

NK buňky, chemokiny a chemokinové receptory

NK Cells, Chemokines and Chemokine Receptors

Kopecký J.¹, Kopecký O.^{2,3}

¹ Klinika onkologie a radioterapie, FN Hradec Králové

² II. interní klinika, FN Hradec Králové

³ Oddělení klinické onkologie, Oblastní nemocnice Náchod, a. s.

Souhrn

NK buňky jsou důležitou komponentou přirozené imunity, která zajišťuje obranné reakce proti virům, bakteriálním a parazitárním intracelulárním patogenům a nádorově změněným buňkám. NK buňky jsou schopny rychlé odpovědi bez předchozí senzibilizace a cytotoxická reakce není závislá na přítomnosti antigenů hlavního histokompatibilního systému. NK buňky produkují řadu cytokinů (např. INF- γ , GM-CSF a TNF- β) a chemokinů a touto cestou regulují jak přirozenou, tak získanou imunitní odpověď. Naproti tomu jsou pozitivně i negativně regulovány cytokiny a chemokiny produkovanými dalšími buňkami imunitního systému. Pozornost je zaměřena na možnost ovlivnění nádorového procesu pomocí NK buněk aktivovaných cytokiny a chemokiny. Ve studiích prováděných na myších modelech, ale i v několika klinických studiích bylo prokázáno, že přítomnost cytotoxických buněk v nádorovém stromatu je asociována s příznivější prognózou nádorového onemocnění. Existuje ale i množství dokladů, že v nádorovém stromatu dochází k produkci řady cytokinů a chemokinů, z nichž mnohé mají ambivalentní efekt.

Klíčová slova

NK buňky – chemokiny – chemokinové receptory – cytokiny

Summary

NK cells are an important component of natural immunity, which provides a defence response against viruses, bacterial and parasitic intracellular pathogens and tumour cells. NK cells are capable of rapid responses without prior sensitization and cytotoxic response is independent of the presence of the antigens of the major histocompatibility system. NK cells produce a number of cytokines (e.g. INF- γ , GM-CSF and TNF- β) and chemokines and in this way they regulate both the natural and acquired immune response. By contrast, NK cells are regulated both positively and negatively by cytokines and chemokines produced by other immune cells. Attention is focused on the possibility of influencing the tumour process by using cytokine- and chemokine-activated NK cells. In studies in mice models as well as in several clinical trials, it has been shown that the presence of cytotoxic cells in tumour stroma is associated with a more favourable prognosis of cancer. There is also plenty of evidence that in tumour stroma a number of cytokines and chemokines are produced which may have ambivalent effects.

Key words

natural killer cells – chemokines – chemokine receptors – cytokines

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



MUDr. Jindřich Kopecký
Klinika onkologie a radioterapie
FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: kopeckin@fnhk.cz

Obdrženo/Submitted: 4. 3. 2009

Přijato/Accepted: 10. 8. 2009

Úvod

NK buňky jsou důležitou komponentou přirozené imunity, která zajišťuje obranné reakce proti virům, bakteriálním a parazitárním intracelulárním patogenům a nádorově změněným buňkám. Po kontaktu s poškozenou buňkou jsou NK buňky schopny rychlé odpovědi bez předchozí senzibilizace a cytotoxická reakce není závislá na přítomnosti antigenů hlavního histokompatibilního systému [1–2]). NK buňky tvoří pouze 5–10% mononukleárních buněk v periferní krvi. Přesto jsou důležitou složkou přirozené imunity. NK buňky se nacházejí ve všech tělních kompartmentech, jejich zastoupení je však v některých orgánech odlišné. Například v lymfatických orgánech je počet NK buněk až 10krát vyšší než v periferní krvi [3]. Zvýšené počty NK buněk jsou nacházeny i v plicích, játrech nebo slezině [4].

