activity of murine tumor necrosis factor (TNF) against transplanted murine tumors, and heterotransplanted human tumors in nude mice. *Int J Cancer* 34:263, 1984
48. Haranaka K, Satomi N, Sakurai A, Haranaka R : Antitumors effects of tumour necrosis factor : Cytotoxic or necrotizing activity and its mechanism. *Tumour Necrosis Factor and Related Cytotoxins*, (Ed: Bock G, Marsh J)'de, Ciba Foundation Symposium No:131, Chichester, John Wiley and Sons, 1987, s 140
49. Haranaka K, Satomi N, Sakurai A, Kunii O : Role of Lipid A in the production of tumor necrosis factor and differences in antitumor activity between tumor necrosis factor and lipopolysaccharide. *Tohoku J Exp Med* 144:385 , 1984
50. Hartwell JL, Shear MJ, Adams JR Jr: Chemical treatment of tumors VII. Nature of the hemorrhage-producing fraction from *Serratia marcescens* (*Bacillus prodigiosus*) culture filtrate. *J Natl Cancer Inst* 4:107, 1943
51. Hass PE, Hotchkiss A, Mohler M, Aggarwal BB: Characterization of specific high affinity receptors for human tumor necrosis factor on mouse fibroblasts. *J Biol Chem* 260:12214, 1985
52. Helmsman L (Ed): *The selected letters of Anton Chekhov*. London: Pan Books Ltd, 1984, s 134 (Gresser I: A. Chekhov, MD, and Coley's Toxins. *N Engl j Med* 317:457, 1987)'den alınmıştır.
53. Hotez Pj, Le Trang N, Fairlamb AH, Cerami A: Lipoprotein lipase suppression in 3T3-L1 cells by a haemato-protozoan-induced mediator from peritoneal exudate cells. *Parasite Immunol* 6:203, 1984
54. Jadus MR, Schmunk G, Djeu JY, Parkman R: Morphology and lytic mechanisms of interleukin-3-dependent natural cytotoxic cells: Tumor necrosis factor as a possible mediator. *J Immunol* 137:2774, 1986
55. Jelinek DF, Lipsmy PE: Enhancement of human B cell proliferation and differentiation by tumor necrosis factor- and interleukin-1. *J Immunol* 139:2970 , 1987
56. Jones EY, Stuart DI, Walker NPC: Structure of tumor necrosis factor. *Nature* 338:225, 1989
57. Kahler H, Shear MJ, Hartwell JI: Chemical treatment of tumors VIII. Ultracentrifugal and electrophoretic analysis of the hemorrhage-producing fraction from *Serratia marcescens* (*Bacillus prodigiosus*) culture filtrate. *J Natl Cancer Inst* 4:123, 1943
58. Kawakami M, Cerami A: Studies of endotoxin-induced decrease in lipoprotein lipase activity. *J Exp Med* 154: 631, 1981
59. Kawakami M, Pekala PH, Lane MD, Cerami A: Lipoprotein lipase suppression in 3T3-L 1 cells by an endotoxin-induced mediator from exudate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:912. 1982
60. Kehrl JH, Miller A, Fauci AS: Effect of TNF on mitogen activated human B cells. *J Exp Med* 166:786, 1987
61. Kildahl-Andersen O, Nissen-Meyer J: Production and characterization of cytostatic protein factors released from human monocytes during exposure to lipopolysaccharide and muramyl dipeptide. *Cell Immunol* 93:375, 1985
62. Klebanoff SJ, Vadas MA, Harlan JM, Sparks LH, Gamble JR, Agosti JM, Waltersdorff AM: Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. *J Immunol* 136: 4220, 1986

63. Kobayashi M, Plunkett JM, Masunaka IK, Yamamoto RS, Granger GA: The human LT system XII. Purification and functional studies of LT ant "TNF-like" LT forms from a continuous human T cell line. *J Immunol* 137:1885, 1986
64. Kornbluth RS, Edgington TS: Tumor necrosis factor production by human monocytes is a regulated event: Induction of TNF-alpha-mediated cellular cytotoxicity by endotoxin. *J Immunol* 137 : 2585, 1986
65. Kull FC, Cuatrecasas P: Possible requirement of internalization in the mechanisms of in vitro cytotoxicity in tumor necrosis serum. *Cancer Res* 41:4885, 1981
66. Kull FC, Jacobs S, Cuatrecasas P: Cellular receptor for 125 I-labeled tumor necrosis factor: Specific binding, affinity labeling, and relationship to sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:5756,1985
67. Lam KS, Scuderi P, Salmon SE: Analysis of the molecular organization of recombinant human tumor necrosis factor (rTNF) in solution using ethylene glycolbis (succinimidylsuccinate) as the cross-linking reagent. *J Biol Response Mod* .:267, 1988
