

СРПСКИ АРХИВ

ЧАСОПИС СРПСКОГ ЛЕКАРСКОГ ДРУШТВА ОСNOVAN 1871. ГОДИНЕ

ЗА ЦЕЛОКУПНО ЛЕКАРСТВО



СРПСКА 141
ЈУЛИ-ОКТОБАР 2013.
БРОЈ 3.3

VOLUME 141
JULY-OCTOBER 2013
NUMBER 3.3

SERBIAN ARCHIVES OF MEDICINE

OFFICIAL JOURNAL OF THE SERBIAN MEDICAL SOCIETY FOUNDED IN 1871

Улога регулаторних T лимфоцита у модулацији имунског одговора на малигне ћелије

Гордана Д. Радосављевић¹, Иван П. Јовановић¹, Татјана В. Кањевац¹, Небојша Н. Арсенијевић¹

Центар за молекулска истраживања, Медицински факултет, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Регулаторни T лимфоцити (T_{reg}) су посебна субпопулација $CD4^+$ T лимфоцита и имају значајну улогу у спречавању и ограничавању имунског одговора. Ови лимфоцити се могу поделити на две субпопулације: урођени T_{reg} лимфоцити (енгл. *natural* – nT_{reg} лимфоцити), који своје регулаторне функције стичу у тимусу, и адаптивни (индуцибилни) T_{reg} лимфоцити (енгл. *inducible* – iT_{reg} лимфоцити), који настају диференцијацијом зрелих конвенционалних T лимфоцита на периферији. Већина ових ћелија конститутивно испољава α ланац рецептора за интерлеукин 2 ($CD25$), као и транскрипциони фактор *Foxp3* (важан фактор настанка, развоја и супресорске активности T_{reg} лимфоцита). Малигне ћелије могу да модулирају антитуморски одговор посредством T_{reg} лимфоцита. Показано је да уклањање ових лимфоцита омогућује развој ефикасног антитуморског имунског одговора, док повећање њиховог броја спречава уништење тумора. NT_{reg} лимфоцити појачано експримирају *CTLA-4* и мембрански *TGF- β* , којима спречавају стварање цитокина и пролиферацију ефекторских лимфоцита. IT_{reg} лимфоцити луче имunosупресивне цитокине *IL-10* и *TGF- β* . T_{reg} лимфоцити су значајна препрека антитуморској имуности.

Кључне речи: регулаторни T лимфоцити; тумори; антитуморски имунски одговор

УВОД

T лимфоцити су ћелије са специфичним рецептором за антиген и имају главну улогу у ћелијском имунском одговору. Настају у тимусу, одакле мигрирају у периферне лимфне органе и рециркулишу кроз организам као функционално зреле, али неактивне ћелије. Постоје две основне субпопулације T лимфоцита: помагачки (енгл. *T helper* – Th , $CD4^+$ T лимфоцити) и цитотоксични (енгл. *cytotoxic T lymphocytes* – $CTLs$, $CD8^+$ T лимфоцити). Наивни помагачки T лимфоцити ($Th0$ лимфоцити) могу да диференцирају у одговарајуће ефекторске ћелије које стварају различите цитокине, па тако обављају и различите ефекторске функције ($Th1$, $Th2$, $Th17$, $Th9$ и $Th22$) и регулаторне T лимфоците (Слика 1).

Регулаторни T лимфоцити (T_{reg}) су посебна субпопулација $CD4^+$ T лимфоцита и имају значајну улогу у спречавању и ограничавању имунског одговора. Уопштено говорећи, T_{reg} лимфоцити се могу поделити на две субпопулације ћелија на основу различите специфичности и механизма деловања [1]. Прва популација су урођени T_{reg} лимфоцити (енгл. *natural* – nT_{reg} лимфоцити), који своје регулаторне функције стичу у тимусу и не мењају их на периферији [2]. Друга популација су адаптивни (индуцибилни) T_{reg} лимфоцити (енгл. *inducible* – iT_{reg} лимфоцити), који настају диференцијацијом зрелих конвенционалних T лимфоцита под специфичним условима субоптималног излагања антиге-

нима и/или костимулацији [3]. Поред ових $CD4^+$ T_{reg} лимфоцита, постоје и урођени и индуцибилни $CD8^+$ T_{reg} лимфоцити, који се такође бележе код особа оболелих од карцинома [4, 5]. У овом прегледном раду пажњу смо поклонили модулаторној улози $CD4^+$ T_{reg} лимфоцита у расту и прогресији тумора.

