

Received: 2004.02.06

Accepted: 2004.05.18

Published: 2004.06.03

## Czynnik hamujący białaczkę (leukaemia inhibitory factor – LIF): struktura i aktywność biologiczna

### Leukaemia inhibitory factor (LIF): structure and biological activity

Jacek Szepietowski, Adam Reich

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

#### Streszczenie

Czynnik hamujący białaczkę (leukaemia inhibitory factor – LIF) jest wielofunkcyjną cytokiną, wpływającą na różnicowanie się i proliferację wielu typów komórek, regulującą metabolizm wapnia i kości, indukującą syntezę białek ostrej fazy oraz przyczyniającą się do powstawania stanu wyniszczenia organizmu przy współistniejącym procesie nowotworowym. Ponadto LIF bierze udział w powstawaniu stanu zapalnego, a tym samym jest ważnym elementem patogennym wielu jednostek chorobowych. Mnogość pełnionych przez LIF funkcji sprawia, że cytokina ta pozostaje w centrum zainteresowania badaczy z różnych dziedzin medycyny.

#### Słowa kluczowe:

czynnik hamujący białaczkę • cytokiny • stan zapalny • karcynogeneza

#### Summary

Leukaemia inhibitory factor (LIF) is a multifunctional cytokine, which plays a role in growth-promotion and differentiation, regulates calcium and bone metabolism, induces acute phase proteins and causes cachexia in organisms with neoplastic disorders. Moreover, LIF participates in the induction of inflammation, and therefore represents an important pathogenic factor of many disorders. The multifunctional properties of LIF have become of special interest to investigators from different disciplines of medicine.

#### Key words:

leukaemia inhibitory factor • cytokines • inflammation • carcinogenesis

#### Full-text PDF:

[http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_58/5617.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5617.pdf)

#### Word count:

3853

#### Tables:

–

#### Figures:

–

#### References:

125

#### Adres autora:

Dr hab. n. med. Jacek Szepietowski, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii AM, ul. Chałubińskiego 1, 50-368 Wrocław, e-mail: jszepiet@derm.am.wroc.pl

#### WPROWADZENIE

Cytokiny są białkami, które służą porozumiewaniu się pomiędzy komórkami, wpływają na proces wzrostu i różnicowania komórek, a wiele z nich bierze czynny udział w zapoczątkowywaniu i podtrzymywaniu procesów im-

munologicznych, w tym i zapalnych [37,97]. Do chwili obecnej wyizolowano i określono dziesiątki różnych cytokin. Za nowo odkrytą cytokiną uważa się tylko tę, którą uzyskano w postaci całkowicie homogennej, znana jest sekwencja jej genu oraz struktura samego białka [57]. W przeszłości wiele cytokin opisywano jako substancje

pełniące tylko jedną specyficzną funkcję, oddziałujące na jeden rodzaj komórek docelowych. Z czasem, szczególnie po sklonowaniu cDNA różnych cytokin, okazało się, że tylko część cytokin ma jednokierunkowe działanie, natomiast poprzednio opisywane pod różnymi nazwami związki niejednokrotnie okazywały się jedną substancją, która odpowiadała za wiele, nierzadko przeciwstawnych procesów [37,57,97]. Dlatego też stało się jasne, że rzeczywista liczba cytokin jest znacznie mniejsza, niż sądzono. Podobnie działo się w przypadku czynnika hamującego białaczkę (leukaemia inhibitory factor), który został opisany pod wieloma nazwami, odnoszącymi się do odkrytego działania tej cytokiny. Termin LIF stanowi obecnie oficjalnie przyjęty angielski skrót tej cytokiny.

Dotychczasowe obserwacje wskazują, że LIF wydzielany jest w warunkach fizjologicznych przez różne typy komórek: limfocyty T, komórki nabłonkowe grasicy, astrocyty, komórki nerwowe, komórki tłuszczne, fibroblasty, keratynocyty, komórki nabłonka, osteoblasty, synowioocyty, monocyty i makrofagi [31,37,48,53,61,98]. LIF działa wielokierunkowo, dlatego też w ostatnich latach wzbudza bardzo duże zainteresowanie badaczy prawie wszystkich dyscyplin medycyny.

### RYS HISTORYCZNY I NOMENKLATURA LIF

LIF po raz pierwszy został wyizolowany i opisany z fibroblastów w 1984 roku przez Hozumiego i wsp. jako czynnik stymulujący różnicowanie (D-factor – differentiation-stimulating factor), który wpływa na różnicowanie się mysich komórek białaczki szpikowej M1 w kierunku makrofagów [117]. Następnie odkryto, że czynnik indukujący różnicowanie (DIF – differentiation-inducing factor) [1] oraz LIF [35,43,51,88] wywierają podobny wpływ na komórki białaczki szpikowej. W dalszej kolejności okazało się, że zarówno D-factor [73], jak i DIF [1], to identyczne substancje jak LIF. Również wiele cytokin, którym nadano nazwy związane z ich funkcjami, okazały się identyczne z LIF [87]. Obecnie wszyscy badacze używają terminu czynnik hamujący białaczkę – leukemia inhibitory factor (LIF). Powszechnie określenia LIF przedstawiono poniżej. Odzwierciedla się w nich wielokierunkowość oddziaływań LIF.

### OKREŚLENIA CZYNNIKA HAMUJĄCEGO BIAŁACZKĘ

Nazwa i Piśmiennictwo:

1. LIF – leukemia inhibitory factor (czynnik hamujący białaczkę) [35];
2. D-factor – differentiation-stimulating factor (czynnik stymulujący różnicowanie) [73];
3. DIF – differentiation-inducing factor (czynnik indukujący różnicowanie) [1];
4. DIA – differentiation inhibitory activity (czynnik hamujący różnicowanie) [109,123];
5. DRF – differentiation-retarding factor (czynnik opóźniający różnicowanie) [63];
6. CNDF – cholinergic neuronal differentiation factor (czynnik stymulujący różnicowanie neuronów cholinergiczych) [30,125];
7. HILDA – human interleukin for DA cells (ludzka interleukina dla komórek DA) [33,40,91];
8. HSF-III – hepatocyte-stimulating factor III (czynnik stymulujący hepatocyty III) [13];

9. MLPLI – melanoma-derived lipoprotein lipase inhibitor (czynnik pochodzący z komórek czerniaka hamujący lipazę lipoproteinową) [92];
10. OAL – osteoblast-activating factor (czynnik aktywujący osteoblasty) [95].

### CZĄSTECZKA LIF

LIF jest glikoproteina o masie cząsteczkowej wynoszącej 38–67 kDa. Zmiennosc i duży zakres masy cząsteczkowej LIF wynika z bardzo zmiennej liczby reszt cukrowych, dołączanych do cząsteczki białka w procesie glikozylacji. Okazuje się, że enzymatyczna deglikozylacja pozwala na zmniejszenie masy cząsteczki LIF aż do około 20 kDa. LIF jest jednołańcuchowym białkiem, którego rdzeń utworzony jest ze 180 aminokwasów. W swojej strukturze zawiera liczne miejsca glikozylacji [35,42,91]. Przedstawia się ona następująco [33,44,87,110]:

Sekwencja aminokwasów ludzkiej cząsteczki LIF:

(-22 – oznacza 22 aminokwasy części hydrofobowej, pozostałe aminokwasy tworzą rdzeń proteiny LIF)

-22MetLysValLeuAlaAlaGlyValValProLeuLeuLeuValLeuHistrpLysHisGlyAlaGly

1 SerProLeuProIleThrProValAsnAlaThrCysAlaIleArgHisProCysHisAsn

21 AsnLeuMetAsnGlnIleArgSerGlnLeuAlaGlnLeuAsnGlySerAlaAsnAlaLeu

41 PheIleLeuTyrTyrThrAlaGlnGlyGluProPheProAsnAsnLeuAspLysLeuCy

61 GlyProAsnValThrAspPheProProPheHisAlaAsnGlyThrGluLysAlaLysLeu

81 ValGluLeuTyrArgIleValValTyrLeuGlyThrSerLeuGlyAsnIleThrArgAsp

101 GlnLysIleLeuAsnProSerAlaLeuSerLeuHisSerLysLeuAsnAlaThrAlaAsp

121 IleLeuArgGlyLeuLeuSerAsnValLeuCysArgLeuCysSerLysTyrHisValGly

141 HisValAspValThrTyrGlyProAspThrSerGlyLysAspValPheGlnLysLysLys

161 LeuGlyCysGlnLeuLeuGlyLysTyrLysGlnIleIleAlaValLeuAlaGlnAlaPhe

Met – metionina; Lys – lizyna; Leu – leucyna; Ala – alania; Gly – glicyna; His – histydylna; Ser – seryna; Ile – izoleucyna; Cys – cysteina; Val – walina; Phe – fenyloalania; Pro – prolina; Tyr – tyrozyna; Thr – treonina; Asn – asparagina; Gln – glutamina; Asp – kwas asparaginowy; Trp – tryptofan.