68. Le J, Vilcek J: Tumor necrosis factor and interleukin-1: Cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 56:234,1987
69. Lee DM, Zentalla A, Vine W, Pekala PH, Cerami A: Effect of endotoxin induced monokines on glucose metabolism in the muscle cell line L-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:2590, 1987
70. Lee SH; Aggawal BB, Rinderknecht E, Assisi F, Chiu H: The synergistic anti-proliferative effect of-interferon and human lymphotoxin. *J Immunol* 133:1083,1984
71. Libby P, Ordoñez JM; Auger KR, Robbins AH, Birinyi LK, Dinarello CA: Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleukin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cells. *Am J Pathol* 124:179,1986
72. Lonnemann G, Van der Meer JWM, Cannon JG, Dinarello CA, Koch KM, Grenolleras C, Descoldt G, Shaldon S: Induction of tumor necrosis factor during extracorporeal blood purification. *N Engl J Med* 317:963, 1987
73. Mannel DN, Moore RN, Mergenhagen SE: Macrophages as a source of tumoricidal activity (tumor necrosing factor). *Infect Immun* 30:523,1980
74. Mathews N: Tumor necrosis factor from the rabbit II. Production by monocytes. *Br J Cancer* 38:310,1978
75. Mathews N: Tumor necrosis factor from the rabbit V. Synthesis in vitro by mononuclear phagocytes from various tissues of normal and BCG-injected rabbits *Br J Cancer* 44:418, 1981
76. Mathews N: Production of an anti-tumor cytotoxin by human monocytes. *Immunology* 44:135, 1981
77. Movat HZ: Tumor necrosis factor and Interleukin-1: Role in acute inflammation and microvascular injury. *J Lab Clin Med* 110:668, 1987
78. Munker R, Gasson J, Ogawa M, Koeffler HP: Recombinant human TNF induces production of granulocyte-monocyte colony-stimulating factor. *Nature* 323:79, 1986
79. Nawroth PP, Bank I, Handley D, Cassimeris J, Chess L, Stern D: Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptor to induce release of interleukin-1. *J Exp Med* 163:1363, 1986
80. Nawroth PP, Stern DM: Modulation of endothelial cell hemostatic properties endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 163:740, 1986
81. Nedwin GE, Svedersky LP, Bringman TS, Palladino MA, Goeddel DV: Effect of Interleukin 2, interferon- and mitogens on the production of tumor necrosis factors and *J Immunol* 135:2492, 1985
82. Niitsu Y, Watanabe N, Sone IH, Neda H, Yamauchi N, Maeda M, Urushizaki I: Analysis of the TNF receptor on KYM cells by binding assay and affinity cross-linking. *J Biol Response Mod* 7:276, 1988
83. Niitsu Y, Watanabe N, Sone H, Neda H, Yamauchi N, Urushizaki I: Mechanism of the cytotoxic effect of tumor necrosis factor. *Jpn J Cancer Res* 76:1193, 1985

84. Old LJ: Tumor necrosis Factor (TNF). *Science* 230:630, 1985
85. Old LJ: Polypeptide mediator network. *Nature* 326:330, 1987
86. Ortaldo JR, Mason LH, Mathieson BJ, Liang SM, Flick DA, Herberman RB: Mediation of mouse natural cytotoxic activity by tumor necrosis factor. *Nature* 321:700, 1986
87. Ostensen ME, Thiele DL, Lipski PE: Tumor necrosis factor-alpha enhances cytotoxic activity of human natural killer cells. *J Immunol* 138: 4185, 1987
88. Palladino MA, Shalaby MR, Kramer SM, Ferraiolo BL, Baughman RA, Deleo AB, Crase D, Marafino B, Aggarwal BB, Figari IS, Liggitt D, Patton JS: Characterization of the antitumor activities of human necrosis factor and the comparison with the other cytokines: Induction of tumor-specific immunity. *J Immunol* 138: 4023, 1987
89. Patton JS, Shepard HM, Wilking H, Lewis G, Aggarwal BB, Eessalu TE, Gavin LA, Grunfeld C: Interferons and tumor necrosis factors have similar catabolic effects on 3T3 L1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:8313, 1986
90. Peetre C, Gullberg U, Nilsson E, Olsson I: Effects of recombinant tumor necrosis factor on proliferation and differentiation of leukemic and normal hemopoietic cells in vitro. Relationship to cell surface receptor. *J Clin Invest* 78:1694, 1986
91. Pekala PH, Kawakami NM, Angus CW, Lane MD, Cerami A: Selective inhibition of synthesis of enzymes for "de novo" fatty acid biosynthesis by an endotoxin-induced mediator from exudate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2743, 1983
