



ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at
www.elsevier.es/ad



NOVEDADES EN DERMATOLOGÍA

Papel de las quimiocinas en la progresión del melanoma[☆]

C. Monteagudo^{a,*}, A. Pellín-Carcelén^a, J.M. Martín^b y D. Ramos^a

^a Departamento de Patología, Universidad de Valencia, Valencia, España

^b Servicio de Dermatología, Hospital Clínico Universitario-INCLIVA, Universidad de Valencia, Valencia, España

Recibido el 6 de enero de 2011; aceptado el 8 de marzo de 2011

Accesible en línea el 30 de abril de 2011

PALABRAS CLAVE

Quimiocinas;
Metastasis;
Melanoma;
Receptores

KEYWORDS

Chemokines;
Metastasis;
Melanoma;
Receptors

Resumen Las metástasis son la principal causa de mortalidad en el melanoma. Las quimiocinas son citocinas quimiotácticas de bajo peso molecular que permiten la migración celular, atrayendo a células que expresan sus receptores. Como algunas quimiocinas son abundantes en órganos que son asiento común de metástasis, y sus receptores son expresados por las células tumorales, se planteó la hipótesis de que un gradiente de estas quimiocinas facilitaría selectivamente las metástasis a esos órganos. El hallazgo posterior de la producción de estas quimiocinas por las propias células tumorales, y su efecto autocrino, obliga a modular esta hipótesis. Además, muchas quimiocinas tienen efectos contrapuestos dependiendo del tipo celular sobre el que actúan (tumoral, inflamatorio/ inmunitario, endotelial), su estado funcional y otras interacciones moleculares. En el melanoma las células tumorales adquieren ventajas de la expresión de quimiocinas y receptores alterando su microambiente, estimulando la angiogénesis y evadiendo la respuesta inmune, facilitando así la progresión tumoral.

© 2011 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

Role of Chemokines in Melanoma Progression

Abstract Metastasis is the main cause of death from melanoma. Chemokines are low molecular weight chemotactic cytokines that facilitate cellular migration. Thus, cells that express receptors for a given chemokine are attracted to the site of its production. As certain chemokines are found in abundance in organs that are common targets of metastasis and receptors for these chemokines are expressed by tumor cells, it was hypothesized that chemokine gradients might selectively facilitate metastasis to these organs. A later finding that these chemokines were produced by tumor cells, with evidence of autocrine effects, obliged the modification of that

[☆] Financiado con la ayuda FIS PI071203 del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I + D + I), Instituto de Salud Carlos III-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, y la convocatoria IMPULSA de la Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunitat Valenciana y la Fundación Bancaria.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: Carlos.Monteagudo@uv.es (C. Monteagudo).

hypothesis. Many chemokines are also known to have opposing effects according to the type of cell they are acting on (tumor, inflammatory/immune, or endothelial cells), their functional status, or interactions with other molecules. The expression of chemokines and their receptors by melanoma cells enhances tumor progression by altering their microenvironment, stimulating angiogenesis, and inhibiting the immune response.

© 2011 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

Introducción

El melanoma es el tipo de cáncer que más ha aumentado de frecuencia en el mundo en los últimos años, y en estos pacientes el desarrollo de metástasis es el indicador más fuertemente asociado a una alta mortalidad, dada la ausencia de tratamientos claramente efectivos¹. Las variaciones en la expresión de determinadas quimiocinas y sus correspondientes receptores han sido propuestas como mecanismos moleculares que intervienen de forma relevante, favoreciendo o dificultando la diseminación metastásica del melanoma²⁻⁵. La comprensión de los mecanismos moleculares que permiten la progresión tumoral en el melanoma es un paso esencial que puede permitir, en última instancia, no sólo predecir, sino intervenir de forma terapéutica para evitar dicho proceso.

Las quimiocinas

Las quimiocinas son una familia de citocinas quimiotácticas de bajo peso molecular (8-17 kilodaltons) que provocan respuestas de migración celular dirigida, y que son a su vez inducidas por citocinas inflamatorias, factores de crecimiento y estímulos patógenos^{3,5}. Se han agrupado en cuatro familias: CXC, CC, CX3C y XC, en función de la posición de las dos primeras cisteínas situadas cerca de la región amino-terminal. Se conocen hasta ahora más de 50 quimiocinas que reconocen al menos 19 receptores celulares^{3,5} (tabla 1). Un mismo receptor puede reconocer varias quimiocinas o ligandos, pero hay 6 receptores que reconocen un único ligando. Se considera actualmente que cualquier tipo celular puede expresar quimiocinas y/ o receptores⁶. La expresión de estos receptores en una célula depende de su estirpe, de la fase de diferenciación, de la concentración de quimiocinas producidas en su microambiente, de las citocinas inflamatorias y de la existencia de hipoxia local⁵. La unión de estas quimiocinas a sus receptores en la superficie celular conlleva una serie compleja de respuestas celulares, como la activación de varias vías de señalización celular y reorganización del citoesqueleto, que favorecen la formación de pseudópodos y permiten el movimiento celular. Los receptores de quimiocinas actúan a través de proteínas G heterotriméricas que regulan vías de transducción que incluyen MAP cinasas, fosfolipasa C β , fosfoinositol-3 cinasa, RAS y GTPasas de la familia Rho^{4,7,8}. Se ha destacado la participación de RhoC en el desarrollo de metástasis⁹. Existen además mecanismos de colaboración entre quimiocinas y metaloproteinasas¹⁰⁻¹².