Aktivované NK buňky produkují řadu cytokinů (např. INF- γ , GM-CSF a TNF- β) a chemokinů, které vedou k autokrinní a parakrinní aktivaci buněk podílejících se na imunitní reakci. Touto cestou jsou NK buňky schopny regulovat přirozenou i získanou imunitní odpověď [5–6]. Naproti tomu jsou pozitivně i negativně regulovány jak dalšími buňkami imunitního systému, tak poškozenými anebo nádorově transformovanými buňkami. V experimentálních studiích zabývajících se možností využití NK buněk v protinádorové terapii je zaměřena pozornost na roli chemokinů a jejich receptorů.

Ve studiích prováděných na myších modelech, ale i v několika klinických studiích bylo prokázáno, že průkaz cytotoxických buněk v nádorovém stromatu je asociován s příznivější prognózou onemocnění [7–9]. Přítomnost NK buněk v nádorovém stromatu je považována za jedno z prognostických znamení [10–13]. Naproti tomu existuje řada dokladů, že v nádorovém stromatu dochází také k produkci řady cytokinů a chemokinů, z nichž mnohé mají ambivalentní efekt. Nádorové stroma je z velké části tvořeno makrofágy, které jsou pod regulačním vlivem nádorových buněk a samy produkují mediátory, jež podporují proliferaci nádorových buněk, s nádorem spojenou angiogenezi a metastazování. Navíc chemokiny produkované v místě rostoucího nádoru jsou odpovědné za vstup neutro-

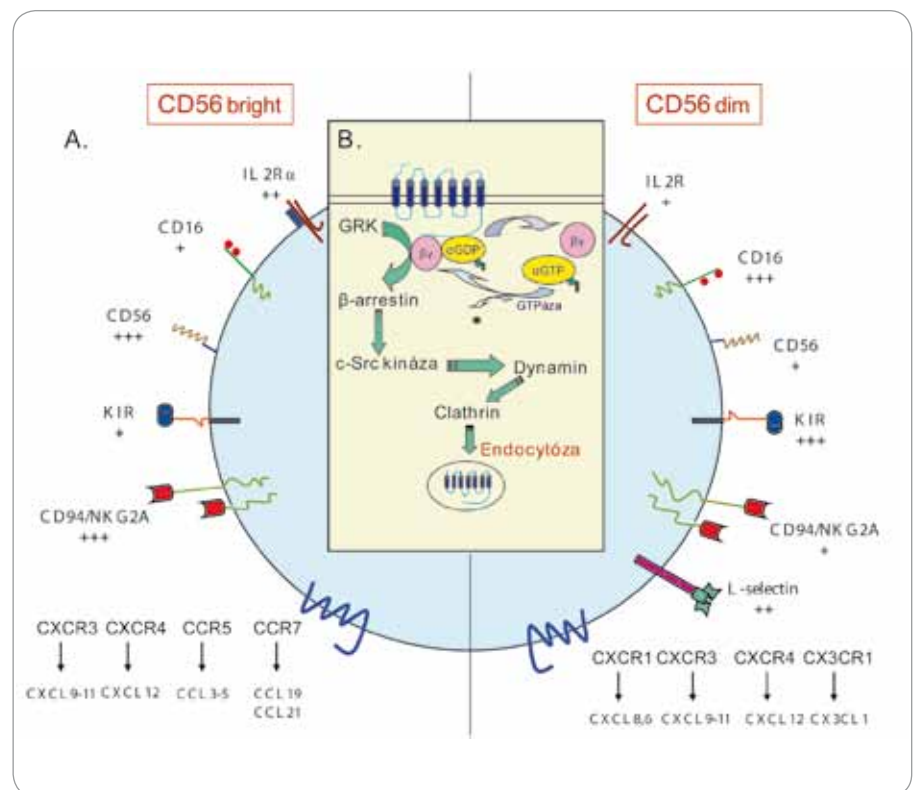
filních segmentů. Tyto leukocyty pak po vstupu do stromatu uvolňují další angiogenní faktory, mitogeny a proteolytické enzymy. Tímto mechanismem vzniká mikroprostředí příznivé pro nádorový růst a založení vzdálených metastáz [14].

