

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

BIOLOGIA MOLECOLARE E FUNZIONI DELLE CITOCHINE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

* Istituto di Farmacologia

** Istituto di Immunopatologia

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

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

RUOLO DELLE CITOCINE COME FATTORI DI CRESCITA E DI DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

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

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

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

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

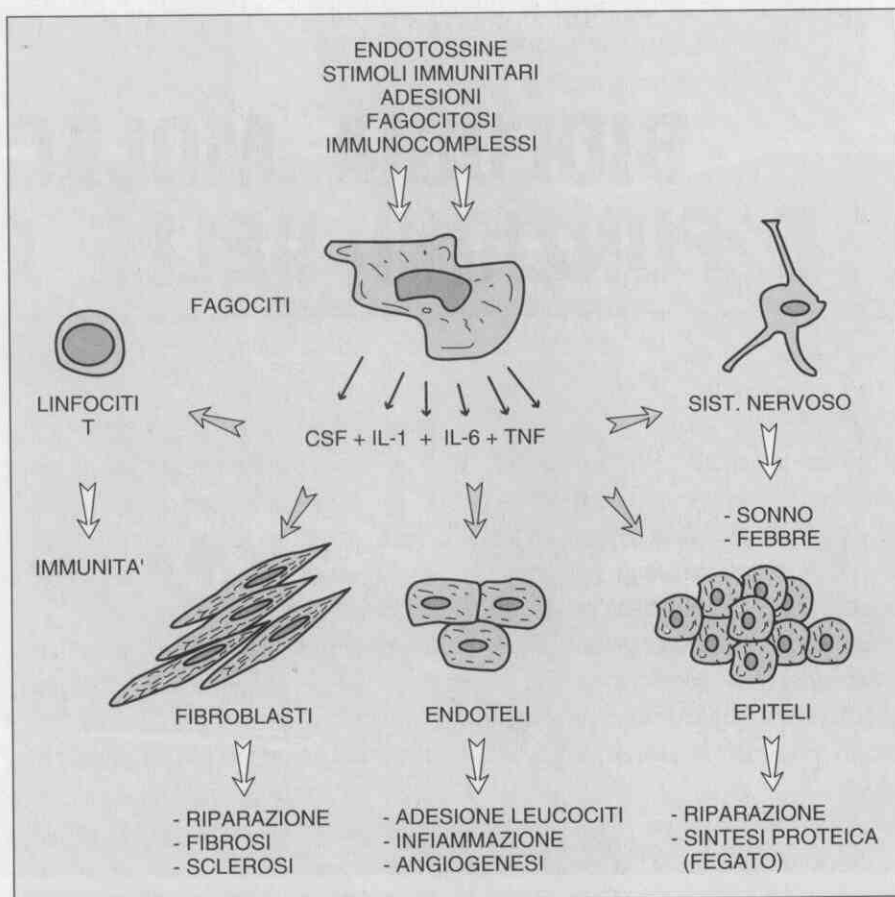


Fig. 1 - Rappresentazione schematica del pleiotropismo di funzioni caratterizzante l'azione delle citochine nella fisiologia dell'organismo. Vari stimoli di natura esogena od endogena innescano la produzione di citochine (citochine infiammatorie) da parte del sistema fagocitario. Questo meccanismo induce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

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

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

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

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

Tab. 1 - Citochine e fattori di crescita

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