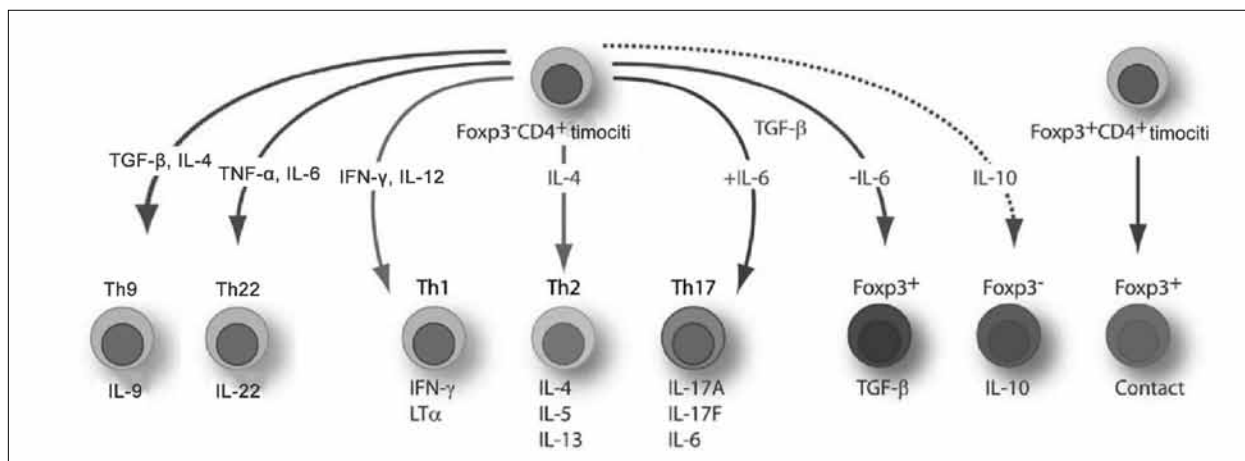
ФЕНОТИПСКЕ И ФУНКЦИОНАЛНЕ ОСОБИНЕ РЕГУЛАТОРНИХ T ЛИМФОЦИТА

Досадашња истраживања још нису открила специфичан маркер T_{reg} лимфоцита. Показано је да ове ћелије конститутивно испољавају различите молекуле: $CD25$ (α ланац рецептора за интерлеукин 2), *CTLA-4* (енгл. *cytotoxic T lymphocyte antigen-4*) и *GITR* (енгл. *glucocorticoid induced TNFR family related gene*) [3]. Већина поменутих молекула је испољена и на активираним ефекторским $CD4^+$ T лимфоцитима, што представља проблем у препознавању. Откриће транскрипционог фактора *Foxp3* је велики помак у проучавању ових ћелија [6]. Показано је да овај молекул функционише као супресор гена за интерлеукин 2 (*IL-2*), интерлеукин 4 (*IL-4*) и интерферон гама (*IFN- γ*), те да је важан фактор настанка, развоја и супресорске активности T_{reg} лимфоцита [7].

Многе студије *in vitro* показују да T_{reg} лимфоцити супримирају активацију и/или пролиферацију различитих типова имунокомпетентних ћелија. Након антигенске сти-

Correspondence to:

Nebojša ARSENIJEVIĆ
Centar za molekulska istraživanja
Medicinski fakultet
Svetozara Markovića 69
34000 Kragujevac
Srbija
nebojsa_arsenijevic@yahoo.com



Слика 1. Различите субпопулације помагачких *T* лимфоцита (ефекторски и регулаторни *T* лимфоцити)
Figure 1. Different subsets of *T* helper lymphocytes (effectors and regulatory *T* lymphocytes)

мулације ови лимфоцити спречавају пролиферацију блокањем транскрипције гена за *IL-2* и за рецептор за *IL-2* [8]. Активирани T_{reg} лимфоцити испољавају *CTLA-4* и мембрански *TGF-β*, који у контакту са својим лигандима на циљним ћелијама заустављају активацију лимфоцита [9]. Такође, T_{reg} лимфоцити могу да индукују апоптозу *T* лимфоцита, било помоћу гранзима, било активацијом рецептора смрти [10]. Интеракцијом *CTLA-4* (исказаног на T_{reg} лимфоцити) и *CD80* и/или *CD86* (исказаног на дендритским ћелијама), T_{reg} лимфоцити повећавају експресију индоламин-2,3-диоксигеназе (енгл. *indolamine 2,3-dyoxigenase* – *IDO*) у дендритским ћелијама. Повећана експресија *IDO*, одговорна за катаболизам триптофана, супримира функцију ефекторских *T* лимфоцита и то тако што истовремено индукује исцрпљивање есенцијалног триптофана и стварање имуносупресивних метаболита триптофана [11]. Показано је и да T_{reg} лимфоцити експресијом молекула *CD39* и *CD73* разграђују аденозинтрифосфат (енгл. *adenosine triphosphate* – *ATP*) до аденозина. Ово стварање аденозина такође за последицу има супресију функција ефекторских *T* лимфоцита [12].

Имуномодулаторни ефекти T_{reg} лимфоцита се испољавају спречавањем пролиферације и синтезе цитокина у $CD4^+$ и $CD8^+$ *T* лимфоцитима [13]. Инхибирају и пролиферацију *B* лимфоцита, као и синтезу и промену класе антитела [14]. Осим ових ефеката, T_{reg} лимфоцити смањују цитотоксичну активност *NK* [15] и *NKT* ћелија [16], као и функцију дендритских ћелија [17]. На основу ових података може се закључити да регулаторне ћелије имају широк спектар деловања на различите типове ћелија, што им обезбеђује важно место у хомеостазу имунског система.

