

Podstawy immunologiczne powstawania i leczenia nowotworów kobiecego układu płciowego

Immune phenomena associated with the development and treatment
of female genital malignancies

Иммунологические основания для возникновения и лечения опухолей
женской половой системы

¹ Katedra i Klinika Ginekologii Onkologicznej i Pielęgniarstwa Ginekologicznego, Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy

² Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii im. prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy

³ Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Correspondence to: Dr hab. n. med. Łukasz Wicherek prof. UMK, Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii im. prof. Franciszka Łukaszczyka, ul. Romanowskiej 2, 85-796 Bydgoszcz, tel.: 52 374 33 99, 52 374 38 74, e-mail: mowicher@cyf-kr.edu.pl

Podziękowania

Słowa podziękowania kierujemy do Dra n. med. Zbigniewa Pawłowicza, dyrektora Centrum Onkologii im. prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy, założyciela Innowacyjnego Forum Medycznego w Bydgoszczy, za wsparcie naszej pracy naukowej. Chcielibyśmy podziękować również Prof. dr hab. n. med. Andrzejowi Lange za jego kliniczne spojrzenie na immunologię.

Acknowledgements

We direct our most cordial acknowledgements to Zbigniew Pawłowicz, M.D., director of Franciszek Łukaszczyk Memorial Center of Oncology in Bydgoszcz, founder of Innovative Medical Forum in Bydgoszcz, for his support of our research work. We would also like to thank Professor Andrzej Lange, M.D. for his clinical insight into immunology.

Source of financing: Department own sources

Streszczenie

Warunkiem powstania nowotworu złośliwego jest pojawienie się szeregu mutacji w zakresie genów supresorowych, tak aby komórka uzyskała fenotyp nowotworowy. Nie ma pojedynczej zmiany molekularnej, która mogłaby przeprowadzić komórkę przez złożony proces karcynogenezy. W przypadku klinicznie zaawansowanego raka jajnika oprócz tego konieczna jest jeszcze ucieczka tych zmienionych genetycznie komórek przed układem odpornościowym gospodarza. Początkowo proces ucieczki guza spod nadzoru immunologicznego jest tylko „oszukiwaniem” układu odpornościowego. Jednak w miarę wzrostu guza przejmuje on co najmniej miejscowo kontrolę nad układem odpornościowym, a narastanie natężenia tego zjawiska może doprowadzić do uogólnionej supresji. Najpierw komórka nowotworowa maskuje swoją obecność, następnie hamuje nieswoisty układ odpornościowy, po czym hamuje swoistą odpowiedź układu odpornościowego między innymi poprzez doprowadzenie do apoptozy komórek cytotoksycznych naciekających jej mikrośrodowisko. Ostatecznie komórki raka tak modyfikują swoje mikrośrodowisko, że wspiera ono ich rozwój i uczestniczy w zahamowaniu skierowanej przeciwko nim odpowiedzi układu odpornościowego, np. poprzez nagromadzenie limfocytów hamujących Treg. Wydaje się, iż poznanie zasięgu tego procesu z jednej strony ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia praw rządzących tym fenomenem, z drugiej umożliwia ingerencję w ten proces. W ten sposób będzie można uzupełnić skojarzone leczenie przeciwnowotworowe o immunoterapię i poprawić jego skuteczność. Jednym z obiecujących sposobów immunoterapii jest usunięcie komórek Treg z mikrośrodowiska guza.

Słowa kluczowe: immunoterapia, rak jajnika, tolerancja immunologiczna, Treg, makrofagi

Summary

A prerequisite for the development of a malignant tumor is the occurrence of a series of mutations in suppressor genes, so that cells acquire a malignant phenotype. There is no single molecular alteration that would lead a cell through a complex process of carcinogenesis. In the case of late-stage ovarian cancer, the next necessary step is the escape of these genetically altered cells from the supervision of the host immune system. Initially, the process of evasion from immune control is merely one of "cheating" the immune system. However, as the tumor increases in size, it takes control over the immune system, at least on a local scale, and the escalation of this phenomenon may result in generalized immune suppression. First, a cancer cell masks its presence, then it inhibits the non-specific immune system as well as the specific immune response by (among other things) initiating the apoptosis of the cytotoxic cells infiltrating its microenvironment. Finally, cancer cells modify their microenvironment so that it supports their development and by accumulating immunosuppressive Treg lymphocytes inhibits the immune response against them. Understanding the principles governing this phenomenon would thus appear to be key to being able to, but also to counteract it. The resulting knowledge might allow us to supplement the standard combination of antitumor treatment and immune therapy, thus improving its efficacy. Currently one of the most promising forms of immune therapy is the removal of Treg cells from the tumor microenvironment.