Distribución selectiva de las metástasis

Uno de los grandes enigmas de la patología oncológica en los últimos dos siglos ha residido en aclarar las causas por las

que se producen metástasis selectivamente en ciertos órganos y no en otros, independientemente del flujo sanguíneo que reciben y, por tanto, de la cantidad de células neoplásicas circulantes que llegan a ellos¹³. Fue Stephen Paget quien, tras estudiar datos de más de 900 autopsias, demostró que las metástasis en dichos órganos no se producían por azar, sino que ciertas células tumorales ("la semilla") tenían especial afinidad por el microambiente de algunos órganos ("el terreno"), proponiendo así en 1889 la hipótesis, todavía vigente, de la semilla y el terreno¹⁴ para explicar este fenómeno.

Además, la localización de las metástasis a distancia tiene en el melanoma valor pronóstico. Así, metástasis cutáneas, subcutáneas y de ganglios linfáticos distantes se acompañan de una mayor supervivencia que las metástasis viscerales, y en este sentido, actualmente el *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) subclasifica las metástasis en: M1a para las metástasis a distancia cutáneas, subcutáneas y ganglionares, M1b para las pulmonares y M1c para las de otras localizaciones viscerales¹⁵.

A lo largo de la última década se ha señalado el papel protagonista que desempeñan las quimiocinas y sus receptores en la diseminación neoplásica^{4,16}. Muller et al⁴ encontraron una sobreexpresión de CXCR4, CCR10 y CCR7 en líneas celulares de melanoma. Dado que CXCL12, el ligando de CXCR4, se detecta de forma preferente en ganglios linfáticos, pulmón, hígado y médula ósea, estos autores postularon

Tabla 1 Clasificación de las quimiocinas y sus receptores

Familia	Receptor	Quimiocinas
CXC	CXCR1	CXCL6 y 8
	CXCR2	CXCL1, 2, 3, 5, 6, 7, y 8
	CXCR3	CXCL9, 10 y 11
	CXCR4	CXCL12
	CXCR5	CXCL13
	CXCR6	CXCL16
	CXCR7	CXCL11 y 12
CC	CCR1	CCL3, 4, 5, 7, 14, 15, 16, y 23
	CCR2	CCL2, 7, 8, 12, y 13
	CCR3	CCL5, 7, 11, 13, 15, 24, 26, y 28
	CCR4	CCL2, 3, 5, 17, y 22
	CCR5	CCL3, 4, 5, y 8
	CCR6	CCL20
	CCR7	CCL19 y 21
	CCR8	CCL1, 4, y 17
	CCR9	CCL25
	CCR10	CCL27 y 28
CX3C	CX3CR1	CX3CL1
XC	XCR1	XCL1 y 2