Sekwencja aminokwasów w cząsteczce LIF badana u pięciu różnych gatunków – myszy, szczura, owcy, świni i człowieka – wykazuje bardzo duże podobieństwo, sięgające 74–78% [3, 42,124,125]. Stałe, niezmiennie elementy to sekwencja części hydrofobowej, sześć cystein wmontowanych w tych samych pozycjach oraz sześć z siedmiu potencjalnych N-wiązujących miejsc glikozylacji. Mogłoby to sugerować, że stopień glikozylacji oraz cysteiny zaangażowane w tworzenie trzech śródcząsteczkowych mostków dwusiarczkowych, powinny odgrywać istotną rolę w aktywności biologicznej LIF. Okazało się jednak, że jedynie mostki śródcząsteczkowe są istotne. Ich zredukowanie prowadzi do utraty aktywności biologicznej cząsteczki

LIF [42,97]. Natomiast obecność lub brak reszt cukrowych nie wydaje się mieć aż tak istotnego znaczenia, bowiem nieglikozylowany, rekombinowany LIF, który jest wytwarzany przez bakterie *Escherichia coli*, również ma aktywność biologiczną [36,89]. Ponadto wiadomym jest, że u różnych gatunków podobną aktywność biologiczną mają cząsteczki LIF w różnym stopniu poddane procesowi glikozylacji [35,36,85,124]. Trzeciorzędowa struktura LIF składa się z czterech, połączonych ze sobą  $\alpha$ -helikalnych łańcuchów [105]. W organizmie człowieka LIF występuje zarówno w postaci rozpuszczalnej, jak i w postaci związanej z macierzą pozakomórkową [82].

Określenie struktury i funkcji cząsteczki LIF doprowadziło do umieszczenia LIF w jednej rodzinie cytokin wraz z onkostatyną M (OSM), interleukiną 6 (IL-6), IL-11, rzęskowym czynnikiem neurotrofowym (ciliary neurotrophic factor – CNTF), kardiostrofiną 1 (cardiotrophin 1 – CT-1) i ostatnio odkrytą cytokiną podobną do kardiostrofiny (cardiostrophin-like cytokine – CLC) [100,106,118]. Podobieństwo budowy tych cytokin sprawia, że obserwowane właściwości biologiczne poszczególnych substancji są niejednokrotnie bardzo do siebie zbliżone [9, 118].

## GEN LIF

LIF kodowany jest przez pojedynczy gen [35,110] zlokalizowany u myszy na chromosomie 11 w pobliżu centromeru A1-A2 [62], a u człowieka na chromosomie 22 q12.1-12.2 [18,112]. U człowieka gen LIF położony jest w tym samym obszarze co specyficzne translokacje występujące w mięsaku Ewinga i obwodowym pierwotnym guzie neuroektodermalnym (peripheral primitive neuroectodermal tumour – pPNET) [59,70,107]. Wielkość genu LIF szacuje się na około 8 kb. Obszar odpowiedzialny za LIF mRNA ma długość około 4,8 kb. W skład genu wchodzi trzy eksony i dwa introny. Ekson 1 odpowiedzialny jest za kodowanie pierwszych sześciu aminokwasów części hydrofobowej 5', ekson 2 za pozostałe aminokwasy tego obszaru oraz pierwsze 44 aminokwasy białka LIF. Pozostałe 136 aminokwasy są kodowane przez ekson 3 [110]. Badania porównawcze genu LIF u różnych przedstawicieli ssaków (człowiek, myszy, owca i świnia) wykazały, że sekwencja eksonów jest bardzo konserwatywna i nie ulega zmianie, natomiast różnice wykazują introny, chociaż w pewnych krótkich segmentach można dostrzec wyraźną międzygatunkową homologię [110,124]. Sekwencja DNA pierwszego intronu genu LIF składa się z około 150 nukleotydów, które są wysoce konserwatywne wśród różnych gatunków. Sugeruje to, że może to być fragment sekwencji regulujący ekspresję LIF [124]. Również niezmienny fragment 200 bp regionu 3' może zawierać sekwencje odpowiedzialne za zakończenie formowania LIF mRNA, czy za stabilność mRNA [110]. W obrębie genu znajdują się dwa niezmiennie gatunkowo miejsca rozpoczęcia transkrypcji (start-sites of transcription) [110].

## ŹRÓDŁA LIF

LIF mRNA oraz LIF stwierdzano u różnych gatunków zwierząt w licznych tkankach i liniach komórkowych [84]. Do komórek wykazujących ekspresję LIF mRNA lub białka LIF należą fibroblasty [47], komórki śródbł-

ka, monocyty, makrofagi [7,8,25,46,74,122], komórki nabłonkowe grasicy [67], mastocyty [79], limfocyty T [90], astrocyty [5], synowioocyty, chondrocyty [19,72] oraz osteoblasty [56]. Ponadto obecność LIF wykazano w licznych liniach komórkowych, uzyskanych z takich nowotworów złośliwych, jak: czerniak [32,99], gruczolakorak okrężnicy, gruczolakorak płuc, rak trzustki, rak pęcherza moczowego, rak epidermoidalny [32], chłoniak typu T [34], rak nerki, gruczołu piersiowego i prostaty [60] oraz z nowotworów kości – kostniakomięsaka, chrząstniakomięsaka czy mięsaka Ewinga [45]. W 1996 roku grupa kierowana przez McKenzie po raz pierwszy w pełni udokumentowała i opublikowała dane, mówiące, że prawidłowe ludzkie keratynocyty, zarówno *in vitro*, jak *in vivo* wykazują ekspresję LIF mRNA [98]. Wskazało to na możliwość udziału LIF także w fizjologicznych i patologicznych procesach zachodzących w skórze.

Obecnie uważa się, że synteza LIF odbywa się w prawie wszystkich tkankach, jednakże w warunkach fizjologicznych na bardzo niskim poziomie [17]. W warunkach prawidłowych duże stężenie LIF odnotowano jedynie w komórkach endometrium w czasie ciąży u myszy i świń [6, 14].

## RECEPTOR DLA LIF

Gen receptora dla LIF jest umiejscowiony u myszy na chromosomie 15, natomiast u człowieka na chromosomie 5 [9]. Obydwa *loci* związane są z genami kodującymi receptory interleukiny 7, prolaktyny i hormonu wzrostu [38]. Receptory dla LIF (LIFR) występują na wielu typach komórek: adipocytach, monocytach i makrofagach, komórkach pnia embrionalnego, hepatocytach, komórkach śledziony, osteoblastach, mioblastach, neuronach i komórkach różnych nowotworów [4,16,41,52,54,109,123]. Paglia i wsp. [98] wykazali obecność receptora dla LIF na ludzkich keratynocytach. Jeżeli LIF zostaje podany *in vivo*, to głównymi komórkami docelowymi są monocyty, makrofagi oraz ich prekursorzy [52,55]. Layton i wsp. [66] zidentyfikowali w surowicy myszy rozpuszczalną postać receptora dla LIF.