Key words: immune therapy, ovarian cancer, immune tolerance, Treg, macrophages

Содержание

Условием для образования злокачественной опухоли является возникновение ряда мутаций в области генов-супрессоров, позволяющих клетке приобрести опухолевый фенотип. Нет единичного молекулярного изменения, которое смогло бы сделать возможным переход клетки через сложный карциногенный процесс. В случае клинически продвинутой стадии рака яичника эти генетически измененные клетки должны кроме того суметь «сбежать» от иммунологической системы хозяина. Начальный период «бегства» опухоли от иммунологического надзора это лишь «обманывание» иммунологической системы. Однако по мере роста опухоли, она как минимум местно перехватывает контроль иммунологической системы, причем развитие этого явления может привести к обобщенной супрессии. Сначала опухолевая клетка маскирует свое присутствие, затем подавляет неспецифический иммунитет, после чего тормозит специфический ответ иммунологической системы между прочим за счет доведения до апоптоза цитостатических клеток, инфильтрирующих ее микросреду. В результате раковые клетки модифицируют свою микросреду таким образом, что она в итоге поддерживает их развитие и участвует в торможении направленного против них ответа иммунологической системы, напр. за счет накопления тормозящих регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). Кажется, что изучение объема этого процесса имеет – с одной стороны – ключевое значение для понимания прав, управляющих этим феноменом, с другой – позволяет вмешиваться в этот процесс. Таким образом станет возможным дополнение комбинированного противоракового лечения иммунотерапией и повышение его эффективности. Одним из обнадеживающих способов иммунотерапии является удаление Treg-клеток из микросреды опухоли.

Ключевые слова: иммунотерапия, рак яичника, иммунная толерантность, Treg, макрофаги

WSTĘP

Proces karcynogenezy zostaje zapoczątkowany przez aberracje w obrębie genomu komórki, które zgodnie z najnowszymi doniesieniami genetyki molekularnej mogą być poprzedzone zmianami epigenetycznymi. Początkowo pojedyncze jeszcze zmiany ulegają następnie utrwaleniu podczas kolejnych podziałów, a wówczas wśród potomnych komórek może rozwinąć się klon komórek o fenotypie nowotworowym. Do powstania nowotworu złośliwego niezbędny jest szereg mutacji w zakresie genów supresorowych, tak aby komórka uzyskała fenotyp nowotworowy. Nie ma pojedynczej zmiany molekularnej, która mogłaby przeprowadzić komórkę przez złożony proces karcynogenezy⁽¹⁾. W przypadku klinicznie zaawansowanego raka jajnika oprócz tego

INTRODUCTION

The process of carcinogenesis is initiated by aberrations within the cell genome, which, according to recent reports by molecular genetics, may be preceded by epigenetic alterations. Over the course of consecutive cell divisions, initially isolated alterations become permanent, resulting in the development of clones with a malignant phenotype among daughter cells. A prerequisite for the development of a malignant tumor is the occurrence of a series of mutations within suppressor genes whereby a cell acquires a malignant phenotype. There is no single molecular alteration able to lead a cell through the complex process of carcinogenesis⁽¹⁾. In the case of late-stage ovarian cancer, the next necessary step is the escape of these genetically altered cells

konieczna jest ucieczka tych zmienionych genetycznie komórek przed układem immunologicznym gospodarza. Początkowo proces ucieczki guza spod nadzoru immunologicznego jest tylko „oszukiwaniem” układu odpornościowego. Jednak w miarę wzrostu guza przejmując on co najmniej miejscowo kontrolę nad układem odpornościowym, a narastanie natężenia tego zjawiska doprowadza do uogólnionej supresji. Stan, w jakim nowotwór rozwija się pomimo obecności zdolnych do lizy limfocytów cytotoksycznych T i komórek NK (niejako w sąsiedztwie wydolnego układu odpornościowego), nazwano selektywnym ograniczeniem aktywności tych komórek – selektywną supresją. Dotychczas opisano wiele mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za ucieczkę komórek raka spod nadzoru immunologicznego, odpowiedzialnych za powstanie selektywnej supresji układu odpornościowego podczas progresji choroby nowotworowej. Zaliczamy do nich: 1) brak klasycznych antygenów zgodności tkankowej na komórkach raka, takich jak HLA-A (*human leukocyte antigen-A*), HLA-B; 2) obecność lub nadekspresję nieklasycznych antygenów zgodności tkankowej na powierzchni komórek raka, antygenów takich jak HLA-G, HLA-E; 3) zmianę profilu mikrośrodowiska raka w kierunku działania hamującego poprzez: aktywację enzymu IDO, sekrecję cytokin TH2, takich jak IL-10, IL-4, TGF- β ; 4) ekspresję na powierzchni komórek guza czynników zdolnych do zahamowania aktywowanych limfocytów T i komórek NK, takich jak PD-L1, Fas-L, RCAS1; 5) nagromadzenie w mikrośrodowisku raka komórek regulatorowych układu odpornościowego, takich jak Treg czy makrofagi B7H4^(2,3). Wydaje się, iż poznanie zasięgu tego procesu z jednej strony ma kluczowe znaczenia dla zrozumienia praw rządzących tym fenomenem, z drugiej umożliwia ingerencję w ten proces.

