

El factor de necrosis de los tumores o caquectina

JORGE E. OSSA

Se presenta una revisión de la literatura sobre el Factor de Necrosis de los Tumores o Caquectina, con base en artículos publicados durante los años 1986-1987, haciendo hincapié en las diferencias funcionales y moleculares entre el FNT Alfa, la Linfotoxina o FNT Beta y la Caquectina. Se enfatizan los mecanismos del shock, de la necrosis tumoral y de la caquexia; se indican las propiedades antitumorales del FNT *in vivo* e *in vitro* y se esbozan esquemas terapéuticos experimentales que permiten colegir que el FNT tendrá un papel importante en la inmunoterapia del cáncer en el hombre.

PALABRAS CLAVES

**FACTOR DE NECROSIS DE LOS TUMORES
CAQUECTINA
LINFOTOXINA
SHOCK ENDOTOXICO**

I. CONTENIDO

1. Objetivos
2. El Factor de Necrosis de los Tumores
3. La Linfotoxina
4. La Caquectina
5. Células productoras

II EFECTOS BIOLOGICOS

1. El shock
2. Efectos sobre las células
3. Otros efectos

III MECANISMOS DE ACCION

1. Mecanismos del shock
2. Mecanismos de necrosis tumoral
3. Mecanismo de la caquexia
4. Modelos experimentales
5. Receptores para el FNT
6. Efecto de los corticoides sobre el FNT
7. Otros inductores del FNT

IV ASPECTOS MOLECULARES

V ASPECTOS TERAPEUTICOS

INTRODUCCION

1. Objetivos

Durante los años 1986 y 1987 se publicó un sinnúmero de artículos sobre el Factor de Necrosis de los Tumores (FNT) o Caquectina, de cuyos hallazgos se desprende que juega un papel protagónico en procesos inflamatorios y enferme-

DR. JORGE E. OSSA, Profesor, Depto. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

dades que van desde el shock endotóxico hasta los tumores, así como en la regulación de funciones tan importantes como la expresión de antígenos de histocompatibilidad y la activación de células y funciones celulares.

Las funciones y la cinética de producción del FNT tienden a confundirse con las de otros mediadores como la Interleuquina 1 (IL-1) y los Interferones (IFNs), pero los estudios demuestran que se trata de una nueva familia de proteínas que actúan tanto independientemente como en sinergismo con aquéllos; el FNT podría ser el agente antineoplásico endógeno que complementaría la teoría de la *vigilancia inmunológica* propuesta desde la década de los años cincuenta, como un mecanismo de origen celular para prevenir el crecimiento de neoplasias.

Desde el punto de vista médico el FNT representa una gran esperanza para el posible desarrollo de esquemas de tratamiento específicos de la inflamación y los tumores; en esta oportunidad los estudios moleculares han avanzado más rápidamente que los clínicos; ello es, a la vez, una indicación de los cambios tecnológicos y la oportunidad de progresar sobre bases más firmes.

La presente revisión tiene por objeto analizar los aspectos más sobresalientes de las publicaciones sobre el FNT en el período mencionado, con énfasis en su naturaleza bioquímica, sus efectos biológicos, sus mecanismos de acción y sus perspectivas terapéuticas; todo ello con el fin de despertar el interés por esta área de la investigación cuyos productos prometen llegar a estar disponibles para beneficio de los pacientes.

2. El factor de necrosis de los tumores (FNT)

La asociación entre infección bacteriana y regresión de tumores fue descrita desde hace 100 años; posteriormente se confirmó el fenómeno (en 1891, 1931 y 1943) y se demostró que las endotoxinas son las responsables de la necrosis hemorrágica de algunos tumores en ratones; en 1962 se descubrió que en el suero de ratones en estado de shock aparece, minutos después de la aplicación de endotoxina, un factor capaz de inducir la necrosis de tumores transplantables; igualmente se halló que el factor necrotizante desaparece del suero varias horas después de la inoculación y que una nueva dosis de endotoxina no devuelve dicha actividad.

La historia moderna del FNT se inició en 1975, cuando la moda de la terapia antitumoral eran los in-

munopotenciadores, hoy llamados *modificadores de la respuesta inmune*; en ese año se demostró que el suero de ratones pretratados con BCG y subsecuentemente inyectados con lipopolisacárido (LPS) contiene una sustancia, diferente de la endotoxina, capaz de inducir la necrosis de algunos tumores; a este factor se lo denominó FNT.