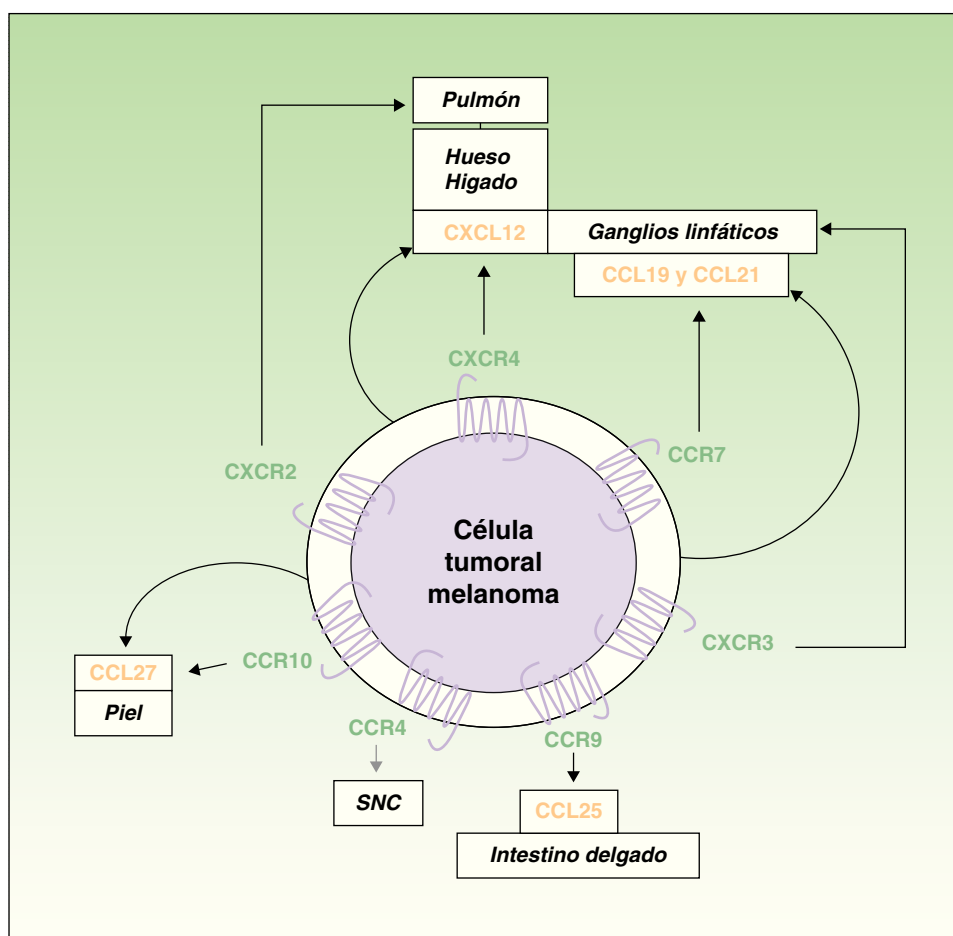


Figura 1 Participación de las quimiocinas y receptores en la distribución selectiva de las metástasis en los pacientes con melanoma cutáneo: las flechas gruesas negras corresponden a interacciones bien caracterizadas quimiocinas-receptor. Las flechas gruesas grises indican asociaciones potenciales no completamente caracterizadas. Las flechas curvas delgadas representan la producción autóloga de las quimiocinas (ligandos) por las propias células tumorales con efectos autocrinos.

su papel en la distribución selectiva de las metástasis en estas localizaciones (fig. 1). Apoyando esta hipótesis se detectó la expresión de CXCR4 en metástasis subcutáneas y ganglionares de melanomas humanos, y en líneas celulares de melanoma donde facilitaban la adhesión y migración de las células tumorales merced a las interacciones con sus ligandos⁷. Las interacciones CXCR4 y CXCL12 son responsables de la migración celular durante la embriogénesis, de la movilización de células madre hematopoyéticas^{5,17}, y se acepta su papel en la diseminación neoplásica^{4,5}. Al menos una subpoblación de células neoplásicas expresa CXCR4 en muchos tipos de cáncer⁵. Las situaciones, como la hipoxia, que aumentan la activación del llamado "factor inducible por hipoxia", producen un incremento en la expresión de CXCR4 en células neoplásicas¹⁸. El único ligando conocido de CXCR4 es CXCL12, una quimiocina de 68 aminoácidos que tiene propiedades angiogénicas¹⁹, promueve el crecimiento tumoral^{19,20} y facilita la invasión tisular incrementando la producción de varias metaloproteinasas¹¹. En el melanoma B16, un melanoma de ratón muy bien caracterizado experimentalmente en cuanto a su potencial metastásico, las células tumorales transfectadas con CXCR4 mostraron una capacidad 10 veces mayor de desarrollar metástasis pulmonares²¹.

En el melanoma es también importante el papel desempeñado por el receptor CCR7, cuyos ligandos (CCL19 y CCL21) se expresan en los vasos linfáticos dérmicos, áreas paracorticales ganglionares y vénulas de células endoteliales altas de los ganglios linfáticos^{22,23}. Las interacciones de CCR7 con sus ligandos han sido implicadas en el desarrollo de metástasis ganglionares de melanoma en un modelo experimental en ratones²³ (fig. 1). Se ha descrito asimismo la existencia de mecanismos de regulación de la expresión de los ligandos de CCR7, y en particular CCL21, en los ganglios linfáticos donde se han desarrollado las metástasis por melanoma^{24,25}. Pero la intervención de CCL21 y CCR7 en el proceso metastásico es más compleja, como comentaremos más adelante.

Es un fenómeno bien conocido que los melanomas tienen una particular tendencia a producir metástasis cutáneas. Se ha propuesto la participación en este proceso del receptor CCR10, cuyo ligando, CCL27, se expresa predominantemente en las células basales de la epidermis⁴ (fig. 1). Asimismo, no es infrecuente que pacientes con diseminación hematogénea por melanoma tengan metástasis gastrointestinales²⁶. CCR9 participa en el desarrollo de metástasis en el intestino delgado, donde se expresa su ligando CCL25²⁷ (fig. 1). Recientemente se ha implicado el

receptor CCR4 en las metástasis cerebrales de melanoma²⁸ (fig. 1).

Sin embargo, se ha demostrado en los últimos años una expresión coordinada por las propias células tumorales de distintos tipos de cáncer, incluyendo el melanoma, no sólo de los receptores, sino también de las propias quimiocinas, condicionando así circuitos o bucles autocrinos en las propias células tumorales, en particular los correspondientes a CXCL12-CXCR4 y CCL21-CCR7, que desempeñan un papel esencial en el crecimiento y migración tumoral, y por tanto en una mayor agresividad de las células tumorales. Estos circuitos autocrinos estimulan la capacidad de proliferación y/o invasión y diseminación metastásica de las células tumorales^{29,30}.