KOMÓRKI UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO A UCIECZKA KOMÓREK RAKA SPOD NADZORU IMMUNOLOGICZNEGO

W mikrośrodowisku rozwijającego się raka znajduje się wiele komórek układu odpornościowego o właściwościach regulacyjnych. Z punktu widzenia ucieczki komórek raka spod nadzoru immunologicznego szczególną uwagę należy zwrócić na makrofagi i limfocyty regulatorowe (*tumor T regulatory lymphocytes*, Treg). Rola makrofagów naciekających guz (*tumor-infiltrating macrophages*, TIMs), zwanych też makrofagami związanymi z guzem (*tumor-associated macrophages*, TAMs), w rozwoju nowotworu wydaje się co najmniej podwójna. Mogą one z jednej strony stymulować rozwój nowotworu, z drugiej prowadzić do jego odrzucenia⁽⁴⁻⁹⁾. Wykazano pozytywną korelację między liczbą makrofagów związanych z nowotworem a złym rokowaniem w wielu nowotworach złośliwych. Co więcej, monocyty/makrofagi są obecne od najwcześniejszych etapów rozwoju nowotworu, w bliskim sąsiedztwie zmian o charakterze przerostu i atypii⁽⁹⁾. Monocyty/makrofagi napływające do

from the host immune surveillance. Initially, the process of tumor escape from immune surveillance is merely one of “cheating” the immune system. However, as the tumor grows, it takes control over the immune system, at least on a local scale, and the escalation of this phenomenon results in generalized immune suppression. Conditions enabling tumor development in spite of the presence of functionally intact cytotoxic T lymphocytes and NK cells (i.e., in direct contact with a fully efficient immune system) is called selective immune suppression and entails the selective limitation of the activity of immunocompetent cells. To date, several molecular mechanisms responsible for the escape of cancer cells from the host immune surveillance and the development of the selective suppression of the immune system during the progression of neoplastic diseases have been described. These include the following: 1) the lack of classic histocompatibility antigens on the cancer cell surface, such as HLA-A (human leukocyte antigen-A), HLA-B; 2) the presence or overexpression of non-classic (accessory) histocompatibility antigens on the cancer cell surface, such as HLA-G and HLA-E; 3) the alteration of the profile of the cancer microenvironment towards the inhibition of the immune response by the activation of the IDO enzyme and the secretion of TH2 cytokines, such as IL-10, IL-4, and TGF- β ; 4) the expression of factors inhibiting activated T lymphocytes and NK cells, such as PD-L1, Fas-L, and RCAS1 on the cancer cell surface; 5) the accumulation of cells that control the immune response, such as Treg or B7H4 macrophages in the cancer microenvironment^(2,3). It would seem that understanding the extent of this process is not only paramount for elucidating the laws governing this phenomenon but hopefully for enabling therapeutic intervention.

IMMUNE SYSTEM CELLS AND EVASION OF CANCER CELLS FROM IMMUNE SUPERVISION

Many immune cells possessing regulatory properties are present in the microenvironment of the developing cancerous tumor. When considering the possible escape of cancer cells from the host immune surveillance macrophages and regulatory lymphocytes (Treg cells) are particularly important. The role TIMs or tumor-infiltrating macrophages (also called TAMs or tumor-associated macrophages) play in tumor development would appear to be ambiguous. On the one hand, these macrophages are able to stimulate tumor development but on the other hand they can lead to the rejection of the tumor⁽⁴⁻⁹⁾. Moreover, a positive correlation has been demonstrated between the number of TAMs and a poor prognosis in cases of several types of malignant tumors. Furthermore, monocytes/macrophages are present very near hyperplastic and atypical lesions beginning in the earliest stages of tumor development⁽⁹⁾. The monocytes/macrophages infiltrating the