NK buňky CD56^{dim} a CD56^{bright}

Na povrchu NK buněk můžeme prokázat řadu molekul, které mají funkci receptoru pro cytokiny, chemokiny, a adhezivní molekuly, pomocí nichž je možné NK buňky identifikovat a určovat jejich subpopulace (obr. 1). NK buňky nemají vyjádřen receptor pro T-lymfocyty (T-cell receptor – TCR), jsou CD3 negativní [15]. Naopak, všechny NK buňky nesou membránovou molekulu CD7. Hlavní pan NK membránovou molekulou je neurální buněčná adhezivní molekula (neural cell

adhesion molecule – NCAM) nesoucí označení CD56 [16]. Další povrchovou molekulou vyjádřenou na většině NK buněk je Fc γ RIII receptor označovaný jako CD16. Na základě exprese těchto dvou molekul rozlišujeme dvě hlavní subpopulace NK buněk, CD56^{dim}CD16⁺ a CD56^{bright}CD16^{dim/-}. Tyto subpopulace NK buněk vykazují funkční odlišnosti v odpovědi na stimulaci IL-2, v zastoupení NKR (natural killer receptors), adhezivních molekul a v cytotoxické kapacitě [17–18].

NK buňky CD56^{bright} exprimují na svém povrchu vysokoafinní receptor pro IL-2 tvořený řetězci α , β , γ (IL-2R $\alpha\beta\gamma$) (CD 25, CD122 a CD132) a expandují *in vitro* a *in vivo* podmínkách i po nízkých dávkách IL-2. Naopak CD56^{dim} exprimují nízkofinní receptory pro IL-2 tvořený ře-



Obr. 1. Membránové molekuly, aktivace a deaktivace receptoru NK buněk. A – Hlavní rozdíly exprese povrchových receptorů u NK bright a NK dim. Míra exprese membránových molekul je vyznačena pomocí znaménka +. B – Po stimulaci receptoru dochází ke konformačním změnám receptoru, které umožní změnu GDP na GTP vedoucí k disociaci $\beta\gamma$ podjednotky s α podjednotkou. Existují dvě cesty, jak docílit deaktivace receptorů. První je pomocí GTPázy urychlení hydrolyzy α GTP na α GDP. Druhou možností je zapojení G-protein-coupled-receptoru kinázy (GRK), která je po navázání na $\beta\gamma$ podjednotku schopna fosforylace receptoru. Fosforylovaný receptor se dále váže s β -arrestinem, nerekceptorovou tyrozin kinázou c-Src a dyaminem, který usnadňuje endocytózu receptoru pomocí clatrinu.

těžci α , β a jejich proliferační odpověď je nízká i na vysoké dávky IL-2. Schopnost usmrcovat terčové buňky je u CD56^{dim} buněk vyšší než u CD56^{bright}. Tato vlastnost CD56^{dim} buněk je dána přítomností velkého počtu cytoplazmatických granul obsahujících perforiny a granzimy a vyšší denzitou membránových receptorů pro Fc fragment IgG.

Subpopulace NK buněk mají odlišné zastoupení v jednotlivých tělních kompartmentech, CD56^{bright} buňky se nalézají v největším počtu v lymfatických uzlinách, zatímco CD56^{dim} jsou většinou populací v periferní krvi a slezině [3]. Všechny NK buňky CD56^{bright} mají vyjádřen s vysokou denzitou membránový receptor CD94/NKG2, který náleží do C-typ lecitinové rodiny, a jen malý počet (méně než 10%) těchto buněk exprimuje KIR (killer cell imunoglobulin-like receptor). Buňky CD56^{bright} mají na svém povrchu přítomny CC-chemokininový receptor 7 (CCR7) a s vysokou denzitou CXC receptor 3 (CXCR3). CD56^{bright} exprimují také adhezivní molekuly z rodiny L-selektinů, které zajišťují vazbu s cévním endotelem a umožňují přesun těchto buněk do sekundárních lymfatických orgánů, kde následně vstupují do interakcí s T-lymfocyty [19].