Angiogénesis

La angiogénesis es un fenómeno esencial para el crecimiento tumoral y se correlaciona con el desarrollo de metástasis. La participación de las quimiocinas en este punto es asimismo compleja. En general, son angiogénicas las quimiocinas CXC con dominios "glu-leu-arg" (ERL), concretamente CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL7 y CXCL8 (todas ellas ligandos de CXCR2), así como CXCL12 (que no tiene dominios ERL)³. Es particularmente potente como angiogénico CXCL8, cuyos receptores CXCR1 y CXCR2 se expresan en células endoteliales³¹. CXCL8 ejerce en buena medida su acción induciendo la producción de metaloproteinasas MMP2 y MMP9, y también del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), activando este último de forma autocrina a su receptor en las mismas células endoteliales³¹. Por el contrario, son anti-angiogénicas CXCL4, CXCL9, CXCL10 y CXCL11³.

Respuesta inmune

Las quimiocinas actúan como mediadoras en el reclutamiento de diferentes tipos celulares en el microambiente tumoral, como linfocitos, macrófagos y neutrófilos asociados a tumores (TAM y TAN), fibroblastos, células madre mesenquimales y células endoteliales³. En este sentido ha sido importante el reconocimiento de dos tipos de TAM y TAN, los de tipo 1, antitumorales y los tipo 2, protumorales^{32,33}. En cuanto a los linfocitos se ha propuesto que una respuesta Th1, que es mayor en melanomas en regresión^{34,35}, tiene un efecto antitumoral, mientras que una Th2 facilita la progresión tumoral, pero la situación es más compleja. Así, por ejemplo, se pone de manifiesto con las quimiocinas CXCL10 y CXCL4, ya que ambas tienen afinidad por CXCR3 y tienen efectos opuestos. CXCL10 induce la producción por las células T de la citocina Th1 interferón- γ , mientras que CXCL4 promueve las citocinas Th2, interleucinas 4, 5 y 13³⁶. Al parecer, CXCL10 actúa preferentemente sobre CXCR3A, mientras CXCL4 se une a la variante del mismo receptor CXCR3B³⁶. Existen cada vez más evidencias de que las quimiocinas presentes en los tumores humanos contribuyen más en general al crecimiento tumoral, progresión e inmunosupresión que a producir una respuesta antitumoral efectiva³⁷. Pero lo cierto es que las interacciones quimiocina-receptor en unos casos potencian y en otros dificultan la respuesta inmune. Así, la expresión de CCL27

es un importante inductor de la respuesta inmune en neoplasias de células escamosas, y su inhibición contribuye a la evasión de la respuesta inmune que favorece la progresión tumoral³⁸. De hecho, la expresión de CCL27 es más baja en metástasis de melanoma en comparación con melanomas primarios cutáneos³⁹. Sin embargo, la sobreexpresión de CCR10, el receptor de CCL27 por células de melanoma B16, probablemente estimulada por los altos niveles de CCL27 de origen epidérmico, parece aumentar la resistencia de estas células a la respuesta inmune antitumoral, y protege de la apoptosis mediada por Fas⁴⁰. De hecho, la transducción de células de melanoma B16 con CCR10, con la consiguiente producción de niveles altos de este receptor por las células tumorales, incrementa de forma notable la formación de metástasis ganglionares en ratones a los que han sido inyectadas previamente en la piel⁴¹. Asimismo, se ha descrito una expresión inmunohistoquímica de CCR10 más alta en melanomas primarios con ganglio centinela positivo que en aquellos en los que es negativo⁴¹.

También existen datos contradictorios respecto a la influencia de CXCL12 en la respuesta inmune antitumoral. La producción de CXCL12 por células neoplásicas puede disminuir la respuesta inmune frente al tumor debido a que atrae y promueve la supervivencia de células precursoras de células dendríticas (pre-DC2), que expresan CXCR4, y altera la distribución, inmunidad y estímulo de la fibrosis de las células pre-CD1, condicionando el que células dendríticas inmaduras no presenten antígenos del tumor⁴². Sin embargo, según otros autores⁴³ la producción de CXCL12 por células de melanoma B16F1 modificadas genéticamente para secretar esta quimiocina, e inyectadas en ratones inmunocompetentes, tuvo como resultado que fueran rechazadas en el 50% de los casos, induciendo respuestas de memoria específicas de tumor. En este sentido, la secreción de CXCL12 por células de melanoma modificadas genéticamente atrae a linfocitos T cutáneos CXCR4-positivos en cultivos organotípicos y facilita la regresión tumoral⁴⁴.