guza i jego podścieliska nabywają stymulowane przez czynniki podścieliska dwa fenotypy, zwane M1 i M2⁽⁴⁾. Fenotyp M1 jest związany ze stanem zapalnym oraz aktywnością przeciw czynnikom infekcyjnym. Makrofagi M1 są aktywowane pod wpływem cytokin prozapalnych. Charakteryzuje je zdolność do wydzielania następujących cytokin: TNF, interleukiny-8 (IL-8) i interleukiny-12 (IL-12). Są one siłą napędową reakcji zapalnej. Makrofagi M1 produkują także interleukinę-15 (IL-15). Mogą w ten sposób wpływać na proliferację i aktywność pozostałych komórek układu odpornościowego, w tym na limfocyty T i komórki NK. Fenotyp M2 jest związany z remodelowaniem tkankowym, aktywnością proangiogenną i ograniczeniem odpowiedzi układu odpornościowego gospodarza przeciw danemu nowotworowi. Te makrofagi (M2) posiadają zdolność do sekrecji interleukiny-10 (IL-10) oraz wydzielają TGF- β ⁽⁵⁾. Fenotyp M2 związany jest również z wyraźną ekspresją na powierzchni błony komórkowej makrofagów enzymu IDO (*indoleamine 2,3-dioxygenase*), który to enzym wpływa na gospodarkę tryptofanem. Stąd wynika jego zdolność do ograniczenia dojrzewania cytotoksycznych limfocytów T⁽²⁾. Makrofagi M2 są również zdolne do ekspresji matrycowych metaloproteinaz (np. MMP-9 – *matrix metalloproteinases*), enzymów odpowiedzialnych za degradację macierzy międzykomórkowej (procesu ułatwiającego powstanie przerzutów nowotworowych). Fenotyp dominujących makrofagów w mikrośrodkowisku guza zależy od składu profilu cytokinowego tego mikrośrodkowiska. Spośród wielu czynników określających taką dominację najważniejsze wydają się takie interleukiny, jak IL-6 i IL-10. Odnotowano także, że mikrośrodkowisko guza poprzez IL-6 oraz IL-10 stymulowało ekspresję B7H4 na powierzchni makrofagów. B7H4 jest niedawno odkrytym białkiem z rodziny molekuł B7, kostymulujących limfocyty T. Jest to czynnik wpływający hamująco na odpowiedź limfocytów T. Hamuje on *in vitro* zarówno proliferację limfocytów T, jak i cykl komórkowy i produkcję cytokin. Kryczek i wsp. wykazali obecność makrofagów B7H4⁺ w mikrośrodkowisku raka jajnika, potwierdzając silne działanie hamujące tych komórek względem limfocytów T i komórek NK⁽¹⁰⁾. Stwierdzono także, że makrofagi B7H4 współdziałają z limfocytami regulatorowymi (Treg) w selektywnym zahamowaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej układu odpornościowego⁽¹⁰⁾. Analogiczną rolę mogą odgrywać makrofagi zdolne do ekspresji takich antygenów, jak RCAS1 czy HLA-G^(11,12). Ponieważ interakcja tych antygenów z ligandem na powierzchni komórek NK i limfocytów cytotoksycznych T doprowadza do zahamowania aktywności tych ostatnich, tego typu makrofagi znajdujące się w mikrośrodkowisku raka jajnika, raka *endometrium* i raka szyjki macicy wpływają na zahamowanie odpowiedzi układu odpornościowego skierowanej przeciw danemu nowotworowi. Powyższe obserwacje wskazują, że makrofagi M2 stanowią istotną część hamującego profilu mikrośrodkowiska nowotworu, a właśnie taki profil mikrośrodkowiska jest kluczowy dla dalszego wzrostu nowotworu.

tumor and its stroma are stimulated by stromal factors and acquire two basic phenotypes, M1 and M2⁽⁴⁾. The M1 phenotype is associated with inflammation and the fight against inflammatory factors. M1 macrophages are activated by pro-inflammatory cytokines and are able to secrete the cytokines: TNF, interleukin 8 (IL-8), and interleukin 12 (IL-12). They constitute the driving force of inflammatory reaction. M1 macrophages also produce interleukin 15 (IL-15). In this way, they can modify the proliferation and activity of other immune cells, including T lymphocytes and NK cells. The M2 phenotype is associated with tissue remodeling, pro-angiogenic activity, and the inhibition of the host immune response against a particular tumor. M2 macrophages are able to secrete both interleukin 10 (IL-10) and TGF- β ⁽⁵⁾. The M2 phenotype is associated with a noticeable expression of the IDO enzyme (indoleamine 2,3-dioxygenase) on the macrophage cell membrane surface, thus controlling tryptophan metabolism. This gives it the ability to inhibit the maturation of cytotoxic T lymphocytes⁽²⁾. M2 macrophages are also able to express matrix metalloproteinases (for example, MMP-9) which are the enzymes responsible for the degradation of the intercellular matrix (thus facilitating the development of tumor metastases). The phenotype of macrophages predominant in the tumor microenvironment depends on its cytokine profile. Among the several factors that determine such a domination the most important would seem to be the presence of interleukins such as IL-6 and IL-10. Studies have revealed that the presence of IL-6 and IL-10 in the tumor microenvironment may stimulate the expression of B7H4 on the surface of macrophages. B7H4 is a recently discovered protein belonging to the B7 molecule family and co-stimulating T lymphocytes. It is a factor inhibiting T lymphocyte response. *In vitro*, it inhibits both the proliferation of T lymphocytes, cell cycle, and the production of cytokines. Kryczek et al. have demonstrated the presence of B7H4⁺ macrophages in the microenvironment of ovarian cancer, thus confirming a strong inhibitory action of these cells on both T lymphocytes and NK cells⁽¹⁰⁾. It has also been observed that B7H4 macrophages cooperate with Treg lymphocytes in the selective inhibition of the antitumor response of the immune system⁽¹⁰⁾. A similar role may be played by macrophages that are able to express antigens such as RCAS1 or HLA-G^(11,12). As the interaction of these antigens with a ligand on the surface of NK cells and cytotoxic T lymphocytes results in the inhibition of the activity of the latter, the presence of this type of macrophage in the tumor microenvironment of patients with ovarian cancer, endometrial cancer, and cervical cancer may inhibit the immune response against a particular type of tumor. Such observations indicate that M2 macrophages are a significant component of the inhibitory profile of the tumor microenvironment, and precisely such a profile is the chief prerequisite for further tumor growth. The next group of cells responsible for the development and maintenance of the inhibitory profile of the tumor