3. La linfotoxina

En 1960 se descubrieron las linfotoxinas (LT), producidas por linfocitos estimulados con antígenos o mitógenos y capaces de causar lisis celular; en 1984 se caracterizó una LT producida por células linfoblásticas de tipo B y posteriormente se demostró su identidad con el FNT; al producto de los linfocitos se le dio el nombre de FNT Beta, reservándose la designación Alfa para el factor original.

4. La caquectina

Estudiando la fisiopatología de la caquexia en enfermedades crónicas se encontró la siguiente paradoja en conejos infectados con *Trypanosoma brucei*: estos animales presentaban hiperglicemia a pesar de la pérdida de grasa y de la disminución de la ingesta calórica; en 1981-1982 se demostró que este desarreglo metabólico era inducido por endotoxinas a través de un mediador que se denominó *caquectina* y que resultó ser idéntico al FNT.

5. Células productoras

El FNT ha estado asociado clásicamente con los macrófagos pero ya se ha mencionado que la LT o FNT Beta es producida por linfocitos B; además, se ha demostrado que también la producen los linfocitos T, tanto ayudadores (CD4) como supresores/clotóxicos (CD8); igualmente, está comprobada la producción del factor por parte de células NK (*Natural Killers*; *Asesinas Naturales*) en las cuales induce una elevación de la actividad citolítica.

II. EFECTOS BIOLÓGICOS

1. El shock

El FNT es el mediador secundario del shock y por lo tanto a él, y no a la endotoxina, se pueden atribuir directa o indirectamente todos los efectos asociados a la endotoxemia como son: diarrea; hipotermia en ratas y ratones; hipertermia en conejos y en humanos; piloerección; aumento del hematocrito y del lac-

tato; leucopenia seguida de leucocitosis; disminución de la glucosa plasmática; acidosis metabólica por desequilibrio calórico-proteico; neumonía intersticial; necrosis tubular aguda; lesiones isquémicas del tracto gastrointestinal, del páncreas, de las adrenales, etc.

2. Efectos sobre las células

Los efectos del FNT se ejercen, principalmente, sobre polimorfonucleares (PMN), macrófagos, células B, células endoteliales, adipocitos y preadipocitos y, en la médula ósea, sobre las células de la línea mieloide.

Sobre los PMN el FNT induce activación; aumento del consumo de oxígeno y de la producción del ion superóxido; aumento de la actividad bactericida y de la capacidad citolítica de los eosinófilos y aumento de la adhesividad para las células endoteliales; lo anterior ha hecho pensar que los daños inflamatorios de la endotoxemia sean debidos principalmente a los PMN; en los macrófagos se producen, igualmente, activación y aumento de la actividad microbicida; ésto último ha sido demostrado en experimentos con el *Trypanosoma cruzi*; sobre las células B el FNT actúa como mitógeno polidonal.

Sobre las células endoteliales el FNT aumenta la adhesividad para los PMN; induce la expresión de antígenos de histocompatibilidad de las clases I y II; aumenta la actividad procoagulante y disminuye la actividad de la trombomodulina, lo que lo compromete en la patogénesis de la coagulopatía de la endotoxemia; adicionalmente el FNT inhibe el crecimiento de las células endoteliales.

Finalmente, sobre las células del sistema hemopoyético, el FNT actúa como un factor de diferenciación de la línea mieloide.

3. Otros efectos

Además de la necrosis hemorrágica *in vivo* de algunos tumores, de la acción citostática o citolítica *in vitro* y del efecto sobre el metabolismo de la glucosa, el FNT (o caquectina) actúa sobre muchas otras funciones, como se describe seguidamente:

El FNT es un pirógeno endógeno que actúa sobre el hipotálamo, tanto en forma directa como indirecta por la inducción de prostaglandina que a su vez estimula la producción de IL-1 de fuentes periféricas; esto explica la curva bifásica de temperatura cuando se inocula el FNT en forma intravenosa.

La expresión de los antígenos de histocompatibilidad de las clases I y II se aumenta con el FNT, tanto en forma independiente como en sinergismo con el IFN Gama; es interesante mencionar que la combinación de estos factores, pero no el IFN solo, incrementa la expresión de los antígenos de la clase II en las células de los islotes pancreáticos; ello podría determinar el éxito o el fracaso de un trasplante de páncreas.