Połączenie LIF z receptorem odbywa się dwustopniowo. Początkowo LIF łączy się z receptorem o niskim stopniu powinowactwa. W drugim etapie do kompleksu LIF-LIFR przyłącza się glikoproteina 130 (gp-130), która tworzy kompleks LIF-LIFR-gp130 o wysokim stopniu powinowactwa [27]. Miejsce wiązania się z receptorem znajduje się w obrębie łańcucha D cząsteczki LIF, natomiast łańcuchy A i C są odpowiedzialne za połączenie z gp-130. Zarówno LIFR, jak i gp-130 są połączone z błoną komórkową i zawierają domenę zewnątrz- i wewnątrzkomórkową. Na jednej komórce znajduje się 50–3000 receptorów o wysokim stopniu powinowactwa do LIF [9,37]. Połączenie LIF z receptorem aktywuje kinazę Janusa (JAK)-1 i JAK-2 lub kinazę tyrozynową 2 (TYK-2), które fosforylują reszty tyrozynowe w domenie cytoplazmatycznej LIFR i gp-130, a tym samym tworzą miejsce przyłączenia dla rodziny czynników transkrypcyjnych, tzw. przekaźników sygnału i aktywatorów transkrypcji (signal transducer and activators of transcription – STAT): STAT-1, STAT-3 i STAT-5. Fosforylacja czynników STAT prowadzi do tworzenia dimerów i ich migracji do jądra komórkowego, gdzie zapoczątkowują transkrypcję genów aktywowanych przez LIF

[48,82]. Sugeruje się, że rozpuszczalna postać LIF pełni rolę endogennego inhibitora aktywności LIF [9].

## BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ LIF

Różnorodność funkcji pełnionych przez LIF znalazła odzwierciedlenie w licznych nazwach proponowanych przez odrębnych badaczy dla tej cytokiny. Z powodu wielokierunkowych oddziaływań LIF Hilton w 1992 roku [50] rozwinął skrót LIF jako 'lots of interesting functions', czyli mnogość interesujących funkcji. W ostatnich latach znacząco zwiększyło się zainteresowanie tą cytokiną nie tylko wśród badaczy nauk podstawowych, ale i klinicystów, gdyż najprawdopodobniej LIF bezpośrednio lub pośrednio uczestniczy w patogenezie wielu jednostek chorobowych.

Jak wspomniano na wstępie, LIF po raz pierwszy został opisany jako czynnik powodujący różnicowanie się mysich komórek szpikowej białaczki M1 w kierunku makrofagów [117]. Sugerowało to, że LIF może być zaangażowany w regulację procesu różnicowania i proliferacji. Jak się później okazało, działanie LIF zależy od typu komórki docelowej [97]. Wpływ LIF na różnicowanie się komórek białaczkowych wyraża się działaniem hamującym na ich klonalny rozrost [117]. Podobne działanie wywiera LIF również na ludzkie komórki linii komórkowych np. białaczki szpikowej HL60 czy U937, jednakże do pełnego efektu wymagane jest współdziałanie z G-CSF, GM-CSF lub IL-6 [75,76]. Wiadomo, że G-SCF, GM-SCF oraz IL-6 są zdolne indukować różnicowanie się komórek określonych linii komórkowych białaczki szpikowej. Na tej podstawie przypuszczano, że LIF będzie kolejnym czynnikiem hematopoetycznym. Obecność receptora dla LIF wykazano na niedojrzałych i na dojrzałych makrofagach i megakariocytach w szpiku kostnym, śledzionie i grasicy [52,55]. Jednakże w hodowli prawidłowych komórek szpiku kostnego LIF samodzielnie nie wykazywał działania stymulującego klonalny rozrost i nie różnicował żadnej linii hematopoetycznej [88]. Dodatkowo LIF nie wpływał na aktywność fagocytarną makrofagów, mimo że komórki te mają liczne receptory dla LIF [83]. Natomiast, w odróżnieniu od wpływu na prawidłowe ludzkie komórki szpikowe, LIF może stymulować proliferację mysich komórek mieloblastycznych linii DA-1a, bez oddziaływania na proces ich różnicowania [91]. Współdziałając z IL-3, LIF wpływa na proliferację transformowanych onkogenem MYC mysich komórek białaczki [23], mysich prekursorów megakariocytów [84] oraz ludzkich komórek pnia hematopoetycznego [68]. Interesujące i poniekąd zaskakujące było spostrzeżenie, że LIF podany zdrowym myszom powodował wzrost liczby płytek krwi, porównywalnie do efektu wywieranego przez inne czynniki, potencjalnie mające większy wpływ na stymulację aktywności megakariocytów *in vitro*, jak Multi-CSF, IL-6 czy IL-11 [76]. Ponadto, potwierdzeniem istotnego wpływu LIF na komórki pnia hematopoetycznego były badania Escary'ego i wsp. [26], w których wykazano, że u myszy pozbawionych LIF następował bardzo gwałtowny spadek liczby komórek pnia hematopoetycznego, zarówno w śledzionie, jak i szpiku kostnym.

LIF *in vitro* wpływa także na proces różnicowania się macierzystych komórek embrionalnych (embryonic stem

cells) poprzez zahamowanie ich różnicowania, zachowując ich wielopotencjalność [109,123]. W hodowli nie blokuje jednak wszystkich dróg różnicowania powyższych komórek, w czym uwidacznia się selektywny wpływ LIF na proces różnicowania [108]. Hamujące działanie LIF na różnicowanie komórek embrionalnych może zostać odwrócone poprzez kwas retinowy [116]. LIF jest także niezbędnym czynnikiem w procesie rozwoju i implantacji zarodka oraz w podtrzymaniu ciąży [21,28,104]. Wykazano, że komórki zarodka jeszcze przed implantacją wykazują ekspresję receptora dla LIF [28], a zastosowanie antysensownego w stosunku do genu LIF oligonukleotydu hamuje powstawanie czterokomórkowej moruli [21]. W przypadku myszy pozbawionych genu dla LIF po zapłodnieniu obserwowano powstawanie blastocysty, jednakże nie dochodziło do implantacji zarodka [104]. Zaobserwowano także, że stężenie LIF było znacznie podwyższone w macicy płodnych kobiet w dniach płodnych, natomiast istotnie obniżone u kobiet niepłodnych [65]. Ponadto w przypadku niepłodnych kobiet często stwierdzano heterozygotyczne mutacje genu LIF, natomiast u kobiet płodnych nie zauważono podobnych zaburzeń [39].

W badaniach *in vitro* wykazano, że LIF wpływa na różnicowanie się niezróżnicowanych mysich komórek nerwowych 9-dniowego embrionu, umożliwiając ich przetrwanie i różnicowanie się w kierunku układu współczulnego [94]. Ponadto LIF ma zdolność zmiany fenotypu współczulnych neuronów z adrenergicznych na cholinergiczne, poprzez wpływ na neuropeptydy i acetylocholinę [94]. W tym kontekście LIF można określić jako czynnik stymulujący różnicowanie neuronów cholinergicznych (cholinergic neuronal differentiation factor). LIF może również powodować wzmocnienie właściwości cholinergicznych hodowanych neuronów centralnego systemu nerwowego [80]. Ostatnio okazało się, że LIF także wpływa na proliferację innych komórek. I tak np. indukuje proliferację mioblastów [10] i osteoblastów [101] oraz hamuje wzrost komórek śródbłonna [29].

Podsumowując udział LIF w procesach różnicowania i proliferacji wyraźnie widać przeciwstawny wpływ LIF wywierany na poszczególne komórki docelowe. Ogólnie można przyjąć, że LIF indukuje różnicowanie się komórek mieloidalnych i nerwowych, hamuje natomiast różnicowanie się komórek pnia embrionalnego [83]. Ponadto powyższe spostrzeżenia wskazują, że LIF jest niezbędnym czynnikiem w procesie rozwoju i implantacji zarodka oraz w podtrzymaniu ciąży, a być może antagoniści LIF okażą się w przyszłości nowymi środkami antykoncepcyjnymi [27].