Kolejną grupą komórek warunkującą powstanie i utrzymanie hamującego profilu mikrośrodowiska nowotworu są limfocyty T regulatorowe (Treg)⁽¹³⁾. Termin *Treg* dotyczy limfocytów T CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺, których nadrzędną funkcją jest regulacja aktywności układu odpornościowego na obwodzie, skierowanej zarówno na antygeny obce, jak i własne. Badania *in vitro* dowodzą, że ludzkie limfocyty Treg wpływają hamująco na odpowiedź immunologiczną zarówno nieswoistą, jak i swoistą. Limfocyty Treg hamują proliferację i produkcję cytokin przez komórki T CD4⁺ i T CD8⁺ oraz produkcję immunoglobulin przez limfocyty B⁽¹⁴⁾. Aktywność regulacyjna limfocytów Treg zależy od obecnych na powierzchni tych limfocytów receptorów, takich jak CCR4, CD25, TLR8 (*toll-like receptors*) oraz CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte antigen-4*)⁽¹⁵⁾. Komórki te charakteryzują się wewnątrzkomórkową ekspresją antygeny CTLA-4. Pod wpływem aktywacji limfocytów antygen CTLA-4 przemieszcza się z cytoplazmy na powierzchnię komórki. Powierzchniowa molekula CTLA-4 odgrywa istotną rolę w regulacji ich aktywności. Antygen CD127 (łańcuch alfa receptora dla interleukiny 7) to marker zahamowania Treg. Aktywowane Treg charakteryzują się fenotypem CD127^{low}⁽¹⁶⁾. Komórki Treg można zidentyfikować przez ekspresję czynnika transkrypcyjnego FOXP3⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Ekspresja FOXP3 ma związek z powstawaniem fenotypu hamującego limfocytów T. Wolf i wsp. wykazali, że niska ekspresja FOXP3 wiązała się z mniejszym ryzykiem wznowy i śmierci u chorych z guzami jajnika, natomiast wysoka ekspresja FOXP3 w guzach – z wyraźnie krótszym przeżyciem całkowitym⁽²⁰⁾. Zahamowanie odpowiedzi układu odpornościowego względem komórek raka jest kontrolowana przez limfocyty Treg. Na aktywność tych limfocytów ma wpływ zarówno TGF-β, jak i IL-10. W celu oznaczenia hamującego potencjału komórek Treg w mikrośrodowisku guza należy zidentyfikować komórki Treg, ale również określić, jaki jest profil cytokinowy i chemokinowy danego guza i jego mikrośrodowiska⁽¹⁰⁾. Limfocyty Treg posiadają na powierzchni błony komórkowej receptory dla chemokin, np. CCR4. Chemokiny, np. CCL22, które są produkowane przez komórki nowotworowe, wpływają na akumulację komórek Treg w mikrośrodowisku guza. Limfocyty T CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ regulują aktywność nie tylko limfocytów T, lecz również innych komórek, takich jak komórki dendrytyczne i komórki NK^(17,21). Stwierdzono, iż w trakcie rozwoju choroby nowotworowej liczebność tej populacji komórek układu odpornościowego wzrasta⁽²²⁾. Ich usunięcie skutkowało podniesieniem miejscowej odpowiedzi immunologicznej. Blokada IL-10 oraz TGF-β częściowo odwraca hamujący wpływ limfocytów Treg. Co więcej, dalsze usuwanie limfocytów CD4⁺ prowadziło do eradykacji miejscowej guza i powstania długotrwałej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Leczenie pacjentów z rakiem jajnika z zastosowaniem monoklonalnego przeciwciała abagowomab (mimikra antygeny CA-125) wyraźnie zmniejszało hamujący funkcjonalny potencjał komórek Treg (CD127)⁽²³⁾. Zauważono, że obecność nacieków