Резултати многих истраживања показују да су ови лимфоцити незаобилазни учесници практично свих облика неспецифичног и специфичног имунског одговора, као што су аутоимунске болести, реакције „калем против домаћина“, одбацивање алогених трансплантата, алергијске реакције, запаљење и анти-туморска активност [3, 18].

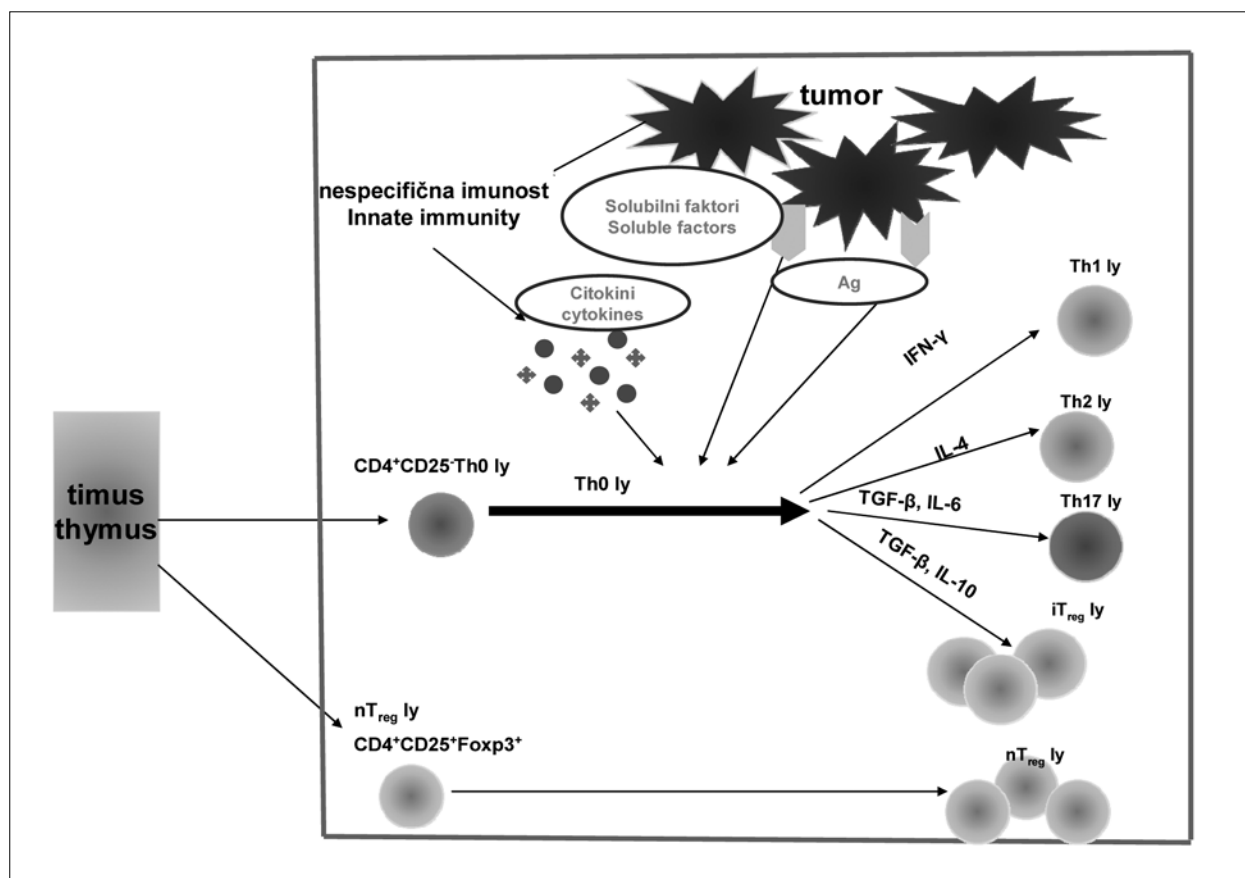
ТУМОР-ИНФИЛТРИШУЋИ РЕГУЛАТОРНИ *T* ЛИМФОЦИТИ

Комуникација малигнух и ћелија имунског система је динамичан и сложен процес, којем бројни истраживачи приписују главну улогу у развоју и расту тумора [19]. У овој интеракцији малигне ћелије располажу низом механизма којима модулирају анти-туморски одговор. Једна од важних мета ове модулације су T_{reg} лимфоцити.