El FNT induce la producción del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, que es mitogénico para las células musculares de los vasos, por lo cual se piensa que puede estar involucrado en los mecanismos de cicatrización y en la formación de ateromas; al actuar sobre los fibroblastos de la dermis y sobre las células sinoviales, se aumenta la producción de colagenasa y de prostaglandina E lo que indica que participa en procesos inflamatorios agudos y crónicos; adicionalmente, induce reabsorción del calcio óseo y degradación del proteoglicán del cartilago.

Como el IFN, el FNT tiene un efecto antiviral que hasta el presente no ha sido completamente caracterizado; sin embargo, el FNT también puede estimular la replicación de los retrovirus y ésto, si se confirma, revolucionaría los conceptos sobre la patogénesis de las infecciones por este tipo de agentes.

El FNT induce fragmentación del ADN celular, la cual también puede ser ocasionada por los linfocitos T citotóxicos y por algunos virus.

En la práctica clínica el LPS se ha utilizado como adyuvante y como agente inductor de un estado de mayor resistencia a la infección; ambos efectos son mediados por el FNT.

Finalmente, el FNT también es el responsable de la reacción de Schwartzman que se produce en conejos inoculados con una pequeña dosis intradérmica de LPS, seguida a las 24 horas por una reinoculación intravenosa; después de la primera dosis se observa una inflamación leve y luego de la segunda hay necrosis en el sitio de la inoculación intradérmica.

III MECANISMOS DE ACCION

En primer lugar cabe recordar que la endotoxina es un producto de bacterias gram negativas y que sus efectos biológicos se deben exclusivamente al

LPS y no a las proteínas o a los ácidos nucleicos contaminantes; el LPS es una molécula muy compleja que consta de una fracción conocida como lípido A, mediante la cual se fija a la membrana celular; a continuación del lípido, hacia el exterior de la célula bacteriana, se encuentran el antígeno central y el somático que son los principales marcadores para la clasificación serológica de las bacterias.

El lípido A puede ser separado del resto de la molécula de LPS mediante tratamiento con un ácido débil y en esta forma se ha demostrado que es la parte de la molécula que induce tanto los efectos tóxicos como los posibles efectos benéficos del LPS; el FNT es el responsable directo o indirecto de tales efectos pero sus mecanismos de acción no están completamente establecidos; sin embargo, se pueden hacer las siguientes anotaciones:

1. Mecanismos del shock

El shock se explica por los daños causados por el FNT sobre las membranas celulares; a este nivel hay reducción del potencial transmembrana; secuestro de líquidos y electrolitos; permeabilización para el Na⁺ o ineficiencia de la ATPasa dependiente de Na⁺ y K⁺, que es la responsable de mantener el gradiente electroquímico; lo anterior conduce a la expansión del espacio intracelular.

2. Mecanismos de la necrosis tumoral

Desde los primeros estudios sobre el FNT se propuso que había un efecto directo de las endotoxinas sobre el sistema vascular, que conduciría a hipotensión, colapso vascular e isquemia en el sitio del tumor; ahora, cuando se ha producido el FNT en forma pura, se ha encontrado que tiene un fuerte efecto trombogénico que puede llevar a venoclusión mecánica a nivel tumoral y, por ende, a necrosis hemorrágica.

3. Mecanismo de la caquexia

En los adipocitos, *in vitro*, el FNT inhibe la producción de lipoproteína lipasa (LPL) y la diferenciación de los preadipocitos; la inhibición de la LPL se explica por la interferencia con la síntesis del ARN mensajero; la acción inhibitoria sobre la LPL la comparte el FNT con los IFNs y con la IL-1, pero el FNT es más potente.

4. Modelos experimentales

Un excelente modelo, descrito desde 1968 para estudiar algunos aspectos de los mecanismos de acción del FNT, son los ratones de las cepas C3H/he y C3H/hj, respectivamente susceptibles y resistentes a los efectos del LPS; si se inyecta el FNT por vía intravenosa los animales de ambas cepas presentan shock lo que indica que la resistencia o la susceptibilidad se dan a nivel de la interacción primaria entre el lípido A y las células del huésped.

Si se producen quimeras entre ratones resistentes y susceptibles, se encuentra que con su médula ósea se pueden transferir la resistencia o la susceptibilidad; la célula responsable de la transferencia parece ser el macrófago puesto que las bacterias intracelulares u otros estímulos que activan los macrófagos aumentan la susceptibilidad de los animales a los efectos del LPS; igualmente se ha demostrado que *in vitro*, los macrófagos estimulados con LPS generan un factor que induce shock; se trata del FNT.