microenvironment are Treg lymphocytes⁽¹³⁾. The term Treg refers to T lymphocytes CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ whose most important function is control of the peripheral immune system activity against both foreign and self antigens. *In vitro* studies have demonstrated that human Treg lymphocytes inhibit both the nonspecific and specific immune response. Treg lymphocytes inhibit the proliferation and production of cytokines by T-cells CD4⁺ and CD8⁺ as well as the production of immunoglobulins by B-lymphocytes⁽¹⁴⁾. The regulatory activity of Treg lymphocytes depends on the receptors present on their surface, such as CCR4, CD25, TLR8 (toll-like receptors), and CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4)⁽¹⁵⁾. These cells feature an intracellular expression of CTLA-4 antigen. Upon activation of lymphocytes, the CTLA-4 antigen moves from the cytoplasm to the cell surface. The superficial CTLA-4 molecule plays an important role in the regulation of their activity while the CD127 antigen (alpha-chain of interleukin 7 receptor) is a marker of Treg inhibition. Activated Treg cells feature the CD127^{low} phenotype⁽¹⁶⁾. Treg cells may be identified based on the expression of the transcription factor FOXP3⁽¹⁷⁻¹⁹⁾ and FOXP3 expression is associated with the development of a phenotype inhibiting T lymphocytes. Wolf et al. have demonstrated that a low level of FOXP3 expression is associated with a reduced risk of recurrence and death in patients with ovarian tumors, while a high level of FOXP3 expression is associated with a significantly shorter overall survival period⁽²⁰⁾. Furthermore, Treg lymphocytes are responsible for the inhibition of the immune response against tumor cells and their activity depends on the presence of both TGF-β and IL-10. In order to assess the inhibiting potential of Treg cells in the tumor microenvironment, not only must Treg cells be identified, but the cytokine and chemokine potential of a particular tumor and its microenvironment must also be defined⁽¹⁰⁾. Treg lymphocytes have receptors on their surface for chemokines such as CCR4. Chemokines produced by cancer cells, for instance, CCL22, affect the accumulation of Treg cells in the tumor microenvironment. T lymphocytes CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ control the activity not only of T lymphocytes, but also of other cells, such as dendritic and NK cells^(17,21). During the development of neoplastic disease, the population of immune cells increases⁽²²⁾. Their elimination results in the enhancement of the local immune response. Blocked IL-10 and TGF-β secretion partly reverses the inhibitory effect of Treg lymphocytes. Furthermore, the elimination of CD4⁺ lymphocytes leads to the local eradication of the tumor as well as the development of a long-lasting antitumor response. Treating ovarian cancer patients with the monoclonal antibody abagowomab (mimicking the CA-125 antigen) clearly reduced the inhibitory functional potential of Treg cells (CD127)⁽²³⁾. It has been noted that the presence of infiltrates of Treg lymphocytes in the tumor microenvironment correlates with a poorer prognosis⁽²²⁾. Elevated levels of Treg cells in the peripheral blood of patients correlate with the

z limfocytów Treg w mikrośrodowisku guza jest związana z gorszym rokowaniem⁽²²⁾. Wzrost populacji komórek Treg we krwi obwodowej koreluje z progresją zarówno raka jajnika, jak i innych nowotworów^(2,3,22). Wykazano, że stosunek limfocytów T CD8⁺ do limfocytów Treg był podstawowym parametrem korelującym z przeżyciem całkowitym u chorych z rakiem jajnika⁽²⁴⁾. W zaawansowanym raku jajnika limfocyty Treg preferencyjnie były przesuwane i gromadziły się w guzie, w płynie z jamy otrzewnowej, rzadko obserwowano je w węzłach odprowadzających limfę z guza. Komórki guza oraz otaczające makrofagi produkowały chemokinę CCL22, która mediowała wędrówkę limfocytów Treg do guza⁽²²⁾. Usunięcie Treg w modelach eksperymentalnych, w przypadku gdy poprzedza wykonanie zabiegu chirurgicznego, sprzyja odtworzeniu komórek pamięci. Komórki te (limfocyty T_{CM}, limfocyty T_{EM}) są zdolne do wytworzenia pełnej odpowiedzi przeciw danemu nowotworowi⁽²⁵⁾. Ostatnio wykazano, że za pomocą oceny liczebności populacji komórek Treg we krwi obwodowej można monitorować poziom natężenia selektywnej supresji układu odpornościowego oraz ocenić, w jaki sposób leczenie chirurgiczne wpływa na zmniejszenie natężenia tego procesu u chorych leczonych z powodu raka jajnika⁽²⁶⁾. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko CD25 wpływało na zmniejszenie liczebności populacji komórek Treg. Skutkiem czego malało natężenie tolerancji immunologicznej względem nowotworu i indukowane było powstanie specyficznych dla guza limfocytów efektorowych CD8⁺ oraz komórek NK. Badano również wpływ zmniejszenia liczby limfocytów Treg wraz z zablokowaniem CTLA-4, którego wynik był synergistyczny i prowadził do maksymalnego odrzucenia guza⁽²⁷⁾. Zmniejszenie liczby limfocytów Treg prowadzi do odbudowania odpowiedzi przeciwnowotworowej. Zastosowanie w praktyce klinicznej usuwania limfocytów Treg wraz z inną interwencją immunologiczną, np. przeniesieniem aktywowanych limfocytów T lub szczepionek z komórek dendrytycznych, może dawać lepszy wynik terapeutyczny. Ostatnio szeroko badany jest związek pomiędzy chemioterapią w leczeniu nowotworów wywodzących się z narządów płciowych a odpowiedzią przeciwnowotworową układu odpornościowego. W szczególności istotny jest wpływ takiej terapii na zmiany w populacji limfocytów Treg. Paclitaksel w badaniach *in vitro* powodował zmniejszenie liczebności populacji komórek Treg. Także połączenie paclitakselu z karboplatiną wpływa hamująco na populację limfocytów Treg, za to prawdopodobnie nie hamuje limfocytów T CD4⁺FOXP3⁻ (limfocytów T efektorowych)^(28,29). Niemniej wydaje się, że u chorych na nowotwory wywodzące się z narządów płciowych należy monitorować poziom selektywnej supresji układu odpornościowego poprzez ocenę populacji Treg we krwi obwodowej. Wyjaśnienie podstaw zależności zmian w populacji Treg i zakresu wpływu na te procesy leczenia skojarzonego pomoże uzasadnić potrzebę uzupełnienia klasycznej chemioterapii o immunoterapię. Klinicznie zmniejszenie