Основни механизам имунског одговора на туморе је убијање туморских ћелија посредством ћелијске и хуморалне имуности, као и неспецифичне имуности. *CTL* могу да препознају и убијају малигне ћелије. $CD4^+$ *Th* лимфоцити стварају цитокине који могу директно (фактор некрозе тумора алфа – *TNF-α*) или индиректно (интерферон гама – *IFN-γ*), преко других ћелија, да индукују убијање неопластичних ћелија. Имуни одговор на тумор углавном је слаб, јер су многи туморски антигени слабо имуногени. Они су ендогено синтетисани протеини цитоплазме и врло мало или се нимало не разликују од сопствених антигена [20]. T_{reg} лимфоцити спречавају развој имунског одговора на сопствене, али и на туморске антигене [21]. Повећање броја T_{reg} лимфоцита повезано је с убрзаним растом тумора [22], односно већом туморском масом [23].

Бројна истраживања показују повећан број T_{reg} лимфоцита у периферној крви особа с тумором дојке [24], јетре [25], желуца и једњака [26]. Такође, повећава се проценат T_{reg} лимфоцита у оквиру лимфоцита који инфилтришу туморе јајника [27], јетре [25], желуца и једњака [26], микроцелуларног карцинома плућа [28], панкреаса [24], тумора главе и врата [29].

Постоји неколико објашњења за селективно постојање T_{reg} лимфоцита у туморском ткиву. Једно је да се nT_{reg} лимфоцити, реагујући унакрсно с појединим антигенима малигнух ћелија, накупљају у ткиву тумора [3]. Претпоставља се да препознавање антигена поново активира T_{reg} лимфоците тако што они експримирају интегрине којима се везују за хијалуронску



Слика 2. Диференцијација и акумулација T_{reg} лимфоцита у туморској микросредини

Figure 2. Differentiation and accumulation of T_{reg} lymphocytes in the tumor microenvironment

Малигне ћелије, поред тога што обезбеђују антигенску (Ag) стимулацију, интерагују и са тумор-инфилтришућим ћелијама неспецифичне имуности, које стварањем различитих врста цитокина утичу на диференцијацију наивних $Th0$ лимфоцита (ly). У зависности од јачине антигенске стимулације и цитокиноског милеа, $Th0$ лимфоцити могу да диференцирају у различите субпопулације ћелија ($Th1$, $Th2$, $Th17$ и T_{reg} лимфоцити). Комбинација субоптималне дозе антигена са $TGF-\beta$ подстиче диференцијацију $Th0$ лимфоцита у iT_{reg} лимфоците. С друге стране, nT_{reg} лимфоцити мигрирају у туморско ткиво и унакрсно реагују с појединим антигенима на малигним ћелијама. Наведеним механизмима може се објаснити акумулација обе врсте T_{reg} лимфоцита у туморској микросредини.

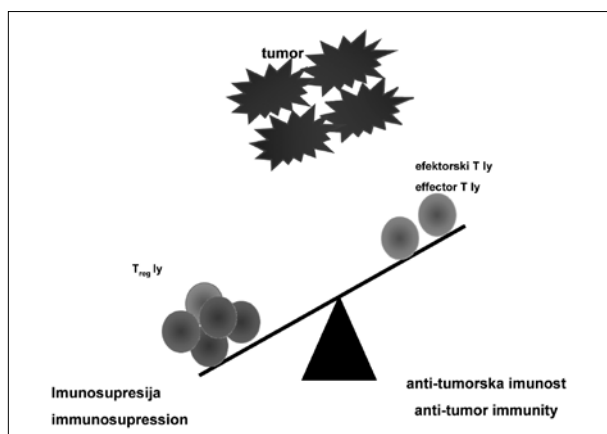
Tumor cells not only provide antigenic (Ag) stimulation for the cell activation but also interact with tumor-infiltrating innate immune cells to secrete different cytokines for T cell differentiation. Naive $CD4^+$ T cells can be differentiated into different subsets of $CD4^+$ T cells ($Th1$, $Th2$, $Th17$ i T_{reg} lymphocytes- ly), depending upon the strength of antigen stimulation and cytokines milieu. Combination of suboptimal antigen stimulation with $TGF-\beta$ favors the differentiation of the $Th0$ ly into iT_{reg} ly. On the other hand, nT_{reg} ly migrate and cross-react with some antigens expressed by tumor cells. Mentioned mechanisms may explain accumulation of both subpopulations of T_{reg} cells in tumor site.