Otro modelo para el estudio de los mecanismos de acción del FNT son las células tumorales resistentes que pueden encontrarse en el huésped portador del tumor o ser generadas *in vitro*; aún las células L-M (una línea celular de origen humano), que son las más susceptibles al factor, pueden dar origen a sublíneas resistentes; esto ha hecho pensar que el mismo FNT es capaz de inducir la regulación de la susceptibilidad de las células, pues se requiere una dosis mayor para lograr un efecto lítico en células previamente expuestas al factor; otra hipótesis propuesta para explicar este fenómeno es que al primer contacto mueren las células más susceptibles y sobreviven las más resistentes; sin embargo, el hecho de que la actinomicina D y la cicloheximida, que son inhibidoras de la síntesis de proteínas, confieran a las células mayor susceptibilidad, estaría indicando que éstas producen algún factor protector inducido por el mismo FNT.

5. Receptores para el FNT

Se sabe que existen receptores para el FNT y que posiblemente son de más de un tipo; el más conocido es una molécula de 75 kD, sensible a tripsina, a concanavalina A y a aglutinina del germen del trigo; el alfa metil manósido, por otra parte, contrarresta los efectos de la concanavalina A; por todo esto se supone que el factor tiene carácter glicoproteico; los re-

ceptores pueden aumentarse con interferones, especialmente con el gama, y con concanavalina A y aglutinina del germen del trigo, a pesar de que éstas últimas inhiben la unión del FNT; sin embargo, el aumento de los receptores no implica un aumento de la susceptibilidad de las células; a lo anterior se debe agregar que tanto las células murinas L929, que son susceptibles, como las diploides humanas FS-4, que son resistentes, tienen receptores para el FNT; ello indica que la susceptibilidad o la resistencia de las células está determinada por factores diferentes del receptor; dicho en otros términos, el receptor es necesario pero no suficiente para hacer a una célula susceptible; en los adipocitos se han calculado 10^4 receptores por célula.

A pesar de lo anterior, todavía no se sabe si las células tumorales tienen receptores para el FNT; la mejor demostración de que éste juega un papel en el estado canceroso fue hecha en 1987: se tomaron células tumorales CHO, que no son productoras de FNT, y se las transfeció con el gene del FNT incluido en un vector apropiado; los ratones inoculados con estas células presentaron caquexia y murieron más rápido que los controles inoculados con células CHO sin el gen, los cuales mantenían o aumentaban su peso; a este respecto cabe agregar que la caquexia y el debilitamiento causados por el FNT son factores que, obviamente, influyen en forma negativa los resultados de cualquier tipo de terapia.

6. Efecto de los corticoides sobre el FNT

Los corticoides inhiben la producción del FNT a nivel de la transcripción, pero no sus acciones una vez producido; esto explica, a nivel molecular, la ausencia de un efecto de los corticoides en el shock; explica, además, por qué los individuos adrenalectomizados son más susceptibles al mismo.

7. Otros inductores del FNT

Además del LPS, el éster del forbol, que actúa sobre la proteína quinasa C de las membranas celulares, también induce la producción del FNT; lo mismo hacen el ionóforo del calcio, que induce principalmente el FNT Alfa y algunos mitógenos que inducen el FNT Beta; otros inductores son la enterotoxina B del *Estafilococo*, el virus Sendai (paramixovirus) y el de la influenza (ortomixovirus).

IV. ASPECTOS MOLECULARES

En 1943 se aisló, a partir de la *Serratia marcescens* el agente activo productor del shock, que resultó ser el LPS; posteriormente, en 1962 y de nuevo en 1975, se encontró que el suero de animales en shock o de ratones inoculados con BCG y retados con LPS contenía un factor capaz de producir necrosis de algunos tumores *in vivo* y de células L-929 *in vitro*; en 1984, utilizando una línea celular promielocítica de origen humano (H1-60), se descubrió la forma de producir y purificar el factor; este trabajo hizo posible la posterior aplicación de técnicas de ingeniería genética para clonar y lograr la expresión del gene respectivo en *Escherichia coli*; el gene fue tomado de macrófagos alveolares humanos y la proteína sintetizada resultó tener 157 aminoácidos, peso molecular de 17 kD y un enlace disulfuro entre dos residuos de cisteína; esta proteína posee todas las características funcionales descritas para el FNT *in vivo* e *in vitro*.