92. Pekala PH, Price SR, Horn CA, Hom BE, Moss J, Cerami A: Model for cachexia in chronic disease: Secretory products of endotoxin-stimulated macrophages induce a catabolic state in 3T3-L1 adipocytes. *Trans Assoc Am Physicians* 97:251, 1984
93. Pennica D, Hayflick JS, Bringman TS, Palladino MA, Goeddel DV: Cloning and expression in *Escherichia coli* of the cDNA for murine tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:6060, 1985
94. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, Kohr WJ, Aggarwal BB, Goeddel DV: Human tumor necrosis factor: Precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 312: 724, 1984
95. Petersen CM, Moller BK: Immunological reactivity and bioactivity of tumor necrosis factor. *Lancet* i:934, 1988
96. Pohlman TH, Stanness KA, Beatty PG, Ohs HD, Harlan JM: An endothelial cell surface factor(s) induced in vitro by lipopolysaccharide, interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha increases neutrophil adherence by a CDw18- dependent mechanism. *J Immunol* 136:4548, 1986
97. Ralston SH: The pathogenesis of humoral hypercalcemia of malignancy. *Lancet* ii:1443, 1987
98. Ramila P, Epstein LB: Tumor necrosis factor as an immunomodulator and mediator of monocyte cytotoxicity induced by itself, interferon and interleukin-1. *Nature* 323:86, 1986
99. Rouzer CA, Cerami A: Hypertriglyceridemia associated with *Trypanosoma brucei* infection in rabbits: Role of effective triglyceride removal. *Mol Biochem Parasitol* 3:31, 1990
100. Rubin BY, Anderson SL, Sullivan SA, Williamson BD, Carswell EA, Old LJ: High affinity binding of 125 I-labelled human tumor necrosis factor (LuK110 to specific cell surface receptors. *J Exp Med* 162:1099, 1985
101. Saklatvala J: Tumor necrosis factor alpha stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage. *Nature* 322:547, 1986
102. Sariban e, Imamura K, Luebbers R, Kufe D: Transcriptional and post transcriptional regulation of tumor necrosis factor gene expression in human necrosis factor gene expression in human monocytes. *J Clin Invest* 81:1506, 1988
103. Sassa S, Kawakami M, Cerami A: Inhibition of the growth and differentiation of erythroid precursor cells by an endotoxin-induced mediator from peritoneal macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 912, 1982

104. Sato N, Goto T, Haranaka K, Satomi N, Nariuchi N, Nariuchi H, Mano-Hirono Y, Sawasaki Y: Action of tumor necrosis factor on cultured vascular endothelial cells: Morphologic modulation, growth inhibition, and cytotoxicity. *J Natl Cancer Inst* 76:1113, 1986
105. Satch M, Inagawa H, Shimada Y, Soma G, oshima H, Mizuno D: Endogenous production of tumor necrosis factor in normal mice and human cancer patients by interferons and other cytokines combined with biological response modifiers of bacterial origin. *J Biol Response Mod* 6:512,1987
106. Scheurgich P, Maxeiner B, Ucer U, Pfizenmaier K: Interferon gamma production by activated human T lymphocytes is stimulated by tumor necrosis factor alpha. *J Interferon Res (Suppl 1)* 6:112 (abs III-43), 1986
107. Schellef RR, Bevilacqua MP, Sawdey M, Gimbrone MA Jr, Loskutoff Dj: Interleukin 1(IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) activation of vascular endothelium: Effects on plasminogen activator inhibitor (PAI-I) and tissue-type plasminogen activator (t PA). *Int Soc IThromb Haemostasis* 58: 17(abs 65a), 1987
108. Shalaby MR, Aggarwal BB, Rinderknecht e, Svedersky LP, Finkle BS, Palladino MA: Activation of human polymorphonuclear neutrophil functions by interferon and tumor necrosis factors. *J Immunol* 135:2069, 1985
109. Shalaby MR, Palladino MR, Hirabayashi SE, Eessalu TE, Lewis GD, Shepard HM, Aggarwal BB: Receptor binding and activation of polymorphonuclear neutrophils by tumor necrosis factor- J *Leukocyte Biol* 41:196, 1987
110. SHear MJ: Chemical treatment of tumors IX. Reactions of mice with primary subcutaneous tumors to injection of a hemorrhage-producing bacterial polysaccharide. *J Natl Cancer Inst* 4:461, 1944