CD56^{dim} NK buňky mají v naprosté většině (až 85%) vysoce vyjádřeny KIR receptory a naopak nízkou denzitu CD94/NKG2. Povrchový CCR7 není přítomen, ale silně jsou vyjádřeny CXCR1 a CX3CR1.

Subpopulace NK buněk se liší i v produkci cytokinů, CD56^{bright} produkují mnohonásobně vyšší množství IFN- γ , TNF- β , GM-CSF, IL-10, a IL-13 než CD56^{dim} [17–18,20–21].

Chemokiny a chemokininové receptory

Chemokiny jsou jednou z nejpočetnějších cytokinových rodin, která čítá okolo 50 navzájem si podobných proteinů [22–23]. Jejich současná klasifikace je založena na rozdílném počtu aminokyselin oddělujících cysteinová rezidua na N-konci. Rozznává čtyři skupiny chemokínů: CXC (alfa chemokiny) CC (beta chemokiny), CX3C (delta chemokiny) a C (gama chemokiny). Skupiny CXC a CC se dále dělí na další podskupiny podle strukturálních homologií a biologických aktivit [24].

Za označením CC, CXC, CX3C a C následuje označení písmeny L pro ligandy či R pro receptor a na konci je uvedeno číslo, které odpovídá pořadí jeho objevení. Např. chemokin v literatuře často označován jako stromal derived factor 1 je dle klasifikace CXCL12 a jeho receptor je CXCR4 [25–27].

Klasifikace chemokininových receptorů kopíruje dělení chemokininových ligandů. Chemokininové receptory náleží do rodiny receptorů asociovaných s G proteinem tvořeným sedmi transmembránově probíhajícími doménami. G protein je heterotrimerická molekula složená z podjednotek α , β , γ . Prostřednictvím chemokininových receptorů a jejich ligand je uplatňován chemotaktický gradient vedoucí k polarizaci a migraci NK buněk do poškozených tkání.

V experimentálních pracích bylo doloženo, že se jeden chemokininový ligand může vázat na několik receptorů a naopak, jeden receptor může vázat různé chemokiny stejné skupiny. Dosud bylo rozpoznáno téměř 50 chemokínů a bylo popsáno nejméně 18 chemokininových receptorů [25].

Chemokiny hrají důležitou roli v koordinaci přirozené i získané imunitní odpovědi. Regulují pohyb nezralých progenitorových lymfoidních buněk, recirkulaci zralých naivních T- a B-lymfocytů. Chemokiny zajišťují i migraci antigen prezentujících buněk zahrnující jak dendritické buňky, tak i buňky z linií monocytů/mikrofágů. Chemokiny navíc zvyšují afinitu a aviditu β 1 a β 2 integrinů *na povrchu leukocytů k endoteliálním receptorům zahrnující intracelulární adhezivní molekulu 1 a 2 a vaskulární buněčnou adhezivní molekulu 1* [28].

Řada studií prokázala inhibiční efekt chemokínů na růst nádorů. Chemokiny CCL3 CCL21 CCL27 CX3CL1 uvolňované v místě nádoru přitahují cytotoxické T-lymfocyty, NK buňky a dendritické buňky, které se podílejí na účinné protinádorové odpovědi [29–33]. Chemokin CCL2 navíc reguluje vstup monocytů/makrofágů do nádorového stromatu a potencuje jejich cytotoxický protinádorový efekt [34]. CX3CL1 zesiluje protinádorovou aktivitu NK buněk [35]. Chemokin CCL5 je široce exprimován na různých imunokompetentních

buňkách, včetně aktivovaných NK buňkách, které se podílejí na inhibici nádorového růstu [36].

Chemokininové receptory na NK buňkách

Podle Cambella et al většina NK buněk silně exprimuje receptory CXCR1, CXCR4 a CX3CR1, naopak receptory CXCR2 a CXCR3 jsou podle jejich pozorování vyjádřeny slabě [37]. Práce jiných autorů však popisuje nález pouze receptoru CXCR4, a ne CXCR1, CX3CR1, CXCR2 a CXCR3 [38].