El FNT de origen murino fue producido por recombinación genética y se ha podido comprobar que sus efectos son idénticos a los del de origen humano; sin embargo, algunos autores han reportado una especificidad de especie en el sentido de que el factor murino solamente actúa sobre células murinas y el humano sobre células humanas; algo similar se afirmó en un principio del IFN, pero con estudios adicionales han desaparecido parcialmente las barreras de especie; el factor murino tiene 17 kD, 156 aminoácidos, dos residuos de cisteína unidos por un enlace disulfuro y una homología aminoacídica del 79% con el factor humano; la principal diferencia entre los dos factores es que el murino parece tener un sitio de glicosilación cercano a la porción amino terminal.

El FNT Beta o LT también se ha producido en bacterias; se trata de una proteína de 25 kD, 171 aminoácidos y una homología con el factor Alfa del 51%; los genes para Alfa y Beta están muy cercanos en el genoma pero su regulación es independiente; en el hombre los genes para estas proteínas se encuentran en el cromosoma 6 cerca a los genes del complejo mayor de histocompatibilidad; en el ratón, por su parte, se encuentra en el cromosoma 17 a 70 kilobases del gen D del complejo H-2.

En el ratón, el conejo y el humano la estructura primaria del FNT es bien conocida; se produce en forma de una prohormona, inactiva *in vitro*, que se fragmenta para dar lugar a la parte activa; su produc-

ción tiene controles a nivel transcripcional y post-transcripcional, como para evitar accidentes; los corticoides, como ya se mencionó, son fuertes inhibidores del FNT a nivel de la transcripción y la inhibición es total cuando se los aplica antes del estímulo; la inhibición no ocurre si los corticoides se dan *a posteriori*.

Finalmente, cabe mencionar que se ha identificado una secuencia octamérica común entre los genes del FNT, el IFN y el factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos; tal secuencia, que parece contribuir dando un alto grado de inducibilidad a los genes que la poseen, consta de UUAUUUAU.

V. ASPECTOS TERAPEUTICOS

En pacientes con cáncer se han utilizado caldos de *Serratia* y de estreptococos, con resultados variables; el principal problema han sido siempre los efectos colaterales ya que si se destruye la toxicidad del LPS también se pierde el efecto benéfico; la esperanza de que el FNT puro no fuera tóxico, se desvaneció al demostrarse que los efectos indeseables son producidos por él mismo.

In vitro el FNT ha demostrado acción citostática contra carcinomas, sarcomas, melanomas y leucemias; algunas de las células también sufren efectos líticos; las células diploides humanas (normales) no son susceptibles pero se ha reportado que una variedad de las mismas, transformadas con el papilomavirus SV-40, son afectadas por el factor en formas citostática y citolítica.

In vivo se ha experimentado con ratones *desnudos* (atímicos) a los cuales se les han trasplantado tumores tanto de origen murino como humano; una dosis de 300 Unidades/ratón, inoculada intratumoralmente, puede inducir regresión del tumor en 24 horas; si la aplicación se hace por vía intravenosa es necesario aumentar la dosis para lograr el mismo efecto; una remisión total se ha logrado con dosis de 3.000 U/ratón; cuando el tumor está trasplantado intradérmicamente la mejor ruta es la intratumoral y cuando lo está intramuscularmente es más efectiva la intravenosa.

El esquema de administrar dosis diarias durante 7 días fue el más efectivo de los varios probados; esto se demostró en experimentos con melanoma y adenocarcinoma murinos, trasplantados a ratones singénicos; se logró una remisión completa en 15 y

7 días, respectivamente, con 10.000 U/ratón por vía intratumoral.

Igualmente con melanoma y carcinoma pulmonar humanos trasplantados a ratones atímicos hubo remisión a los 41 días después de 4 inyecciones intratumorales con intervalos de 6 días; es interesante destacar que en el caso del melanoma murino no se afectó la supervivencia a pesar de que se redujo la masa tumoral; esto podría explicarse por posibles metástasis, pues aparentemente la inyección local del factor no afecta los focos tumorales lejanos del sitio de la inoculación.

SUMMARY

This is a review of the 1986-1987 literature on the Tumor Necrosis Factor (TNF) or Cachectin, emphasizing functional and molecular differences among TNF alpha, lymphotoxin or TNF beta and Cachectin. Mechanisms of shock, tumor necrosis and cachexia are discussed. *In vivo* and *in vitro* antitumoral properties of TNF are indicated, as well as some experimental therapeutic regimens. These facts allow the suggestion that TNF might become an important aid for immunotherapy of cancer in humans.