Una de las aportaciones más recientes y llamativas en este tema se refiere a CCL21. En circunstancias normales esta quimiocina es producida por las células reticulares fibroblásticas paracorticales (FRC) de los ganglios linfáticos, y atrae a ese lugar tanto a las células presentadoras de antígenos como a las propias células tumorales de melanomas, ya que ambas expresan su receptor CCR7. Se ha demostrado que las células tumorales de distintos cánceres, y entre ellos los melanomas, pueden producir CCL19 y CCL21 en situaciones de flujo intersticial lento, lo que conlleva un efecto autocrino que se ha denominado "quimiotaxis autóloga" y que potencia la migración celular en el sentido del flujo hacia los vasos linfáticos³⁰. Cuando se comparó el comportamiento de las células de melanoma B16 con alta expresión de CCL21 con las de baja expresión, en implantes en ratones inmunocompetentes singénicos, se comprobó cómo las primeras daban lugar a tumores más grandes que las segundas, y ello a pesar de que las ricas en CCL21 atraían a más leucocitos y células presentadoras de antígenos a los tumores. Este efecto, que no se observa *in vitro*, depende de la reacción del huésped, ya que no se produce si los ratones son inmunodeficientes. Es decir, que una alta producción endógena por las células tumorales de CCL21 en melanomas favorece la inmunotolerancia y por tanto la mayor progresión tumoral⁴⁵. Los tumores ricos en CCL21 tenían más células T reguladoras

CD4+, CD25+, FoxP3+ y más TGF β 1, que favorece el cambio fenotípico de macrófagos M1 (antitumorales) a M2 (protumorales). Tenían también células inductoras de tejido linfoide (LTi), así como una red de células FRC y algunos vasos con características de vénulas de células endoteliales altas. Sin embargo, los tumores pobres en CCL21 tenían una respuesta fundamentalmente T citotóxica, con mayor producción de interferón- γ e interleucinas 2 y 4⁴⁵.

Supervivencia de las células tumorales

CXCL12 promueve la supervivencia de las células neoplásicas que expresan CXCR4 cuando crecen en condiciones subóptimas, como la hipoxia, que se dan con frecuencia en los cánceres¹⁸. Además, CXCL12 puede estimular la producción de metaloproteinasas, lo que facilita la invasión tisular por las células neoplásicas¹¹. La interacción de CXCL9 con CXCR3, presente en células tumorales, también potencia su supervivencia⁴⁶ y, asimismo, la migración transendotelial de células de melanoma⁴⁷. De hecho, una alta expresión tanto de CXCR4 como de CXCR3 por las células tumorales de melanomas es un signo de mal pronóstico en estos pacientes⁴⁸⁻⁵⁰, aunque, por otro lado, una expresión alta de CXCR3 en los linfocitos circulantes en pacientes con melanoma en estadio III es un indicador de buena respuesta inmune antitumoral⁵¹. Además, niveles altos de CXCL10 reducen la capacidad proliferativa e invasiva de los melanomas³⁵. Queda por aclarar el papel de CXCR7, un receptor más recientemente descrito, que liga tanto CXCL12 como CXCL11, a los que parece eliminar, y cuyo efecto en los melanomas no está aclarado³.

La acción de los ligandos de CXCR2 durante la progresión tumoral es compleja. Resulta un tanto enigmático el hecho de que la señalización de quimiocinas a través de CXCR2 induzca senescencia en las primeras fases del desarrollo tumoral, pero no en las posteriores, donde además ejerce acciones protumorigénicas, lo que quizá se deba a las alteraciones genéticas que se van sumando en las células neoplásicas⁵². Así, una alta expresión de CXCR1 y CXCR2 en células de melanoma les confiere un fenotipo agresivo en función de una mayor capacidad proliferativa, de migración y crecimiento tumoral^{53,54}. También, de forma similar, se considera "bifásica" y no totalmente aclarada la participación de CCL2⁵⁵.

Un aspecto interesante corresponde a la situación de las células tumorales que quedan aisladas en el proceso de migración y diseminación, y que por tanto son susceptibles de sufrir un tipo especial de apoptosis denominado "anoikis". Pues bien, CXCR4 y CCR7 permiten a estas células evitar la anoikis reduciendo la expresión del factor modificador de bcl-2⁵⁶.

Dianas terapéuticas

La confirmación de que la expresión de determinados receptores de quimiocinas, y sus ligandos correspondientes, condicionan el desarrollo de metástasis, ha llevado a proponer el empleo de moléculas antagonistas, bloqueadoras o inactivadoras de dichos receptores y ligandos, para evitar el proceso de diseminación metastásica del melanoma. Así, la neutralización de la interacción de algunas quimiocinas con sus receptores, como CXCL12 con CXCR4, o CCL19 y CCL21

con CCR7, evitaría previsiblemente el desarrollo de metástasis. Estudios preclínicos en melanomas y otros cánceres parecen confirmar esta hipótesis^{4,19,57,58}. La multiplicidad e importancia de las funciones fisiológicas de las interacciones CXCL12-CXCR4 puede frenar su empleo en pacientes con melanoma. Sin embargo, CXCR4 es la diana terapéutica frente a la que más se está actuando en otros cánceres (mieloma múltiple o leucemias)³.