progression of ovarian cancer and other malignancies^(2,3,22). Studies have revealed that the ratio of T lymphocytes CD8⁺ to Treg lymphocytes was the basic parameter correlating with overall survival time in ovarian cancer patients⁽²⁴⁾. In patients with advanced ovarian cancer, Treg lymphocytes were preferentially attracted and accumulated in the tumor and in the peritoneal fluid, whereas they were rarely seen in the lymph nodes draining lymph from the tumor. The cancer cells and macrophages surrounding them produced chemokine CCL22, which mediated the migration of Treg lymphocytes towards the tumor⁽²²⁾. In experimental models the elimination of Treg cells, when performed prior to any surgical procedure, favored the restoration of memory cells. These cells (T_{CM} and T_{EM} lymphocytes) are capable of developing a complete immune response against a particular neoplasm⁽²⁵⁾. Recent studies indicate that in patients treated for ovarian cancer assessing the size of the Treg population in the peripheral blood enables the intensity level of selective suppression of the immune system to be monitored and the influence of surgical treatment on the reduction of the severity of this process to be evaluated⁽²⁶⁾. Moreover, the application of monoclonal antibodies directed against CD25 caused a reduction in the population of Treg cells. As a result, immune tolerance for the tumor decreased and tumor-specific effector lymphocytes CD8⁺ and NK cells appeared. Other issues studied included the impact of reducing the number of Treg lymphocytes along with CTLA-4 inhibition as these have a synergistic effect leading to maximal tumor rejection⁽²⁷⁾. Moreover, a reduced population of Treg cells enables the restoration of an antitumor response. Implementing a reduction of the Treg population in clinical practice combined with another immune intervention, such as the transfer of activated T lymphocytes or vaccines of dendritic cells, may provide a superior therapeutic effect. Recent studies focus on the associations between chemotherapy for genital malignancies and the antitumor response of the host immune system. The impact of such therapy on changes in the Treg population would appear to be particularly important. In *in vitro* studies, paclitaxel caused a reduction in the Treg population, and the combination of paclitaxel and carboplatin had an inhibitory effect on the Treg population, but did not seem to inhibit effector T lymphocytes CD4⁺FOXP3⁻^(28,29). Nevertheless, in cases where patients harbor tumors originating in the genital organs, it would seem that the level of selective suppression of their immune system should be monitored by assessing the Treg population in the peripheral blood. Elucidation of the principles governing the correlations between variations in the Treg population and the scope of the impact on these processes by combined treatment may help to justify the need for combining classic chemotherapy with immune therapy. A clinical reduction in the number of Treg cells may be achieved by administering the monoclonal antibody anti-CD25 (denileukin or daclizumab), thus enhancing the antitumor response and promoting