Naopak v případě receptorů pro CC chemokiny se shodují závěry dvou studií v absenci receptorů CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8 a CCR9 na povrchu klidových NK buněk. K zvýšení exprese receptorů CCR2, CCR4, CCR5 a CCR8 dochází až po in vitro aktivaci IL-2 nebo IL-15 [37–38].

Přítomnost povrchových receptorů pro chemokiny se u NK buněk liší podle exprese CD16 molekuly. NK buňky CD16⁺ mají silně vyjádřené molekuly CX3CR1, CXCR1 a CXCR4, slabě exprimované CXCR2 a CXCR3 molekuly, receptory CCR1–7, CCR9 a CXCR5 nejsou přítomny. Na NK buňkách CD16⁻ není membránový receptor pro CXCR1 detekován a receptor pro CX3CR1 je přítomen v nízké denzitě, zatímco receptory CCR5, CCR7, CXCR3 a CXCR4 jsou silně vyjádřeny. Membránové molekuly CCR1–4, CCR6, CCR9 a CXCR2 nejsou na CD16⁻ NK buňkách detekovány [37].

Vliv chemokínů na chemotaxi NK buněk

Nádorová tkáň je tvořena nejen nádorovými buňkami, ale i buňkami stromálních. Zatímco makrofágy a fibroblasty jsou nalézány v nádorovém stromatu konstantně, přítomnost ostatních populací imunokompetentních buněk je proměnlivá. Je prokázáno, že zánětlivá reakce a nádorový růst jsou úzce spojeny a v řadě případů mají i prognostický význam. Nález lymfocytárního infiltrátu v melanomové tkáni je spojen s příznivou prognózou, zatímco v případě karcinomu prsu je přítomnost zánětlivého infiltrátu spojena s horší prognózou.

Nádorové mikroprostředí určené interferony, interleukiny a zvláště che-

mokiny je rozhodující pro charakter zá-
nětlivé reakce. Vlivem chemotaktického
gradientu nádorového mikroprostředí
jsou přitahovány T-lymfocyty, dendri-
tické buňky, granulocyty, makrofágy
i NK buňky. Všechny uvedené buňky
mohou produkovat chemokiny a spolu
s chemokiny tvořenými nádorovými
buňkami mají určující vliv na charakter
zánětlivé reakce. Rozhodují o tom, zda
imunitní odpověď povede jako v pří-
padě melanomu k rejekci nádoru, nebo
naopak zvýší invazivitu a metastazování
tumoru pozorované u infiltrativního ná-
doru prsu [39].

Intracelulární signální cesty indukované chemokiny v NK buňkách

Přenos signálu zprostředkovaným che-
mokinem lze rozdělit do tří kroků: 1. na-
vázání chemokinu na receptor a interakce
s G proteinem, 2. aktivace intracelulární
efektorové molekuly, 3. inaktivace recep-
toru [40] (obr. 1).

Receptory pro chemokiny náležejí do
rodiny molekul tvořených sedmi trans-
membránovými doménami, které jsou
na COOH-konci asociovány s G protei-
nem. Mezi N-koncem (extracytoplazma-
tický) a COOH-koncem (intracytoplaz-
matický) je sedm transmembránových
hydrofobních oblastí receptoru. Vně
membrány se nachází tři extracelulární
domény a uvnitř tři intracelulární hydro-
filní domény. COOH-konec je bohatý na
serin/treonin, které jsou po navázání li-
gandu fosforylovány.