Existen evidencias de que la expresión de CXCL8 en melanomas funciona como un factor de crecimiento autocrino o paracrino, angiogénico y de capacidad invasiva, intervención dependiente de sus receptores, CXCR1 y CXCR2, y por tanto se consideran estos últimos como una diana terapéutica potencial³¹. Así, anticuerpos neutralizantes o humanizados, o moléculas inhibidoras de estos receptores (SCH-479833 y SCH-527123) inhiben, en ratones inmunodeficientes, la proliferación y crecimiento invasivo y metastático del melanoma⁵⁹. No hay que olvidar que otras moléculas antagonistas para estos dos receptores (repertaxin para CXCR1, o SB-225002 y SB-332235 para CXCR2) ya se han empleado en procesos inflamatorios³¹.

Resulta especialmente paradójico que si una alta producción endógena de CCL21 por las células tumorales de melanomas provoca inmunosupresión, la aportación exógena de esta quimiocina produzca, sin embargo, un efecto antitumoral efectivo⁶⁰. Por ello hay que ser cautos a la hora de utilizar antagonistas de CCL21, como el recientemente propuesto Chemotrap-1, que inhibe CCL21 y, a consecuencia de ello, la migración *in vitro* e *in vivo* de células de melanoma hacia los vasos linfáticos y las metástasis en tránsito⁶¹.

Conclusiones

La participación de quimiocinas y sus receptores en la progresión del melanoma es importante, compleja y dinámica, y depende tanto de características de las células tumorales como de aquellas otras presentes en el microambiente tumoral del huésped. Estas interacciones celulares y moleculares determinan si predomina un efecto potenciador que favorezca la progresión tumoral, o un efecto antitumoral, que permita la regresión o al menos la estabilización del melanoma. Por ello, se impone cautela dado el papel esencial que interacciones como CXCR4-CXCL12 desempeñan en el funcionamiento de los distintos órganos y sistemas del paciente, hasta disponer de un conocimiento más preciso de las múltiples facetas de estas interacciones. Su empleo en algunos cánceres o en procesos inflamatorios se ha iniciado, y será una fuente importante de información que permita conocer las ventajas e inconvenientes de estas manipulaciones antes de emplearlas en pacientes con melanoma.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Kuphal S, Bosserhoff A. Recent progress in understanding the pathology of malignant melanoma. *J Pathol.* 2009;219: 400-9.