киселину и фибронектин ванћелијског матрикса [30], што им омогућава да остану чврсто везани за потку туморског ткива. Друга студија је показала да се T_{reg} лимфоцити накупљају у ткиву под утицајем хемокина $CCL22$, који потичу делом из малигнућ ћелија, а делом из макрофага туморске микросредине [27]. Треће објашњење за висок проценат тумор-инфилтришућих T_{reg} лимфоцита јесте да се у самој туморској микросредини дешава диференцијација наивних $Th0$ лимфоцита ($CD4^+$ $CD25^+$ T лимфоцити) у iT_{reg} лимфоците [3], што је приказано на слици 2. Сматра се да у диференцијацији iT_{reg} важну улогу имају интерлеукин 10 ($IL-10$) и трансформишући фактор раста бета ($TGF-\beta$). Малигне ћелије саме луче $IL-10$ и $TGF-\beta$, али и стимулишу стварање ових цитокина у незрелим мијелоидним дендритским ћелијама и/или незрелим мијелоидним супресорским ћелијама, чиме индиректно подстичу стварање iT_{reg} лимфоцита из $Th0$ лимфоцита у туморској микросредини [31]. Сматра се и да активирани T_{reg} лимфоцити изазивају толерогену функцију анти-

ген-презентујућих ћелија. На тај начин T_{reg} лимфоцити и антиген-презентујуће ћелије стварају зачарани круг који одржава супресију антигуморског имунског одговора најпре локално, а касније и системски [32].

РЕГУЛАТОРНИ Т ЛИМФОЦИТИ И НАПРЕДОВАЊЕ БОЛЕСТИ

Туморска микросредина, утичући на равнотежу ефекторских и регулаторних феномена, игра пресудну улогу у развоју и расту тумора (Слика 3) [33]. Повећање броја T_{reg} лимфоцита у туморском ткиву и крвотоку повезано је с напредовањем болести [34]. Фачјабене (Facciabene) и сарадници [35] указују на то да T_{reg} лимфоцити значајно ограничавају антитуморски имунски одговор и подстичу ангиогенезу, што убрзава раст тумора. Наши налази указују на могућност да повећање броја T_{reg} лимфоцита подстиче стварање имunosупресивне микросредине и може бити један од основних



Слика 3. Повећан удео T_{reg} лимфоцита (ly) унутар популације тумор-инфилтришућих лимфоцита омогућавају бржи раст и метастатско ширење тумора

Figure 3. Increased proportion of T_{reg} cells (ly) within population of tumor-infiltrating lymphocytes facilitates faster growth and metastatic spread of tumor

фацилитирајућих механизма важних за метастазирање малигног меланома [36].

У експериментима на животињама показано је да уклањање T_{reg} лимфоцита омогућава развој ефикасног антитуморског имунског одговора и регресију тумора [37]. Уклањање T_{reg} лимфоцита појачава имунски одговор на туморске ћелије кроз ефикасну активацију тумор-специфичних CTL и $CD4^+$ Th лимфоцита, као и тумор-неспецифичних NK -ћелија [38]. Адоптивни трансфер $CD4^+$ $CD25^+$ T_{reg} лимфоцита (без $CD4^+$ $CD25^-$ T лимфоцита) у терапији малигног меланома мишева делотворно спречава деструкцију тумора посредовану $CD8^+$ T лимфоцитима [39]. У складу с тим, Кјуријел (*Curiel*) и сарадници [27] описали су да је повећан број $CD4^+$ $CD25^+$ $Foxp3^+$ T_{reg} лимфоцита у туморском ткиву и асцитесу повезан с лошијим преживљавањем особа оболелих од рака јајника.

Претпоставља се да малигне ћелије покрећу миграцију T_{reg} лимфоцита, који поред осталих регулаторних ћелија (мијелоидне супресорске ћелије, незреле и зреле толерогене дендритске ћелије) чине значајан део имunosупресивне мреже локално у туморском ткиву [19]. Индукција толеранције у туморској микросредини убрзава инвазију и метастатско ширење малигнућих ћелија [24]. На моделу индукованог тумора панкреаса показано је да $CD25^+$ $Foxp3^+$ T_{reg} лимфоцити насељавају туморско ткиво још у раном стадијуму, те да се њихов инфлукс током развоја повећава [40].

УРОЂЕНИ РЕГУЛАТОРНИ T ЛИМФОЦИТИ И АНТИТУМОРСКА ИМУНОСТ

Код већине малигнућих обољења откривени су урођени T_{reg} лимфоцити за које је доказано да имају значајну способност да у условима *in vitro* зауставе антитуморску активност [5, 24]. T_{reg} лимфоцитима који инфилтришу тумор потребна је активација специфичним лигандом у међућелијском контакту, да би спречили

активност тумор-специфичних ефекторских ћелија: CTL и $CD4^+$ Th лимфоцита. T_{reg} лимфоцити појачано експримирају $CTLA-4$ и мембрански облик $TGF-\beta$, а ови молекули инхибирају стварање $Th1$ цитокина и пролиферацију ефекторских лимфоцита [28].

Резултати истраживања указују на значајну улогу $CTLA-4$ исказаног на T_{reg} лимфоцитима у инхибицији антитуморске активности [24, 28], као и да је блокада $CTLA-4$ сигналног пута перспективна стратегија у лечењу оболелих од тумора [38].