111. Shear MJ, Turner FC: Chemical treatment of tumors V. Isolation of the hemorrhage-producing fraction from *serratia marcescens* (Bacillus prodigiosus) culture filtrate. *J Natl Cancer Inst* 4:81, 1943
112. Silberstein DS, David JR: Tumor necrosis factor enhances eosinophil toxicity to *Schistosoma mansoni* larvae. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:1055, 1986
113. Smith RA, Baglioni C: The active form of tumor necrosis factor is a trimer. *J Biol Chem* 262:6951, 1987
114. Sohumara Y, Nakata K, Yoshida H, Kashimoto G, Matsui Y, Furuchi H: Antitumor effect on murine and human tumors transplanted in mice. *Int J Immunopharmacol* 8:347, 1986
115. Spier T, Blanck G, Bresnahan M, Sands J, Strominger JL: A new cluster of genes within the major histocompatibility complex. *Science* 243:214, 1989
116. Spies T, Morton CC, Nedaspasov SA, Fiers W, Pious D, Strominger JL: Genes for the tumor necrosis factors and are linked to the human major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:8699, 1986
117. Stolpen AH, Guinan EC, Fiers W, Pober JS: Recombinant tumor necrosis factor and immune interferon act singly and in combination to reorganize human vascular endothelial cell monolayers. *Am J Pathol* 123:1986
118. Sugarman BJ, Aggarwal BB, Hass PE, Figari IS, Palladino MA, Shepard HM: Recombinant human tumor necrosis factor : Effects on proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science* 230:943,1985
119. Takeda K, Iwamoto S, Sugimoto H, Takuma T, Kawatani N, Noda M, Masaki A, Morise H, Arimura H, Konno K: Identity of differentiation inducing factor and tumor necrosis factor. *Nature* 323:338, 1986
120. Torti FM, Dieckmann B, Beutler B, Cerami A, Ringold GM: A macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: An in vitro model of cachexia. *Science* 229: 867, 1985
121. Tracey KJ, Lowry SF, Beutler B, Cerami A, Albert JD, Shires GT: Cachectin tumor necrosis factor mediates changes in skeletal muscle plasma membrane potential. *J Exp Med* 164:1368, 1986



122. Trinchieri G, Kobayashi M, Rosen M, Loudon R, Murphy M, Perussia B: Tumor necrosis factor and lymphotoxin induce differentiation of human myeloid cell lines in synergy with immune interferon. *J Exp Med* 164:1206, 1986
123. Tsujimoto M, Yip K, Vilcek J: Tumor necrosis factor: Specific binding and internalization in sensitive and resistant cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:7626, 1985
124. Tsujimoto M, Yip K, Vilcek J: Interferon- enhances expression of cellular receptors for human necrosis factor. *J Immunol* 136:2441, 1986
125. Tsujimoto M, Yokota S, Vilcek J, Veissman G: Tumor necrosis factor provokes superoxide anion generation from neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* 137:1094, 1986
126. Van Hinsberg VWM, Kooistra T, Fiers W, Emeis JJ: Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in vivo. *J Int Soc Thromb Haemostasis* 58:15 (abs 59a), 1987
127. Wang AM, Creasey AA, Laduer MB, Lin LS, Strickler J, Van Arsdell JN, Yamamoto R, Mark DF: Molecular cloning of the complementary DNA from human tumor necrosis factor. *Science* 228:149, 1985
128. Watanabe N, Niitsu Y: Antitumor effect and the mechanism of action of human recombinant TNF. *Jpn J Cancer Chemother* 13:1322, 1986
129. Williamson BD, Carswell EA, Rubin BY, Prendergast JS, Old LJ: Human tumor necrosis factor produced by human B-cell lines: Synergistic cytotoxic interaction with human interferon. *Proc Natl Acad Sci USA* 80; 5397, 1983
130. Wingfield P, Pain RH, Craig S: Tumor necrosis factor is a compact trimer. *FEBS Lett* 211:179, 1987
131. Wong GHW, Goeddel DV: Induction of manganous superoxide dismutase by tumor necrosis factor: Possible protective mechanism. *Science* 242:941, 1988
132. Zacharchuk CM, Drysdale B-E, Mayer MM, Shin HS: Macrophage-mediated cytotoxicity: Role of a soluble macrophage cytotoxic factor similar to lymphotoxin and tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:6341, 1983
133. Zucali JR, Effenbin GJ, Barth KC, Dinarello CA: Effects of human IL-1 and human TNF on human T lymphocyte colony formation. *J Clin Invest* 80: 772, 1987