Protein G je tvořen třemi podjednot-
kami α , β , γ . Po navázání ligandu na ex-
tracelulární část molekuly dojde ke
konformačním změnám hydrofobních
oblastí, což je důležité pro zvýšení va-
zebné afinity k alfa podjednotce hetero-
trimerického G proteinu. Následně, alfa
podjednotka změní svou konformaci,
což umožní navázání GTP. Po této vazbě
nastane odštěpení β , γ podjednotky od
 α podjednotky. Prostřednictvím GTP- α
podjednotky dochází k aktivaci fosfoli-
pázy C a adenylát cyklázy [41]. Adeny-
lát cykláza je aktivována $G_{\alpha s}$ proteinem
a inhibován $G_{\alpha i}$, zatímco fosfolipáza C je
aktivována $G_{\alpha q}$. Jako sekundární mes-
sengery jsou uplatněny v případě adeny-
lát cyklázy cAMP a v případě fosfolipázy

C diacylglycerol a inositol 1,4,5 trifosfát.
Zpětnovazebná regulace chemokino-
vých receptorů probíhá dvěma způsoby.
První možností je hydrolyza GTP- α na
GDP- α GTPázou, s následnou rekonsti-
tucí heterotrimerického $G_{\alpha\beta\gamma}$ proteinu.
Druhou cestou je inaktivace zprostřed-
kovaná kinázou vázající se na β , γ pod-
jednotku G proteinu. Tato kináza fosfo-
ryluje COOH-konec receptoru vázaného
s G proteinem a způsobí cestou β -arres-
tinu, c-Src kinázou, dynaminu a clathrinu
endocytózu receptoru [40,42].

Závěr

V průběhu nádorového onemocnění jsou
aktivovány jak cytotoxické buňky (cyto-
toxické T-lymfocyty a NK buňky), tak další
buněčné populace (makrofágy, dendri-
tické buňky, B-lymfocyty), které mají spo-
lečně s nádorovými buňkami zásadní vliv
na charakter protinádorové imunitní od-
povědi. Přítomnost aktivovaných NK
buněk ještě není důkazem účinné proti-
nádorové odpovědi. Pro klinické využití
NK buněk jsou nezbytné detailní znalosti
biologických vlastností chemokinů a je-
jich receptorů a jejich vlivu na nádorové
mikroprostředí.

Literatura

- French AR, Yokoyama WM. Natural killer cells and viral infections. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 45–51.
- Smyth MJ, Godfrey DI, Trapani JA. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nat Immunol* 2001; 2: 293–299.
- Gregoire C, Chasson L, Luci C et al. The trafficking of natural killer cells. *Immunol Rev* 2007; 220: 169–182.
- Ferlazzo G, Thomas D, Lin SL et al. The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic. *J Immunol* 2004; 172: 1455–1462.
- Biron CA, Nguyen KB, Pien GC et al. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 189–220.
- Taub DD. Natural killer cell-chemokine interactions. Biologic effects on natural killer cell trafficking and cytotoxicity. In: Rollins BJ. *Chemokines and cancer*. Totowa: Humana Press Inc. 1999: 73–93.
- Jass JR. Lymphocytic infiltration and survival in rectal cancer. *J Clin Pathol* 1986; 39: 585–589.
- Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 203–213.
- Sato E, Olson SH, Ahn J et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 18538–18543.
- Coca S, Perez-Piqueras J, Martinez D et al. The prognostic significance of intratumoral natural killer cells in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 2320–2328.