2. Richmond A, Yang J, Su Y. The good and the bad of chemokines/chemokine receptors in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2009;22:175–86.
3. Lazennec G, Richmond A. Chemokines and chemokine receptors: new insights into cancer-related inflammation. *Trends Mol Med.* 2010;16:133–44.
4. Müller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature.* 2001;410:50–6.
5. Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:540–50.
6. Tanaka T, Bai Z, Srinoulprasert Y, Yang BG, Hayasaka H, Miyasaka M. Chemokines in tumor progression and metastasis. *Cancer Sci.* 2005;96:317–22.
7. Robledo MM, Bartolomé RA, Longo N, Rodríguez-Frade JM, Mellado M, Longo I, et al. Expression of functional chemokine receptors CXCR3 and CXCR4 on human melanoma cells. *J Biol Chem.* 2001;276:45098–105.
8. Thelen M, Stein JV. How chemokines invite leukocytes to dance. *Nat Immunol.* 2008;9:953–9.
9. Clark EA, Golub TR, Lander ES, Hynes RO. Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for RhoC. *Nature.* 2000;406:532–5.
10. Van den Steen PE, Proost P, Wuyts A, Van Damme J, Opendakker G. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO- α and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood.* 2000;96:2673–81.
11. Bartolomé RA, Gálvez BG, Longo N, Baleux F, Van Muijen GN, Sánchez-Mateos P. Stromal cell-derived factor-1 α promotes melanoma cell invasion across basement membranes involving stimulation of membrane-type 1 matrix metalloproteinase and Rho GTPase activities. *Cancer Res.* 2004;64:2534–43.
12. Bartolomé RA, Ferreiro S, Miquilena-Colina ME, Martínez-Prats L, Soto-Montenegro ML, García-Bernal D, et al. The chemokine receptor CXCR4 and the metalloproteinase MT1-MMP are mutually required during melanoma metastasis to lungs. *Am J Pathol.* 2009;174:602–12.
13. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. *Nature Rev Cancer.* 2003;3:453–8.
14. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet.* 1889;1:571–3.
15. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, Thompson JF, Atkins MB, Byrd DR, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol.* 2009;27:6199–206.
16. Liotta L. An attractive force in metastasis. *Nature.* 2001;410:24–5.
17. Peled A, Petit I, Kollet O, Magid M, Ponomaryov T, Byk T, et al. Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. *Science.* 1999;283:845–8.
18. Schioppa T, Uranchimeg B, Sacconi A, Biswas SK, Doni A, Rapisarda A, et al. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia. *J Exp Med.* 2003;198:1391–402.
19. Guleng B, Tateishi K, Ohta M, Kanai F, Jazag A, Ijichi H, et al. Blockade of the stromal cell-derived factor/CXCR4 axis attenuates in vivo tumor growth by inhibiting angiogenesis in a vascular endothelial growth factor-independent manner. *Cancer Res.* 2005;65:5864–71.
20. Orimo A, Gupta PB, SgROI DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell.* 2005;121:335–48.
21. Murakami T, Maki W, Cardones AR, Fang H, Tun Kyi A, Nestle FO, et al. Expression of CXC chemokine receptor-4 enhances the pulmonary metastatic potential of murine B16 melanoma cells. *Cancer Res.* 2002;62:7328–34.
22. Forster R, Ohl L, Henning G. Lessons learned from lymphocytes: CC chemokine receptor-7 involved in lymphogenic metastasis of melanoma. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1588–9.
23. Wiley HE, González EB, Maki W, Wu MT, Hwang ST. Expression of CC chemokine receptor-7 and regional lymph node metastasis of B16 murine melanoma. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1638–43.
24. Takeuchi H, Fujimoto A, Tanaka M, Yamano T, Hsueh E, Hoon DS. CCL21 chemokine regulates receptor CCR7 bearing malignant melanoma cells. *Clin Cancer Res.* 2004;10:2351–8.
25. Carrière V, Colisson R, Jiguet-Jiglaire C, Bellard E, Bouche G, Al Saati T, et al. Cancer cells regulate lymphocyte recruitment and leukocyte-endothelium interactions in the tumor-draining lymph node. *Cancer Res.* 2005;65:11639–48.
26. Blecker D, Abraham S, Furth EE, Kochman ML. Melanoma in the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol.* 1999;94:3427–33.
27. Amersi FF, Terando AM, Goto Y, Scolyer RA, Thompson JF, Tran AN, et al. Activation of CCR9 / CCL25 in cutaneous melanoma mediates preferential metastasis to the small intestine. *Clin Cancer Res.* 2008;14:638–45.
28. Izraely S, Klein A, Sagi-Assif O, Meshel T, Tsarfaty G, Hoon DS, et al. Chemokine-chemokine receptor axes in melanoma brain metastasis. *Immunol Lett.* 2010;130:107–14.
29. Kang H, Mansel RE, Liang WG. Genetic manipulation of stromal cell-derived factor-1 attests the pivotal role of the autocrine SDF-1-CXCR4 pathway in the aggressiveness of breast cancer cells. *Int J Oncol.* 2005;26:1429–34.
30. Shields JD, Fleury ME, Yong C, Tomei AA, Randolph GJ, Swartz MA. Autologous chemotaxis as a mechanism of tumor cell homing to lymphatics via interstitial flow and autocrine CCR7 signaling. *Cancer Cell.* 2007;11:526–38.
31. Singh S, Singh AP, Sharma B, Owen LB, Singh RK. CXCL8 and its cognate receptors in melanoma progression and metastasis. *Future Oncol.* 2010;6:111–6.
32. Mantovani A, Bonecchi R, Locati M. Tuning inflammation and immunity by chemokine sequestration: decoys and more. *Nat Rev Immunol.* 2006;6:907–18.
33. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : “N1” versus “N2” TAN. *Cancer Cell.* 2009;16:183–94.
34. Lowes MA, Bishop GA, Crotty K, Barnetson RC, Halliday GM. T Helper 1 cytokine mRNA is increased in spontaneously regressing primary melanomas. *J Invest Dermatol.* 1997;108:914–9.
35. Antonicelli FF, Lorin J, Kurdykowski S, Gangloff SC, Le Naour R, Sallenave JM, et al. CXCL10 reduces melanoma proliferation and invasivity in vitro and in vivo. *Br J Dermatol.* 2011;164:720–8.
36. Romagnani P, Maggi L, Mazzinghi B, Cosmi L, Lasagni L, Liotta F, et al. CXCR3-mediated opposite effects of CXCL10 and CXCL4 on TH1 or TH2 cytokine production. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:1372–9.
37. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow. *Lancet.* 2001;357:539–45.
38. Pivarcsi A, Müller A, Hippe A, Rieker J, van Lierop A, Steinhoff M, et al. Tumor immune escape by the loss of homeostatic chemokine expression. *P Natl Acad Sci USA.* 2007;104:19055–60.
39. Jaeger J, Koczan D, Thiesen HJ, Ibrahim SM, Gross G, Spang R, et al. Gene expression signatures for tumor progression, tumor subtype, and tumor thickness in laser-microdissected melanoma tissues. *Clin Cancer Res.* 2007;13:806–15.
40. Murakami T, Cardones AR, Finkelstein SE, Restifo NP, Klauenberg BA, Nestle FO, et al. Immune evasion by murine melanoma mediated through chemokine receptor-10. *J Exp Med.* 2003;198:1337–47.
41. Simonetti O, Goteri G, Lucarini G, Filosa A, Pieramici T, Rubini C, et al. Potential role of CCL27 and CCR10 expression in melanoma progression and immune escape. *Eur J Cancer.* 2006;42:1181–7.