Istnieją coraz lepiej udokumentowane przesłanki przemawiające za rolą LIF w procesach zapalnych. LIF indukuje ekspresję wielu prozapalnych cytokin, takich jak IL-1, IL-6 czy IL-8 w monocytach krwi obwodowej, synowocytach, chondrocytach, neuronach i komórkach typu nabłonkowego [119]. Z kolei, w wielu komórkach IL-1, IL-6 czy czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (tumour necrosis factor  $\alpha$  – TNF- $\alpha$ ), stymulują wytwarzanie LIF [15,19,122]. Również w skórze zachodzą podobne procesy [98]. Mianowicie, LIF indukuje wytwarzanie IL-1 oraz IL-8 przez keratynocyty. I odwrotnie, te dwie prozapalne cytokiny wpływają na ekspresję LIF przez keratynocyty. Podobnego efektu nie

udało się jednak wywołać w przypadku zastosowania IL-6 i TNF- $\alpha$  [98]. Tak więc wydaje się, że w skórze LIF, działając poprzez układ cytokin, zaangażowany jest w tworzenie procesu zapalnego. Dodatkowym elementem, mogącym przemawiać za udziałem LIF w patogenezie stanu zapalnego w skórze, są badania dokumentujące obrzęk i naciek z komórek wielojądrowych, obserwowany w uszach myszy C3H/Hey po podaniu rekombinowanego LIF [81] oraz doniesienia na temat zmiany ekspresji LIF mRNA i poziomu samego LIF w niektórych chorobach skóry. W przypadku wyprysku kontaktowego o podłożu alergicznym obserwowano zwiększenie ekspresji LIF mRNA 24 godziny po ekspozycji na substancję uczulającą [113]. Podobnie w łuszczycy zanotowano podwyższoną ekspresję LIF mRNA w fragmentach skóry pobranych ze zmian chorobowych pacjentów z tą chorobą [114]. Co ciekawe, prawdopodobnie LIF odgrywa również pewną rolę w rozwoju nowotworów skóry [115]. Zwiększoną ekspresję LIF mRNA wykazano zarówno w przypadku raka kolczystokomórkowego, jak i raka podstawokomórkowego [115]. Należy jednakże zaznaczyć, że zwiększeniu ekspresji LIF nie towarzyszyło zwiększenie ekspresji IL-8, co może świadczyć, iż LIF wpływa bezpośrednio na komórki nowotworowe skóry. Konieczne są jednak dalsze badania, w celu pełnego wyjaśnienia obserwowanego zjawiska [115].

O prozapalnej funkcji LIF świadczą badania prowadzone w różnych dyscyplinach nauk podstawowych i klinicznych. Stężenie LIF w surowicy chorych z zespołem szoku septycznego było istotnie podwyższone [120]. Rolę LIF w tym procesie chorobowym potwierdzają również badania na modelu zwierzęcym. U zdrowych osobników mysich LIF można wykryć, chociaż w bardzo małych ilościach, w większości tkanek, ale jego ekspresja wzrasta bardzo znacznie po stymulacji lipopolisacharydem (LPS), produktem ściany komórkowej bakterii, który, jak się powszechnie uważa, jest odpowiedzialny za objawy wstrząsu endotoksycznego [17]. Podwyższony poziom LIF wykazano również w surowicy krwi myszy traktowanych LPS [88]. Ponadto, wzrost stężenia LIF stwierdzono u ludzi w wielu płynach ustrojowych w czasie toczącego się procesu zapalnego, np. w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych z bakteryjnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, popłuczynach oskrzelowych u pacjentów z zapaleniem płuc lub w płynie otrzewnowym przy zapaleniu otrzewnej [49,120]. Badania Jorensa i wsp. [58] wskazują, że LIF może być częścią kaskady cytokin prozapalnych u pacjentów z ARDS - acute respiratory distress syndrome. Donoszono także o podwyższonym stężeniu LIF w surowicy krwi chorych z olbrzymiokomórkowym zapaleniem tętnic [69], układowym toczniem rumieniowatym [103], ziarnicą złośliwą oraz chłoniakami i białaczką limfatyczną [71].

Istnieją przesłanki, że LIF jest zaangażowany również w powstawanie stanu zapalnego stawów. Ekspresja LIF przez chondrocyty, synowioocyty czy fibroblasty indukowana jest przez wiele czynników obecnych w stanie zapalnym stawów [47,72]. Obecność LIF wykazano w płynie stawowym u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, jak i innymi procesami zapalnymi stawów [72,121]. W zdecydowanie mniejszym odsetku i w niższych stężeniach LIF stwierdzano w płynie stawowym u pacjentów ze zmianami zwyrodnieniowymi o typie

osteoarthritis [56,72,121]. LIF może również, przez wpływ na degradację tkanki łącznej, przyczynić się do powstawania systemowych objawów reumatoidalnego zapalenia stawów. Wpływa także pobudzająco na syntezę białek ostrej fazy przez hepatocyty [11-13,64]. Dodatkowo wykazano, że dostawowe wstrzyknięcie LIF kozie wywołuje obrzęk stawu z gromadzeniem się płynu oraz intensywny naciek leukocytny [20].

LIF odgrywa również rolę w metabolizmie wapnia i kości. Stymuluje resorpcję kości i tym samym może oddziaływać na tkanki stawów poprzez indukcję wielu soiowych metaloproteinaz i cytokin, co odgrywa znaczącą rolę w degradacji tkanek i pogłębia zmiany typu arthritis [97]. Badania *in vitro* wykazały, że LIF jest zdolny z udziałem prostaglandyn usuwać wapno z tkanki kostnej i tym samym wpływać na zwiększoną resorpcję kości [2, 101]. Ponadto *in vitro* LIF hamował różnicowanie osteoblastów, oddziałując na komórki osteoprogenitorowe i młode osteoblasty [78], a także, podobnie jak OSM i CT-1, stymulował różnicowanie osteoklastów [102]. Jednakże zarówno *in vivo* jak i *in vitro* obserwowano również przeciwstawne działanie LIF; mianowicie LIF stymulował odbudowę kości, zwiększał ich gęstość i wzmacniał syntezę DNA w kościach, a także działał jako mitogen na osteoblasty [22,24]. Najprawdopodobniej pozorna przeciwstawność pełnionych przez LIF funkcji w metabolizmie kości jest uwarunkowana tym, iż *in vivo* żaden związek nie działa samodzielnie, a jedynie współdziała z wieloma innymi substancjami, mogącymi modulować lub zmieniać ostateczny wynik działania LIF. Z pewnością dalsze badania są niezbędne w celu pełnego wyjaśnienia wszystkich zagadnień związanych z oddziaływaniem LIF na tkankę kostną, chociaż pewną wskazówką są wyniki badań Malavala i Aubina [77], którzy badali działanie LIF na szczerze komórki zrębu szpiku kostnego, będące modelem wczesnych komórek osteoprogenitorowych. Zaobserwowali mianowicie, że działanie LIF było zależne od gęstości rozkładu komórek oraz stadium hodowli. W przypadku młodych kolonii LIF stymulował tworzenie ognisk kostnych (bone nodules), a efekt był większy w hodowlach z małą gęstością komórek. Natomiast w przypadku starszych hodowli LIF hamował powstawanie ognisk kostnych, a działanie to było bardziej widoczne w hodowlach z dużą gęstością komórek [77].