- Hsia JY, Chen JT, Chen CY et al. Prognostic significance of intratumoral natural killer cells in primary resected esophageal squamous cell carcinoma. *Chang Gung Med J* 2005; 28: 335–340.
- Villegas FR, Coca S, Villarrubia VG et al. Prognostic significance of tumor infiltrating natural killer cells subset CD57 in patients with squamous cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002; 35: 23–28.
- Beano A, Signorino E, Evangelista A et al. Correlation between NK function and response to trastuzumab in metastatic breast cancer patients. *J Translat Med* 2008; 6: 25.
- Yan L, Anderson GM, DeWitte M et al. Therapeutic potential of cytokine and chemokine antagonists in cancer therapy. *Eur J Cancer* 2006; 42: 793–802.
- Robertson MJ, Ritz J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood* 1990; 76: 2421–2438.
- Lanier LL, Le AM, Civin CI et al. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1986; 136: 4480–4486.
- Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol* 2001; 22: 633–640.
- Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56bright subset. *Blood* 2001; 97: 3146–3151.
- André P, Spertini O, Guida S et al. Modification of P-selectin glykoprotein ligand-1 with natural killer cell-restricted sulfated lactosamine creates an alternate ligand for L-selectin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3400–3405.
- Jacobs R, Hintzen G, Kemper A et al. CD56bright cells differ in their KIR repertoire and cytotoxic features from CD56dim NK cells. *Eur J Immunol* 2001; 31: 3121–3126.
- Fehniger TA, Cooper MA, Nuovo GJ et al. CD56bright natural killer cells are present in human lymph nodes and are activated by T cell-derived IL-2: a potential new link between adaptive and innate immunity. *Blood* 2003; 101: 3052–3057.
- Rollins BJ. Chemokines. *Blood* 1990; 90: 909–928.
- Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 217–242.
- Rot A, von Andrian UH. Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokines grammar for immune cells. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 891–928.
- Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Imunity* 2000; 12: 121–127.
- Bacon K, Baggiolini M, Broxmeyer H et al. Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *J Interferon Cytokine Res* 2002; 22: 1067–1068.
- Muchy PM, Baggiolini M, Charo IF et al. International Union of Pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 145–176.
- Constantin G, Majeed M, Giagulli C et al. Chemokines trigger immediate $\beta 2$ integrin affinity and mobility changes: differential regulation and roles in lymphocyte arrest under flow. *Imunity* 2000; 13: 759–769.
- van Deventer HW, Serody JS, McKinnon et al. Transfection of macrophage inflammatory protein 1 α into B16, F10 melanoma cells inhibits growth of pulmonary metastases but not subcutaneous tumors. *J Immunol* 2002; 169: 1634–1639.
- Vicari AP, Ait-Yahia S, Chemin K et al. Antitumor effects of the mouse chemokine 6CKine/SLC through angiostatic and immunological mechanisms. *J Immunol* 2000; 165: 1992–2000.
- Gao JQ, Tsuda Y, Katayama K et al. Antitumor effect by interleukin-11 receptor α -locus chemokine/CCL27, introduced into tumor cells through a recombinant adenovirus vector. *Cancer Res* 2003; 63: 4420–4425.
- Guo J, Chen T, Wang B et al. Chemoattraction, adhesion and activation of natural killer cells are involved in the anti-tumor immune response induced by fractalkine/CX3CL1. *Immunol Lett* 2003; 89: 1–7.

33. Xin H, Kikuchi T, Andarini S et al. Antitumor immune response by CX3CL1 fractalkine gene transfer depends on both NK and T cells. *Eur J Immunol* 2005; 35: 1371–1380.
34. Ueno T, Toi M, Saji H et al. Significance of macrophage chemoattractant protein-1 in macrophage recruitment, angiogenesis, and survival in human breast cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3282.
35. Lavergne E, Combadiere B, Bonduelle O et al. Fractalkine mediates natural killer-dependent antitumor responses in vivo. *Cancer Res* 2003; 63: 7468.
36. Lavergne E, Combadiere C, Iga M et al. Intratumoral CC Chemokine Ligand 5 Overexpression Delays Tumor Growth and Increases Tumor Cell Infiltration. *J Immunol* 2004; 173: 3755–3762.
37. Campbell JJ, Qin S, Unutmaz D et al. Unique subpopulations of CD56+ NK and NK-T peripheral blood lymphocytes identified by chemokine receptor expression. *J Immunol* 2001; 166: 6477–6482.
38. Inngjerdigen M, Damaj B, Maghazachi AA. Expression and regulation of chemokine receptors in human natural killer cells. *Blood* 2001; 97: 367–375.
39. Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 540–550.
40. Maghazachi AA. Intracellular Signalling Pathways Induced by Chemokines in Natural Killer Cells. *Cell Signal* 1999; 11: 385–390.
41. Ji TH, Grossmann M, Ji I. G Protein-coupled Receptors. *J Biol Chem* 1998; 273: 17299–17302.
42. Maghazachi AA. Insights into seven and single transmembrane-spanning domain receptors and their signalling pathways in human natural killer cells. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 339–357.