42. Zou W, Machelon V, Coulomb-L'Hermin A, Borvak J, Nome F, Isaeva T, et al. Stromal-derived factor-1 in human tumors recruits and alters the function of plasmacytoid precursor dendritic cells. *Nature Med.* 2001;7:1339–46.
43. Dunussi-Joannopoulos K, Zuberek K, Runyon K, Hawley RG, Wong A, Erickson J, et al. Efficacious immunomodulatory activity of the chemokine stromal cell-derived factor 1 (SDF-1): local secretion of SDF-1 at the tumor site serves as T-cell chemoattractant and mediates T-cell-dependent antitumor responses. *Blood.* 2002;100:1551–8.
44. Zhang T, Somasundaram R, Berencsi K, Caputo L, Rani P, Guerry D, et al. CXC chemokine ligand 12 (stromal cell-derived factor 1 alpha) and CXCR4-dependent migration of CTLs toward melanoma cells in organotypic culture. *J Immunol.* 2005;174:5856–63.
45. Shields JD, Kourtis IC, Tomei AA, Roberts JM, Swartz MA. Induction of lymphoidlike stroma and immune escape by tumors that express the chemokine CCL21. *Science.* 2010;328:749–52.
46. Kawada K, Sonoshita M, Sakashita H, Takabayashi A, Yamaoka Y, Manabe T, et al. Pivotal role of CXCR3 in melanoma cell metastasis to lymph nodes. *Cancer Res.* 2004;64:4010–7.
47. Amatschek S, Lucas R, Eger A, Pflueger M, Hundesberger H, Knoll C. CXCL9 induces chemotaxis, chemorepulsion and endothelial barrier disruption through CXCR3-mediated activation of melanoma cells. *Br J Cancer.* 2011;104:469–79.
48. Scala S, Ottaiano A, Ascierto PA, Cavalli M, Simeone E, Giuliano P, et al. Expression of CXCR4 predicts poor prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res.* 2005;11:1835–41.
49. Longo-Imedio MI, Longo N, Treviño I, Lázaro P, Sanchez-Mateos P. Clinical significance of CXCR3 and CXCR4 expression in primary melanoma. *Int J Cancer.* 2005;117:861–5.
50. Monteagudo C, Martin JM, Jorda E, Llombart-Bosch A. CXCR3 chemokine receptor immunoreactivity in primary cutaneous malignant melanoma: correlation with clinicopathological prognostic factors. *J Clin Pathol.* 2007;60:596–9.
51. Mullins IM, Slingluff CL, Lee JK, Garbee CF, Shu J, Anderson SG, et al. CXC chemokine receptor 3 expression by activated CD8+ T cells is associated with survival in melanoma patients with stage III disease. *Cancer Res.* 2004;64:7697–701.
52. Acosta JC, Gil J. A role for CXCR2 in senescence, but what about in cancer? *Cancer Res.* 2009;69:2167–70.
53. Terradez L, Santonja N, Monteagudo C. CXCR2 expression and progression of cutaneous melanoma. *Virchows Archiv.* 2008;452:S256.
54. Singh S, Nannuru KC, Sadanandam A, Varney ML, Singh RK. CXCR1 and CXCR2 enhances human melanoma tumorigenesis, growth and invasion. *Br J Cancer.* 2009;100:1638–46.
55. Ilkovitch D, López DM. Immune modulation by melanoma-derived factors. *Exp Dermatol.* 2008;17:977–85.
56. Kochetkova M, Kumar S, McColl SR. Chemokine receptors CXCR4 and CCR7 promote metastasis by preventing anoikis in cancer cells. *Cell Death Differ.* 2009;16:664–73.
57. Juárez J, Bendall L, Bradstock K. Chemokines and their receptors as therapeutic targets: the role of the SDF-1/CXCR4 axis. *Curr Pharm Res.* 2004;10:1245–59.
58. Takenaga M, Tamamura H, Hiramatsu K, Nakamura N, Yamaguchi Y, Kitagawa A, et al. A single treatment with microcapsules containing a CXCR4 antagonist suppresses pulmonary metastasis of murine melanoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;320:226–32.
59. Melnikova VO, Bar-Eli M. Bioimmunotherapy for melanoma using fully human antibodies targeting MCAM/MUC18 and IL-8. *Pigment Cell Res.* 2006;19:395–405.
60. Thanarajasingam U, Sanz L, Diaz R, Qiao J, Sánchez-Pérez L, Kottke T, et al. Delivery of CCL21 to metastatic disease improves the efficacy of adoptive T-cell therapy. *Cancer Res.* 2007;67:300–8.
61. Lanati S, Dunn DB, Roussigné M, Emmett MS, Carriere V, Jullien D, et al. Chemotrap-1: an engineered soluble receptor that blocks chemokine-induced migration of metastatic cancer cells in vivo. *Cancer Res.* 2010;70:8138–48.