T_{reg} лимфоцити ефикасно супримирају имунски одговор, индукујући анергију и инхибирајући пролиферацију претходно активираних $CD8^+$ T лимфоцита [41]. Активност NK -ћелија је главни механизам урођене имуности који спречава раст и метастазирање тумора [42]. Осим улоге у инхибицији стеченог антитуморског имунског одговора, неке студије осветљавају улогу T_{reg} лимфоцита и у супресији ефикасности урођене имуности, и то тако што смањују цитотоксичну активност NK и NKT лимфоцита [15, 16]. Наша студија документује да је цитотоксична активност укупних спленоцита и NK -ћелија у слезини значајно смањена код мишева којима су убризгане ћелије малигног меланома (*B16-F1*). Добијени резултати у овом експерименталном моделу указују на то да значајан допринос у метастатској прогресији меланома има смањена убилачка способност NK -ћелија, која је највероватније последица забележене експанзије имunosупресивних регулаторних $CD4^+$ $Foxp3^+$ T лимфоцита у слезини [43]. На тај начин малигне ћелије индиректно избегавају ћелијски имунски одговор.

ИНДУЦИБИЛНИ РЕГУЛАТОРНИ T ЛИМФОЦИТИ И АНТИТУМОРСКА ИМУНОСТ

У последње време истиче се значајна улога индуцибилних T_{reg} лимфоцита (iT_{reg} лимфоцити) у супресији имунског одговора T ћелија на малигне ћелије [1, 44]. Једна од основних разлика између nT_{reg} и iT_{reg} лимфоцита јесте да iT_{reg} лимфоцити испољавају своју супресорску активност делујући првенствено посредством имunosупресивних цитокина ($IL-10$ и $TGF-\beta$), док деловање урођених T_{reg} лимфоцита превасходно зависно од директног међућелијског контакта [1]. $IL-10$, као снажан инхибитор активираних макрофага и дендритских ћелија, учествује у контроли урођеног и стеченог имунског одговора. Главна улога $TGF-\beta$ у имунском одговору је инхибиција пролиферације и активације лимфоцита и других леукоцита.

Неке студије претпостављају да малигне ћелије хроничном стимулацијом тумор-инфилтришућих дендритских ћелија и макрофага индиректно подстичу конверзију ефекторских T лимфоцита у T_{reg} лимфоците, изазивајући толеранцију и супресију антитуморске активности [45]. На такав закључак наводе добијени резултати, који показују да тумор-специфични $CD4^+$ T лимфоцити мењају свој фенотип од ефекторске до супресорске ћелије током развоја тумора [46].

T_{reg} лимфоцити имају двоструко дејство на ток имунског одговора [41]. Осим имуносупресивног деловања, активирани T_{reg} лимфоцити ослобађањем $TGF-\beta$ изазивају стварање $Th17$ лимфоцита, који су главни извор проинфламаторног цитокина $IL-17$. Приликом истовремене култивације с популацијом $CD4^+ CD25^- FoxP3^-$ T лимфоцита, у присуству $IL-6$, T_{reg} лимфоцити који стварају велику количину солубилног $TGF-\beta$ изазивају развој $Th17$ лимфоцита [47]. Други извор $Th17$ лимфоцита могу бити и сами активирани T_{reg} лимфоцити. У присуству $IL-6$, при изостанку екзогенног $TGF-\beta$, T_{reg} лимфоцити могу да се диференцирају у лимфоците који стварају $IL-17$ [47]. Показано је да $Th17$ лимфоцити, који се налазе у тумору јајника, поред $IL-17$ експримирају и друге проинфламаторне цитокине ($IL-2$, $TNF-\alpha$ и $IFN-\gamma$), што се повезује с интензивним имунским одговором. Постојање ових полифункционалних

ћелија повезано је са бољом прогнозом болести [48]. Међутим, друге студије показују да проинфламаторни цитокини имају значајну улогу у расту и развоју тумора [49, 50], тако да ова особина T_{reg} лимфоцита указује да они имају вишеструку улогу у модулацији имунског одговора код малигних обољења.

ЗАКЉУЧАК

Досадашња истраживања несумњиво показују да су T_{reg} лимфоцити значајна препрека имунском одговору на туморе. Будућа истраживања усмерена на проналажење механизма за прекид толеранције *in situ*, уз комбинацију са другим терапијским стратегијама, могла би да обезбеде делотворније лечење особа с малигним обољењима.