Stan wyniszczenia organizmu (cachexia) może być związany z długotrwałym procesem zapalnym lub toczącym się procesem rozrostowym [97]. Wydaje się, że LIF może również odgrywać rolę w powstawaniu stanu wyniszczenia. Myszy, które były długotrwale pobudzane do nadmiernego wytwarzania LIF, rozwijały zespół wyniszczenia, prowadzący w ciągu dwu do trzech miesięcy do zgonu. Zespół ten charakteryzował się utratą podskórnej tkanki tłuszczowej, tkanki tłuszczowej innych regionów ciała, atrofią grasicy, hiperkalcemią, odkładaniem się wapnia w sercu, mięśniach szkieletowych oraz w wątrobie, zanikiem części kory nadnerczy i całkowitym zahamowaniem spermatogenezy [85,86]. Identyczny stan wywołano również u dwutygodniowych myszy po wstrzyknięciu dużej dawki LIF [89]. Ponadto, wytwarzające LIF komórki czerniaka, po ich wprowadzeniu do myszy, wywoływały stan wyniszczenia [93]. Nie obserwowano tego w przypadku komórek niewytwarzających LIF. Działanie

LIF jako czynnika powodującego stan wyniszczenia jest podobne do aktywności TNF- $\alpha$  [37], który określan jest nawet jako kachektyna [96]. Ponieważ TNF- $\alpha$  może stymulować syntezę LIF, jego działanie powodujące stan wyniszczenia może być zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio. Działanie zarówno TNF- $\alpha$ , jak i LIF, opiera się na hamowaniu aktywności lipazy lipoproteinowej. Po raz pierwszy wykazano tę funkcję LIF po jego izolacji z ludzkich komórek czerniaka linii SEKI [93]. Ponadto w surowicy krwi chorych na nowotwory lub z przewlekłymi zakażeniami stwierdzono podwyższone stężenia LIF [120]. Powyższe dane mogą sugerować, że LIF, obniżając aktywność lipazy lipoproteinowej, przyczynia się do wywoływania i rozwoju stanu wyniszczenia organizmu u chorych z nowotworami lub ciężkimi, przewlekłymi, uogólnionymi zakażeniami. Alexander i wsp. [3] zasugerowali, że stała ekspresja LIF w wielu nowotworach może również stanowić sygnał inicjujący dla własnych komórek zapalnych, które rozpoczynają wytwarzanie mediatorów odpowiedzialnych za powstawanie stanu wyniszczenia.

Podobieństwo budowy cytokin z rodziny, do której należy LIF, podobieństwo budowy receptorów tych cytokin

oraz udział białka gp-130 w przekazywaniu sygnału sprawia, że *in vitro* niejednokrotnie obserwuje się podobne działanie poszczególnych cytokin z tej grupy. Wykazano jednakże, że LIF jest niezbędny w procesie implantacji embrionu, i że ta funkcja nie może być zastąpiona przez żadną inną cytokiną [104,111].

Podsumowując można stwierdzić, że LIF bierze udział w różnych procesach:

- wpływa na różnicowanie i proliferację wielu typów komórek,
- jest zaangażowany w patogenezę procesu zapalnego,
- wpływa na metabolizm wapnia i kości,
- indukuje wytwarzanie białek ostrej fazy,
- przyczynia się do powstawania stanu wyniszczenia organizmu przy współwystępującym rozroście nowotworowym lub przewlekłym zakażeniu.

Część z wyżej wymienionych funkcji LIF jest dość dobrze poznana i udokumentowana, inne zaś są bardziej hipotetyczne i wymagają przeprowadzenia dalszych badań. Być może LIF ma jeszcze inne, dotychczas nieznane, oddziaływania.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Abe T., Marukami M., Sato T., Kajiki M., Ohno M., Kodaira R.: Macrophage differentiation inducing factor from human monocytic cells is equivalent to murine leukemia inhibitory factor. *J. Biol. Chem.* 1988; 264: 8941-8945
- [2] Abe E., Tanaka H., Ichimi Y., Miyaura C., Hayashi T., Nagasawa H., Tomida M., Yamaguchi Y., Hozumi M., Suda T.: Differentiation-inducing factor purified from conditioned medium of mitogen-treated spleen cell cultures stimulates bone resorption. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 5958-5962
- [3] Alexander H.R., Billingsley K.G., Block M.J., Fraker D.L.: D-factor/leukaemia inhibitory factor: evidence for its role as a mediator in acute and chronic inflammatory disease. *Cytokine*, 1994; 6: 589-596
- [4] Allan E., Hilton D., Brown M., Evely R.S., Yumita S., Metcalf D., Gough N.M., Ng K.W., Nicola N.A., Martin T.J.: Osteoblasts display receptors for and receptors to leukemia - inhibitory factor. *J. Cell. Physiol.*, 1990; 145: 110-119
- [5] Aloisi F., Rosa S., Testa U., Bonsi P., Russo G., Peschle C., Levi G.: Regulation of leukemia inhibitory factor synthesis in cultured human astrocytes. *J. Immunol.*, 1994; 152: 5022-5031
- [6] Anegón I., Cuturi M., Godard A., Moreau M., Terqui M., Martinat Botte F., Soullillou J.P.: Presence of leukemia inhibitory factor and interleukin 6 in porcine uterine secretions prior to conceptus attachment. *Cytokine*, 1994; 6: 493-499
- [7] Anegón I., Grolleau D., Soullillou J.P.: Regulation of HILDA/LIF gene expression in activated human monocytic cells. *J. Immunol.*, 1991; 147: 3973-3980
- [8] Anegón I., Moreau J., Godard A., Jacques Y., Peyrat M.A., Hallet M.M., Wong G., Soullillou J.P.: Production of human interleukin for DA cells (HILDA)/leukemia inhibitory factor (LIF) by activated monocytes. *Cell Immunol.*, 1990; 130: 50-65
- [9] Auernhammer C.J., Melmed S.: Leukemia inhibitory factor: neuro-immune modulator of endocrine function. *Endocr. Rev.*, 2000; 21: 313-345
- [10] Austin L., Bower J., Kurek J., Vakakis N.: Effects of leukemia inhibitory factor and other cytokines on murine and human myoblast proliferation. *J. Neurol. Sci.*, 1992; 112: 185-191
- [11] Baumann H., Gaudie J.: Regulation of hepatic acute phase plasma protein genes by hepatocyte stimulating factors and other mediators of inflammation. *Mol. Biol. Med.*, 1990; 7: 147-159
- [12] Baumann H., Won K.-A., Jahreis G.P.: Human hepatocyte-stimulating factor-III and interleukin-6 are structurally and immunologically distinct but regulate the production of the same acute phase plasma proteins. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 8046-8051
- [13] Baumann H., Wong G.: Hepatocyte-stimulating factor III shares structural and functional identity with leukemia - inhibitory factor. *J. Immunol.*, 1989; 143: 1163-1167
- [14] Bhatt H., Brunet L., Stewart C.: Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 11408-11412
- [15] Block M.L., Berg M., McNamara M.: Passive immunization of mice against D-factor blocks lethality and cytokine release during endotoxaemia. *J. Exp. Med.*, 1993; 173: 1085-1090
- [16] Bower J., Vakakis N., Nicola N., Austin L.: Specific binding of leukemia inhibitory factor to murine myoblasts in culture. *J. Cell. Physiol.*, 1995; 164: 93-98
- [17] Brown M., Metcalf D., Gough N.: Leukemia inhibitory factor and interleukin 6 are expressed at very low levels in the normal adult mouse and are induced by inflammation. *Cytokine*, 1994; 6: 300-309
- [18] Budarf J., Emanuel B.S., Mohandas T., Goeddel D.V., Lowe D.G.: Human differentiation-stimulating factor (leukemia inhibitory factor, human interleukin DA) gene maps distal to the Ewing sarcoma breakpoint on 22q. *Cytogenet. Cell Genet.*, 1989; 52: 19-22
- [19] Campbell I.K., Waring P., Novak U., Hamilton J.A.: Production of leukemia inhibitory factor by human articular chondrocytes and cartilage in response to interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum.*, 1993; 36: 790-794
- [20] Carrol G., Bell M., Chapman H.: Leukemia inhibitory factor induces leukocyte infiltration and cartilage proteoglycan degradation in goat joints. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1995; 15: 567-573
- [21] Cheng T.C., Huang C.C., Chen C.I., Liu C.H., Hsieh Y.S., Huang C.Y., Lee M.S., Liu J.Y.: Leukemia inhibitory factor antisense oligonucleotide inhibits the development of murine embryos at preimplantation stages. *Biol. Reprod.*, 2004; 70: 1270-1276
- [22] Cornish J., Callon K.E., Edgar S.G., Reid I.R.: Leukemia inhibitory factor is mitogenic to osteoblasts. *Bone*, 1997; 21: 243-247
- [23] Cory S., Maekawa T., McNeill J., Metcalf D.: Murine erythroid cell lines derived with myc retroviruses respond to leukemia inhibitory factor, erythropoietin and interleukin-3. *Cell. Growth. Diff.*, 1991; 2: 165-172
- [24] Dazai S., Akita S., Hirano A., Rashid M.A., Naito S., Akino K., Fujii T.: Leukemia inhibitory factor enhances bone formation in calvarial bone defect. *J. Craniofac. Surg.*, 2000; 11: 513-520
- [25] Derigis H., Boswell H.: LIF mRNA expression is transcriptionally regulated in murine bone marrow stromal cells. *Leukemia*, 1993; 7: 630-634