BIBLIOGRAFIA

1. ADAMS B, REGENASS URS, CERLETTI N. An efficient method for the purification of tumor necrosis factor from rabbit serum. *Lymphokine Res* 1987; 6: 203-214.
2. BAUSS F, DROGE W, MANNEL DN. Tumor necrosis factor mediates endotoxic effects in mice *Infect Immun* 1987; 55: 1622-1625
3. BEUTLER B, CERAMI A. Cachectin/Tumor necrosis factor: an endogenous mediator of shock and inflammation. *Immunol Res* 1986; 5: 281-293.
4. BEUTLER B, CERAMI A. Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *New Engl J Med* 1987; 316: 379-385.
5. CERAMI A, BEUTLER B. The role of cachectin TNF in endotoxic shock and cachexia. *Immunol Today* 1988; 9: 28-31.
6. CUTURI MC, MURPHY M, COSTA-GIOMI MP, et al. Independent regulation of tumor necrosis factor and lymphotoxin production by human peripheral lymphocytes. *J Exp Med* 1987; 165: 1581-1594.

7. HAJJAR KA, HAJJAR DP, SILVERSTEIN RL. et al. Tumor necrosis factor-mediated release of platelet-derived growth factor from cultured endothelial cells. *J Exp Med* 1987; 166: 235-245.
8. HOFFMAN MK. The effects of tumor necrosis on the production of interleukin 1 by macrophages. *Lymphokine Res* 1986; 5: 255-260.
9. KAWASAKI H, MORIYAMA M, OHTANI Y, et al. Restoration of normal febrile response to endotoxin in pyrogen-tolerant rabbits by injection with human beta interferon. *Infect Immun* 1987; 55: 2574-2578.
10. MANNEL DN. Biological aspects of tumor necrosis factor. *Immunobiol* 1986; 172: 283-290.
11. MANNEL DN, FALK W, NORTHOFF H. Endotoxic activities of tumor necrosis factor independent of IL-1 secretion by macrophages/monocytes. *Lymphokine Res* 1988; 6: 151-159.
12. NAKANO K, ABE S, SOHMURA Y. Recombinant human tumor necrosis factor. I. Cytotoxic activity *in vitro*. *Int J Immunopharmacol* 1986; 8: 347-355.
13. NISSEN-MEYER J, ESPEVIK T. Effect of antisera against recombinant tumor necrosis factor and the monocyte-derived cytotoxins on monocyte-mediated killing of various tumor cells. *Cell Immunol* 1987; 109: 384-396.
14. OLIFF A, DEFEO-JONES D, BOYER M. et al. Tumors secreting human TNF/cachectin induce cachexia in mice. *Cell* 1987; 50: 555-563.
15. STENSEN ME, THIELE DL, LYPSEY PE. Tumor necrosis factor- α enhances cytolytic activity of human natural killer cells. *J Immunol* 1987; 138: 4185-4191.
16. SCHMID DS, HORNUNG R, MCGRATH DK, et al. Target cell DNA fragmentation is mediated by lymphotoxin and tumor necrosis factor. *Lymphokine Res* 1987; 6: 195-202.
17. SHALABY MR, PENNICA D, PALLADINO MA. An overview of the history and biologic properties of tumor necrosis factors. *Springer Sem Immunopathol* 1986; pp. 1-5.
18. SOHMURA Y, NAKATA K, YOSHIDA H, et al. Recombinant human tumor necrosis factor II. Antitumor effects on murine and human tumors transplants in mice. *Int J Immunopharmacol* 1986; 8: 357-368.
19. TSUJIMOTO M, YIP YK, VILCEK J. Interferon- γ enhances expression of cellular receptors for tumor necrosis factor. *J Immunol* 1986; 136: 2441-2444.
20. TURNER M, LONDEI M, FELDMANN M. Human T cells from autoimmune and normal individuals can produce tumor necrosis factor. *Eur J Immunol* 1987; 17: 1807-1814.
21. URBAN JL, SHEPARD HM, ROTHSTEIN JR. et al. Tumor necrosis factor: a potent effector molecule for tumor cell killing by activated macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5233-5237.
22. YAGI MJ, HOLLAND JF, BEKESI JG. Tumor necrosis factor enhances murine SL-3 retrovirus replication. *J Clin Lab Immunol* 1987; 24: 129-134.