ЛИТЕРАТУРА

- Lizée G, Radvanyi LG, Overwijk WW, Hwu P. Improving antitumor immune responses by circumventing immunoregulatory cells and mechanisms. *Clin Cancer Res*. 2006; 12(16):4794-803.
- Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol*. 2005; 6:345-52.
- Wang HY, Wang RF. Regulatory T cells and cancer. *Curr Opin Immunol*. 2007; 19:217-23.
- Suzuki M, Jagger AL, Konya C, Shimajima Y, Pryshchep S, Goronzy JJ, et. CD8+CD45RA+CCR7+FOXP3+ T cells with immunosuppressive properties: a novel subset of inducible human regulatory T cells. *J Immunol*. 2012; 189(5):2118-30.
- Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nature Rev Immunol*. 2006; 6:295-307.
- Walker MR, Kasprudz DJ, Gersuk VH, Benard A, Van Landeghen M, Buckner JH, et al. Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells. *J Clin Invest*. 2003; 112:1437-43.
- Holm TL, Nielsen J, Claesson MH. CD4+CD25+ regulatory T cells: phenotype and physiology. *APMIS*. 2004; 112:629-41.
- Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune response. *Annu Rev Immunol*. 2004; 22:531-62.9.
- Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med*. 2007; 13(3):108-16.
- D'Abrasio D. Regulatory T cells: how to they find their space in the immunological arena? *Semin Cancer Biol*. 2006; 16:91-7.
- Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, Orabona C, Vacca C, Bianchi R, et al. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol*. 2003; 4:1206-12.
- Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, Friedman D, Usheva A, Erat A, et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med*. 2007; 204:1257-65.
- Piccirillo CA, Shevach EM. Cutting edge: control of CD8+T cell activation by CD4+CD25+ immunoregulatory cells. *J Immunol*. 2001; 167:1137-40.
- Lim HW, HILLSAMER P, BANHAM AH, KIM CH. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*. 2005; 175:4180-3.
- Ghiringhelli F, Ménard C, Terme M, Flament C, Taieb J, Chaput N, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor- β dependent manner. *J Exp Med*. 2005; 202:1075-85.
- Azuma T, Takahashi T, Kunisato A, Kitamura T, Hirai H. Human CD4+CD25+ regulatory T cells suppress NKT cell functions. *Cancer Res*. 2003; 63:4516-20.
- Misra N, Bayry J, Lacroix-Desmazes S, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. *J Immunol*. 2004; 172:4676-80.
- Roncarolo MG, Battaglia M. Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans. *Nat Rev Immunol*. 2007; 7:585-98.
- Croci DO, Zacarias Fluck MF, Rico MJ, Matar P, Rabinovich GA, et al. Dynamic cross-talk between tumor and immune cells in orchestrating the immunosuppressive network at the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Immunother*. 2007; 56: 1687-700.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Chapter 17: Immunity to tumors. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editors. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2007. p.397-417.
- Nishikawa H, Kato T, Tanida K, Hiasa A, Tawara I, Ikeda H, et al. CD4+CD25+ T cells responding to serologically defined autoantigens suppress antitumor immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100:10902-6.
- Bursucker I, North RJ. Generation and decay of the immune response to a progressive fibrosarcoma. II. Failure to demonstrate postexcision immunity after the onset of T cell-mediated suppression of immunity. *J Exp Med*. 1984; 159:1312-21.
- Volarevic A, Ljubic B, Volarevic V, Milovanovic M, Kanjevac T, Lukic A, et al. A new semiquantitative method for evaluation of metastasis progression. *J BUON*. 2012; 17:585-90.
- Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, et al. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J Immunol*. 2002; 169:2756-61.
- Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, Manns MP, Greten TF, Korangy F. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*. 2005; 65:2457-64.
- Ichihara F, Kono K, Takahashi A, Kawaida H, Sugai H, Fujii H. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers. *Clin Cancer Res*. 2003; 9:4404-8.
- Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*. 2004; 10:942-9.
- Woo EY, Yeh H, Chu CS, Schlienger K, Carroll RG, Riley JL, et al. Regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation. *J Immunol*. 2002; 168:4272-6.
- Schaefer C, Kim GG, Albers A, Hoermann K, Myers EN, Whiteside TL. Characteristics of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral circulation of patients with head and neck cancer. *Br J Cancer*. 2005; 92:913-20.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Effector mechanisms of cell-mediated immunity. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editors. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2007. p.303-19.