- [26] Escary J.-L., Perreau J., Dumenil D., Ezine S., Brulet P.: Leukaemia inhibitory factor is necessary for maintenance of haematopoietic stem cells and thymocyte stimulation. *Nature*, 1993; 363: 361-364
- [27] Fairlie W.D., Uboldi A.D., McCoubrie J.E., Wang C.C., Lee E.F., Yao S., De Souza D.P., Mifsud S., Metcalf D., Nicola N.A., Norton R.S., Baca M.: Affinity maturation of leukemia inhibitory factor and conversion to potent antagonist of signaling. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 2125-2134
- [28] Fedorcsak P., Storeng R.: Effects of leptin and leukemia inhibitory factor on preimplantation development and STAT3 signaling of mouse embryos *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 2003; 69: 1531-1538
- [29] Ferrara N., Winer J., Henzel W.: Pituitary follicular cells secrete an inhibitor of aortic endothelial cell growth: identification as leukemia inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 698-702
- [30] Fukada K.: Purification and partial characterization of a cholinergic neuronal differentiation factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985; 82: 8795-8799
- [31] Gadiant R.A., Patterson P.H.: Leukemia inhibitory factor, interleukin 6, and other cytokines using GP130 transducing receptor: roles in inflammation and injury. *Stem Cells*, 1999; 17: 127-137
- [32] Gascan H., Anegón I., Praloran V., Naulet J., Godard A., Soullillou J.P., Jacques Y.: Constitutive production of human interleukin for DA cells/leukemia inhibitory factor by human tumor cell lines derived from various tissues. *J. Immunol.*, 1990; 144: 2592-2598
- [33] Gascan H., Godard A., Ferenz C., Naulet J., Praloran V., Peyrat M.A., Hewick R., Jacques Y., Moreau J.F., Soullillou J.P.: Characterization and NH2-terminal amino acid sequence of natural human interleukin for DA cells: leukemia inhibitory factor: differentiation inhibitory activity secreted by a T lymphoma cell line. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 21509-21515
- [34] Gascan H., Lemetayer J.: Induction of leukemia inhibitory factor secretion by interleukin-1 in a human T lymphoma cell line. *Lymphokine Cytokine Res.*, 1991; 10: 115-118
- [35] Gearing D., Gough N., King J., Hilton D.J., Nicola N.A., Simpson R.J., Nice E.C., Kelso A., Metcalf D.: Molecular cloning and expression of cDNA encoding a murine myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF). *E.M.B.O. J.*, 1987; 6: 3995-4002
- [36] Gearing D., Nicola N., Metcalf D., Foote S., Willson T.A., Gough N.M., Williams R.L.: Production of leukemia inhibitory factor in *Escherichia coli* by a novel procedure and its use in maintaining embryonic stem cells in culture. *Biotechnology*, 1989; 7: 1157-1161
- [37] Gearing D.P.: The leukemia inhibitory factor and its receptor. *Adv. Immunol.*, 1993; 53: 31-58
- [38] Gearing D.P., Druck T., Huebner K., Overhauser J., Gilbert D.J., Copeland N.G., Jenkins N.A.: The leukemia inhibitory factor receptor (LIFR) gene is located within a cluster of cytokine receptor loci on mouse chromosome 15 and human chromosome 5 p12-p13. *Genomics*, 1993; 18: 148-150
- [39] Giess R., Tanasescu I., Steck T., Sendtner M.: Leukemia inhibitory factor gene mutations in infertile women. *Mol. Hum. Reprod.*, 1999; 5: 581-586
- [40] Godard A., Gascan H., Naulet J., Peyrat M.A., Jacques Y., Soullillou J.P., Moreau J.F.: Biochemical characterization and purification of HILDA, a human lymphokine active on eosinophils and bone marrow cells. *Blood*, 1988; 71: 1618-1623
- [41] Godard A., Heymann D., Rahe S., Anegón I., Peyrat M.A., Le Mauff B., Mouray E., Gregoire M., Virdee K., Soullillou J.P.: High and low affinity receptors for human interleukin for DA cells/leukemia inhibitory factor on human cells. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 3214-3222
- [42] Gough N.M.: Molecular genetics of leukemia inhibitory factor (LIF) and its receptor. *Growth Factors*, 1992; 7: 175-179
- [43] Gough N.M., Gearing D.P., King J.A., Willson T.A., Hilton D.J., Nicola N.A., Metcalf D.: Molecular cloning and expression of the human homologue of the murine gene encoding myeloid leukaemia inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1988; 85: 2623-2627
- [44] Gough N.M., Williams R.L.: The pleiotropic actions of leukemia inhibitory factor. *Cancer Cells*, 1989; 1: 77-80
- [45] Gouin F., Heymann D., Rahe S., De Groote D., Passuti N., Daculsi G., Godard A.: Increased levels of leukaemia inhibitory factor (LIF) in urine and tissue culture supernatants from human primary bone tumours. *Cytokine*, 1998; 10: 110-114
- [46] Grolleau D., Soullillou J.-P., Anegón I.: Control of HILDA/LIF gene expression in activated human monocytes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1993; 19-30
- [47] Hamilton J., Waring P., Filonzi E.: Induction of leukemia inhibitory factor in human synovial fibroblasts by IL-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J. Immunol.*, 1993; 150: 1496-1502
- [48] Heinrich P.C., Behrman I., Muller-Newen G., Schaper F., Graeve L.: Interleukin-6-type cytokine signaling through the gp130/JAK/STAT pathway. *Biochem. J.*, 1998; 334: 297-314
- [49] Heymann D., L'tler E., Gugen J.-M.: Leukaemia inhibitory factor (LIF) production in pleural effusions: comparison with production of IL-4, IL-8, IL-10 and macrophage-colony stimulating factor (M-CSF). *Cytokine*, 1996; 8:410-416
- [50] Hilton D.: LIF: lots of interesting functions. *T.I.B.S.*, 1992; 17: 72-76
- [51] Hilton D., Nicola N., Metcalf D.: Purification of a murine leukemia inhibitory factor from Krebs ascites cells. *Annal. Biochem.*, 1988; 173: 359-367
- [52] Hilton D., Nicola N., Metcalf D.: Specific binding of murine leukemia inhibitory factor to normal and leukemic monocytic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988; 85: 5971-5975
- [53] Hilton D.J., Gough N.M.: Leukemia inhibitory factor: a biological perspective. *J. Cell Biochem.*, 1991; 46: 21-26
- [54] Hilton D.J., Nicola N.A.: Kinetic analyses of the binding of leukemia inhibitory factor to receptors on cells and membranes and in detergent solution. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 10238-10247
- [55] Hilton D.J., Nicola N.A., Metcalf D.: Distribution and comparison of receptors for leukemia inhibitory factor on murine haematopoietic and hepatic cells. *J. Cell. Physiol.*, 1991; 146: 207-215
- [56] Ishimi Y., Abe E., Jin C., Miyaura C., Hong M.H., Oshida M., Kurosawa H., Yamaguchi Y., Tomida M., Hozumi M., Suda T.: Leukemia inhibitory factor/differentiation-stimulating factor (LIF/D-factor): regulation of its production and possible roles in bone metabolism. *J. Cell. Physiol.*, 1992; 152: 71-78
- [57] Jędrzejczak W.W., Podolak-Dawidziak M.: Bioterapija cytokinami - nowy kierunek rozwoju medycyny. W: Jędrzejczak W.W., Podolak-Dawidziak M. (red.) *Cytokiny. Zastosowanie kliniczne*. Volumed, Wrocław 1997, 1-4
- [58] Jorens P.G., De Jongh R., Bossaert L.L., De Backer W., Herman A.G., Pollet H., Bosmans E., Taupin J.L., Moreau J.F.: High levels of leukaemia inhibitory factor in ARDS. *Cytokine*, 1996; 8: 873-876
- [59] Kazanowska B.: Chemiowrażliwe nowotwory tkanek miękkich u dzieci. Rokownicze znaczenie czynników klinicznych, biologicznych i molekularnych. Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wrocław 2003
- [60] Kellokumpu-Lehtinen P., Talpaz M., Hamis D., Van Q., Kurzrock R., Estrov Z.: Leukemia-inhibitory factor stimulates breast, kidney and prostate cancer cell proliferation by paracrine and autocrine pathways. *J. Cancer*, 1996; 66: 515-519
- [61] Knight D.: Leukemia inhibitory factor (LIF): a cytokine of emerging importance in chronic airway inflammation. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 2001; 14: 169-176
- [62] Kola I., Davey A., Gough N.: Localization of the murine leukemia inhibitory factor gene near the centromere on chromosome 11. *Growth Factors*, 1990; 2: 235-240
- [63] Koopman P., Cotton R.G.H.: A factor produced by feeder cells which inhibits embryonal carcinoma cell differentiation: characterization and partial purification. *Exp. Cell Res.*, 1984; 154: 233-242
- [64] Kordula T., Rokita H., Koj A., Fiers W., Gaudlie J., Baumann H.E.: Effects of interleukin 6 and leukemia inhibitory factor on the acute phase response and DNA synthesis in cultured rat hepatocytes. *Lymphokine Cytokine Res.*, 1991; 10: 23-26
- [65] Laird S.M., Tuckerman E.M., Dalton C.F., Dunphy B.C., Li T.C., Zhang X.: The production of leukaemia inhibitory factor by human endometrium: presence in uterine flushing and production by cells in culture. *Hum. Reprod.*, 1997; 12: 569-574
- [66] Layton M.J., Cross B.A., Metcalf D., Ward L.D., Simpson R.J., Nicola N.A.: A major binding protein for leukemia inhibitory factor in normal mouse serum: identification as a soluble form of the cellular receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 8616-8620
- [67] Le P.T., Lazorick S., Whichard L.: Human thymic epithelial cells produce IL-6, granulocyte-monocyte-CSF, and leukemia inhibitory factor. *J. Immunol.*, 1990; 145: 3310-3315
- [68] Leary A., Wong G., Clark S., Smith A.G., Ogawa M.: Leukemia inhibitory factor differentiation-inhibiting activity/human interleukin for DA cells augments proliferation of human hematopoietic stem cells. *Blood*, 1990; 75: 1960-1964
- [69] Lecron J.C., Roblot P., Chevalier S., Morel E., Alderman E., Gombert J.: High circulating leukaemia inhibitory factor (LIF) in patients with giant cell arteritis: independent regulation of LIF and IL-6 under corticosteroid therapy. *Clin. Exp. Immunol.*, 1993; 92: 23-26