31. Huang B, Pan PY, Li Q, Sato AI, Levy DE, Bromberg J, et al. Gr-1+CD115+ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host. *Cancer Res.* 2006; 66:1123-31.
32. Qin FXF. Dynamic behavior and function of Foxp3+ regulatory T cells in tumor bearing host. *Cell Mol Immunol.* 2009; 6(1):3-13.
33. Yu P, Fu YX. Tumor-infiltrating T lymphocytes: friends or foes? *Lab Invest.* 2006; 86:231-45.
34. Kawaida H, Kono K, Takahashi A, Sugai H, Mimura K, Miyagawa N, et al. Distribution of CD4+CD25high regulatory T cells in tumor-draining lymph nodes in patients with gastric cancer. *J Surg Res.* 2005; 124:151-7.
35. Facciabene A, Motz GT, Coukos G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis. *Cancer Res.* 2012; 72(9):2162-71.
36. Radosavljevic G, Jovanovic I, Majstorovic I, Mitrovic M, Lisnic VJ, Arsenijevic N, et al. Deletion of galectin-3 in the host attenuates metastasis of murine melanoma by modulating tumor adhesion and NK cell activity. *Clin Exp Metastasis.* 2011; 28(5):451-62.
37. Golgher D, Jones E, Powrie F, Elliott T, Gallimore A. Depletion of CD25+ regulatory cells uncovers immune responses to shared murine tumor rejection antigens. *Eur J Immunol.* 2002; 32:3267-75.
38. Suttmoller RP, van Duivenvoorde LM, van Elsas A, Schumacher TN, Wildenberg ME, Allison JP, et al. Synergism of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and depletion of CD25+ regulatory T cells in antitumor therapy reveals alternative pathways for suppression of autoreactive cytotoxic T lymphocyte responses. *J Exp Med.* 2001; 194:823-32.
39. Antony PA, Piccirillo CA, Akpınarlı A, Finkelstein SE, Speiss PJ, Surman DR, et al. CD8+ T cell immunity against a tumor/self-antigen is augmented by CD4+ T helper cells and hindered by naturally occurring T regulatory cells. *J Immunol.* 2005; 174:2591-601.
40. Clark CE, Hingorani SR, Mick R, Combs C, Tuveson DA, Vonderheide RH. Dynamics of the immune reaction to pancreatic cancer from inception to invasion. *Cancer Res.* 2007; 67:9518-27.
41. Kosmaczewska A, Ciszak L, Potoczek S, Frydecka I. The significance of Treg cells in defective tumor immunity. *Arch Immunol Ther Exp.* 2008; 56:181-91.
42. Jovanovic I, Radosavljevic G, Mitrovic M, Lisnic Juranic V, McKenzie ANJ, Arsenijevic N, et al. ST2 deletion enhances innate and acquired immunity to murine mammary carcinoma. *Eur J Immunol.* 2011; 41(7):1902-12.
43. Radosavljevic G, Jovanovic I, Martinova K, Živić D, Pejnović N, Arsenijević N, et al. Decreased NK cell cytotoxicity and increased T regulatory cells facilitate progression of metastatic murine melanoma. *Serbian Journal of Experimental Clinical Research.* 2012; 13(3):85-92.
44. Zhang X, Huang H, Yuan J, Sun D, Hou WS, Gordon J, et al. CD4-8- dendritic cells prime CD4+ T regulatory 1 cells to suppress antitumor immunity. *J Immunol.* 2005; 175:2931-37.
45. Wang RF, Peng G, Wang HY. Regulatory T cells and Toll-like receptors in tumor immunity. *Semin Immunol.* 2006; 18:136-42.
46. Zhou G, Lu Z, McCadden JD, Levitsky HI, Marson AL. Reciprocal changes in tumor antigenicity and antigen-specific T cell function during tumor progression. *J Exp Med.* 2004; 200:1581-92.
47. Xu L, Kitani A, Fuss I, Strober W. Cutting edge: regulatory T cells induce CD4+CD25-Foxp3- T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-β. *J Immunol.* 2007; 178:6725-9.
48. Munn DH. Th17 cells in ovarian cancer. *Blood.* 2009; 114(6):1134-5.
49. Radosavljevic G, Ljujic B, Jovanovic I, Srzentic Z, Pavlovic S, Zdravkovic N, et al. Interleukin-17 may be a valuable serum tumour marker in patients with colorectal carcinoma. *Neoplasma.* 2010; 57(2):135-44.
50. Jovanovic I, Radosavljevic G, Pavlovic S, Zdravkovic N, Martinova K, Knezevic M, et al. Th-17 cells as novel participant in immunity to breast cancer. *Serb J Exp Clin Res.* 2010; 11(1):7-17.

The Role of Regulatory T Cells in the Modulation of Anti-Tumor Immune Response

Gordana D. Radosavljević, Ivan P. Jovanović, Tatjana V. Kanjevac, Nebojša N. Arsenijević

Center for Molecular Medicine, Medical Faculty, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

SUMMARY

Regulatory T cells (T_{reg}) represent a subset of $CD4^+$ T cells whose function is to suppress immune responses. T_{reg} lymphocytes can be divided into two subsets: natural nT_{reg} lymphocytes that are developed in the thymus and inducible iT_{reg} lymphocytes, which originate from conventional T lymphocytes on the periphery. The majority of T_{reg} lymphocytes express high levels of interleukin-2 (IL-2) receptor α chain (CD25) and transcription factor FoxP3 (critical for the development and suppressor activity of iT_{reg} lymphocytes). Cancer cells can modulate anti-tumor immune response indirectly, through the activation of T_{reg} lymphocytes.

It has been shown that the loss of regulatory function by depletion of tumor-induced T_{reg} lymphocytes may enhance effectors response, resulting in tumor rejection, while the increased number of T_{reg} lymphocytes effectively prevents tumor destruction. nT_{reg} lymphocytes express increasingly CTLA-4 and membrane-bound TGF-β, which inhibits cytokine production and responses of effectors lymphocytes. iT_{reg} lymphocytes secrete immunosuppressive cytokines such as IL-10 and TGF-β. T_{reg} lymphocytes represent one of important obstruction in anti-tumor immunity.

Keywords: regulatory T cells; tumors; anti-tumor immune response