- [70] Llombart-Bosch A., Pellin A., Carda C., Noguera R., Navarro S., Peydro-Olaya A.: Soft tissue Ewing sarcoma-peripheral primitive neuroectodermal tumor with atypical clear cell pattern shows a new type of EWS-FEV fusion transcript. *Diagn. Mol. Pathol.*, 2000; 9: 137-144
- [71] Lorgeot V., Praloran V., Turlure P., Demzot Y.: Concentration of serum leukemia inhibitory factor (LIF) in patients with hematologic malignancies. *Leukemia*, 1996; 11: 311
- [72] Lotz M., Moats T., Villiger P.M.: Leukemia inhibitory factor is expressed in cartilage and synovium and can contribute to the pathogenesis of arthritis. *J. Clin. Invest.*, 1992; 90: 888-896
- [73] Lowe D., Nunes W., Bombara M., McCabe S., Ranges G.E., Henzel W., Tomida M., Yamamoto Y.Y., Hozumi M., Goeddel D.V.: Genomic cloning and heterologous expression of human differentiation-stimulating factor. *DNA*, 1989; 8: 351-359
- [74] Lubbert M., Mantovani L., Lindermann A., Mertelmann R., Herrmann F.: Expression of leukemia inhibitory factor is regulated in human mesenchymal cells. *Leukemia*, 1991; 5: 361-365
- [75] Maekawa T., Metcalf D.: Clonal suppression of HL60 and U937 cells by recombinant leukemia inhibitory factor in combination with GM-CSF or G-CSF. *Leukemia*, 1989; 3: 270-276
- [76] Maekawa T., Metcalf D., Gearing D.P.: Enhanced suppression of human myeloid leukemic cell lines by combinations of IL-6, LIF, GM-CSF and G-CSF. *Int. J. Cancer*, 1990; 45: 353-358
- [77] Malaval L., Aubin J.E.: Biphasic effects of leukemia inhibitory factor on osteoblastic differentiation. *J. Cell Biochem.*, 2001; 81: 63-70
- [78] Malaval L., Gupta A.K., Liu F., Delmas P.D., Aubin J.E.: LIF, but not IL-6, regulates osteoprogenitor differentiation in rat calvaria cell cultures: modulation by dexamethasone. *J. Bone Miner. Res.*, 1998; 13: 175-184
- [79] Marshall J.S., Gauldie J., Nielsen L., Bienenstock J.: Leukemia inhibitory factor production by rat mast cells. *Eur. J. Immunol.*, 1993; 23: 2116-2120
- [80] Martinou J.-C., Martinou I., Kato A.: Cholinergic differentiation factor (CDF/LIF) promotes survival of isolated rat embryonic motoneurons *in vitro*. *Neuron*, 1992; 8: 737-744
- [81] McKenzie R.C., Paglia D., Kondo S., Sauder D.N.: A novel endogenous mediator of cutaneous inflammation: leukemia inhibitory factor. *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)*, 1996; 76: 111-114
- [82] McKenzie R.C., Szepletowski J.: Cutaneous leukemia inhibitory factor and its potential role in the development of skin tumors. *Dermatol. Surg.*, 2004; 30: 279-290
- [83] Metcalf D.: Leukemia inhibitory factor - a puzzling polyfunctional regulator. *Growth Factors*, 1992; 7: 169-173
- [84] Metcalf D.: The leukemia inhibitory factor (LIF). *Int. J. Cell Cloning*, 1991; 9: 95-108
- [85] Metcalf D., Gearing D.: Fatal syndrome in mice engrafted with cells producing high levels of leukemia inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 5948-5952
- [86] Metcalf D., Gearing D.P.: A myeloclerotic syndrome in mice engrafted with cells producing high levels of leukemia inhibitory factor (LIF). *Leukemia*, 1989; 3: 847-852
- [87] Metcalf D., Gough N.M., Stahl J., Hilton D.J., Nicola N.A.: Leukemia inhibitory factor. W: Human cytokines. Handbook for basic and clinical research. Aggarwal B.B., Gutterman J.U. (red) Blackwell Scientific Publications, Boston 1992, 253-269
- [88] Metcalf D., Hilton D., Nicola N.: Clonal analysis of the actions of the murine leukaemic and normal murine haemopoietic cells. *Leukemia*, 1988; 2: 216-221
- [89] Metcalf D., Nicola N., Gearing D.: Effects of injected leukemia inhibitory factor on hematopoietic and other tissues in mice. *Blood*, 1990; 76: 50-56
- [90] Moreau J.-F., Bonneville M., Godard A., Gascan H., Gruart V., Moore M.A., Souillou J.P.: Characterisation of a factor produced by human T-cell clones exhibiting eosinophil-activated and burst-promoting activities. *J. Immunol.*, 1987; 138: 3844-3849
- [91] Moreau J.-F., Donaldson D.D., Bennett F., Witek-Giannotti J., Clark S.C., Wong G.G.: Leukaemia inhibitory factor is identical to the myeloid growth factor interleukin for DA cells. *Nature*, 1988; 336: 690-692
- [92] Mori M., Yamaguchi K., Abe K.: Purification of a lipoprotein lipase-inhibiting protein produced by a melanoma cell line associated with cancer cachexia. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1989; 160: 1085-1092
- [93] Mori M., Yamaguchi K., Honda S., Nagasaki K., Veda M., Abe O., Abe K.: Cancer cachexia syndrome developed in nude mice bearing melanoma cells producing leukemia-inhibitory factor. *Cancer Res.*, 1991; 51: 6656-6659
- [94] Murphy M., Reid K., Hilton D., Barlett P.F.: Generation of sensory neurons is stimulated by leukemia inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 3498-3501
- [95] Noda M., Vogel R.L., Hasson D.M., Rodan G.A.: Leukemia inhibitory factor suppresses proliferation, alkaline phosphatase activity, and type I collagen messenger ribonucleic acid level and enhances osteoblast-like (MC3T3E1) cells. *Endocrinology*, 1990; 127: 185-190
- [96] Oliff A., Defea-Jones D., Boyer M.: Tumors secreting human TNF-cachectin induce cachexia in mice. *Cell*, 1987; 50: 555-583
- [97] Paglia D.: The role of leukemia inhibitory factor in skin biology. Masters of Science Thesis. Toronto 1996, 1-95
- [98] Paglia D., Kondo S., Ng K.-M.E., Sauder D.N., McKenzie R.C.: Leukemia inhibitory factor is expressed *in vitro* and *in vivo*. *Br. J. Dermatol.*, 1996; 134: 817-823
- [99] Paglia D., Oran A., Lu C., Kerbel R.S., Sauder D.N., McKenzie R.C.: Expression of leukemia inhibitory factor and interleukin-11 by human melanoma cell lines: LIF, IL-6 and IL-11 are not coregulated. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1995; 15: 455-460
- [100] Plun-Favreau H., Perret D., Diveu C., Froger J., Chevalier S., Lelievre E., Gascan H., Chabbert M.: Leukemia inhibitory factor (LIF), cardiotrophin-1 and oncostatin M share structural binding determinants in immunoglobulin-like domain of LIF receptor. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 27169-27179
- [101] Reid I., Lowe C., Cornish J., Skinner S.J., Hilton D.J., Willson T.A., Gearing D.P., Martin T.J.: Leukemia inhibitory factor: a novel bone-active cytokine. *Endocrinology*, 1990; 126: 1416-1420
- [102] Richards C.D., Langdon C., Deschamps P., Pennica D., Shaughnessy S.G.: Stimulation of osteoclast differentiation *in vitro* by mouse oncostatin M, leukaemia inhibitory factor, cardiotrophin-1 and interleukin 6: synergy with dexamethasone. *Cytokine*, 2000; 12: 613-621
- [103] Robak E., Sysa-Jędrzejowska A., Stępień H., Robak T.: Circulating interleukin-6 type cytokines in patients with systemic lupus erythematosus. *Eur. Cytokine Netw.*, 1997; 8: 281-286
- [104] Robb L., Dimitriadis E., Li R., Salamonsen L.A.: Leukemia inhibitory factor and interleukin-11: cytokines with key roles in implantation. *J. Reprod. Immunol.*, 2002; 57: 129-141
- [105] Robinson R., Grey L., Staunton D.: The crystal structure and biological function of leukemia inhibitory factor: implications for receptor binding. *Cell*, 1994; 77: 1101-1116
- [106] Rose T., Bruce A.: Oncostatin M is a member of a cytokine family that includes leukemia-inhibitory factor, and interleukin 6. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 8641-8645
- [107] Selleri L., Hermanson G.G., Eubanks J.H., Lewis K.A., Ewans G.A.: Molecular localization of the t(11; 22) (q24; q12) translocation of Ewing sarcoma by chromosome in situ suppression hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 887-891
- [108] Shen M., Leder P.: Leukemia inhibitory factor is expressed by selectively blocks primitive ectoderm formation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89: 8240-8244
- [109] Smith A.J., Heath J.K., Donaldson D.D., Wong G.G., Moore J., Stahl M., Rogers D.: Inhibition of pluripotential embryonic stem cell differentiation by purified polypeptides. *Nature*, 1988; 336: 688-690
- [110] Stahl J., Gearing D.P., Willson T.A., Brown M.A., King J.A., Gough N.M.: Structural organization of the genes for murine and human leukaemia inhibitory factor (LIF): evolutionary conservation of coding and non-coding regions. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 8833-8841
- [111] Stewart C.L., Kaspar P., Brunet L.J., Bhatt H., Gadi I., Kontgen F., Abbondanzo S.J.: Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature*, 1992; 359: 76-79
- [112] Sutherland G., Baker E., Hyland V., Callen D.F., Stahl J., Gough N.M.: The gene for human leukemia inhibitory factor (LIF) maps to 22q12. *Leukemia*, 1989; 3: 9-13
- [113] Szepletowski J.C., McKenzie R.C., Keohane S.G., Walker C., Aldrige R.D., Hunter J.A.A.: Leukaemia inhibitory factor: induction in the early phase of allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis*, 1997; 36: 21-25
- [114] Szepletowski J., Walker C., Hunter J.A.A., McKenzie R.C.: Elevated leukaemia inhibitory factor (LIF) expression in lesional psoriatic skin: correlation with interleukin (IL)-8 expression. *J. Dermatol.*, 2001; 28: 115-122
- [115] Szepletowski J.C., Walker C., McKenna D.B., Hunter J.A.A., McKenzie R.C.: Leukaemia inhibitory factor and interleukin-8 expression in nonmelanoma skin cancer. *Clin Exp Dermatol*, 2001; 26: 72-78



- [116] Tighe A.P., Gudas L.J.: Retinoic acid inhibits leukemia inhibitory factor signaling pathways in mouse embryonic stem cells. *J. Cell Physiol.*, 2004; 198: 225–229
- [117] Tomida M., Yamamoto-Yamaguchi Y., Hozumi M.: Purification of a factor inducing differentiation of mouse myeloid leukemic M1 cells from conditioned medium of mouse fibroblast L929 cells. *J. Biol. Chem.*, 1984; 259: 10978–10982
- [118] Turnley A.M., Barlett P.F.: Cytokines that signal through the leukemia inhibitory factor receptor-a complex in the nervous system. *J. Neurochem.*, 2000; 74: 889–899
- [119] Villiger P.M., Geng Y., Lotz M.: Induction of cytokine expression by leukemia inhibitory factor. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91: 1575–1581
- [120] Waring P., Wycherley K., Cary D., Nicola N., Metcalf D.: Leukemia inhibitory factor levels are elevated in septic shock and various inflammatory body fluids. *J. Clin. Invest.*, 1992; 90: 2031–2037
- [121] Waring P.M., Carrol G.J., Kandiah D.A., Buirski G., Metcalf D.: Increased levels of leukemia inhibitory factor in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheumatol.*, 1993; 36: 911–915
- [122] Wetzler M., Talpaz M., Lowe D., Baiocchi G., Gutterman J.U., Kurzrock R.: Constitutive expression of leukemia inhibitory factor RNA by human bone marrow stromal cells and modulation by IL-1, TNF- $\alpha$ , and TGF- $\beta$ . *Exp. Hematol.*, 1991; 19: 347–351
- [123] Williams R.L., Hilton D.J., Pease S., Willson T.A., Stewart C.L., Gearing D.P., Wagner E.F., Metcalf D., Nicola N.A., Gough N.M.: Myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF) maintains the developmental potential of embryonic stem cells. *Nature*, 1988; 336: 684–687
- [124] Willson T., Metcalf D., Gough N.: Cross-species comparison of the sequence of the leukaemia inhibitory factor gene and its protein. *Eur. J. Biochem.*, 1992; 204: 21–30
- [125] Yamamori T., Fakada K., Aebersold R., Korsching S., Fann M.J., Patterson P.H.: The cholinergic neuronal differentiation factor from heart cells is identical to leukemia inhibitory factor. *Science*, 1989; 246: 1412–1416