liczebności populacji Treg można uzyskać poprzez zastosowanie monoklonalnego przeciwciała anti-CD25 (denileukin albo daklizumab), co może wzmacniać odpowiedź przeciwnowotworową i powodować regresję guza. Zmniejszenie liczebności Treg możliwe jest również przy zastosowaniu niskodawkowej terapii cyklofosfamidem, która w badaniach na zwierzętach potęguje efekt immunoterapii przeciwnowotworowej^(30,31). Tak jak w mikrośrodowisku raka znajduje się wiele komórek układu odpornościowego, tak też w obrębie samego guza zidentyfikowano naciek limfocytarny o różnym nasileniu (*tumor-infiltrating lymphocytes*, TIL). Rodzaje tych limfocytów, gęstość oraz lokalizacja w obrębie guza i jego mikrośrodowiska stanowią istotny wskaźnik prognostyczny w różnych rakach, w tym w raku jajnika i szyjki macicy⁽²⁾. Zhang i wsp. wykazali, że wielkość nacieku TIL w ognisku raka jajnika (FIGO III i IV) korelowała z długością przeżycia całkowitego. W grupie chorych z obecnością w guzie limfocytów CD3⁺, CD4⁺ i CD8⁺ odsetek pięcioletnich przeżyć wynosił 38%, podczas gdy u chorych bez nacieku tylko 4,5%. Wyższa koncentracja limfocytów T cytotoksycznych (CD3⁺) w ognisku raka jajnika wiązała się z wydłużeniem okresu wolnego od wznowy⁽³²⁾. Sato i wsp. wykazali, że naciek z limfocytów CD8⁺ koreluje z dłuższym przeżyciem całkowitym⁽²⁴⁾. Z analizy ekspresji mRNA dla FOXP3 w raku jajnika wynika, że jest to niezależny czynnik prognostyczny przeżycia i okresu wolnego od wznowy. Chore z wysoką ekspresją mRNA dla FOXP3 w guzie miały znamienne statystycznie krótsze przeżycie całkowite i okres wolny od wznowy (odpowiednio 27,8 vs 77,3 i 18 vs 57,5 miesiąca)⁽²⁰⁾. W badaniach Curiela i wsp. wykazano, że obecność limfocytów regulatorowych CD4⁺CD25⁺FOXP⁺ u chorych z rakiem jajnika koreluje ze złym rokowaniem⁽²²⁾. Liczba tych limfocytów rośnie wraz z zaawansowaniem nowotworu i jest wyższa w płynie otrzewnowym niż w krwi obwodowej w zaawansowanym raku jajnika. Wykazano, że ryzyko zgonu było 25-krotnie wyższe u chorych z największą liczbą komórek Treg w porównaniu z chorymi z najmniejszą liczbą limfocytów Treg^(16,22).

IMMUNOTERAPIA

Obecnie w leczeniu raka jajnika wykorzystuje się następujące rodzaje immunoterapii: 1) tworzenie szczepionki (której podstawą są antygeny danego guza); 2) aktywację komórek dendrytycznych; 3) usunięcie komórek Treg; 4) aktywację cytotoksycznych komórek T⁽³⁾.

Jedną ze strategii jest przygotowanie szczepionki. Strategia tego rodzaju leczenia zakłada możliwość przygotowania szczepionki dobrej dla danego chorego w taki sposób, aby wspomagała odpowiedź przeciwnowotworową układu odpornościowego gospodarza (analogicznie jak w przypadku szczepionek przeciw antygenom drobnoustrojów). W nabłonkowym raku jajnika wykazano obecność antygenów związanych z guzem NY-ESO-1 oraz LAGE-1. Wykorzystano je do przygotowania odpowiedniej szczepionki

tumor regression. The number of Treg cells may also be reduced by low-dose cyclophosphamide, which in animal studies additionally enhanced the effectiveness of the anti-tumor immune therapy^(30,31). As in the cancer microenvironment, where many different immune cells are present, within the tumor itself there is a lymphocytic infiltrate (tumor-infiltrating lymphocytes, TIL) of varying severity. The types of these lymphocytes, their density, and location within the tumor and its microenvironment are a significant prognostic indicator in cases involving many different types of tumors, including ovarian and cervical carcinomas⁽²⁾. Zhang et al. have demonstrated that the severity of the TIL infiltrate in an ovarian cancer focus (FIGO III and IV) correlates with the length of the time of overall survival for the patient. In a group of patients with CD3⁺, CD4⁺, and CD8⁺ lymphocytes present in their tumors, the 5-year survival rate was 38%, while in those without such an infiltrate it was only 4.5%. A higher density of cytotoxic T lymphocytes (CD3⁺) in an ovarian cancer focus was associated with the prolongation of recurrence-free survival⁽³²⁾. Sato et al. have demonstrated that the infiltrate of CD8⁺ lymphocytes correlates with a longer period of overall survival⁽²⁴⁾. An analysis of the expression of mRNA for FOXP3 in ovarian cancer patients proved this to be an independent prognostic factor for both overall and recurrence-free survival. Patients with an elevated expression of mRNA for FOXP3 in their tumors had significantly shorter overall survival and recurrence-free survival time period (27.8 vs. 77.3 and 18 vs. 57.5 months, respectively)⁽²⁰⁾. In studies by Curiel et al., the presence of regulatory lymphocytes CD4⁺CD25⁺FOXP⁺ in patients with ovarian cancer correlated with a poor prognosis⁽²²⁾. The number of these lymphocytes increases in direct proportion to the clinical stage and in patients with late-stage clinical cancer is higher in the peritoneal fluid than in the peripheral blood. Moreover, the risk of death was demonstrated to be 25-fold greater in patients with the highest density of Treg cells compared with those with the lowest density^(16,22).

IMMUNE THERAPY

The following types of immune therapy are currently used to treat patients with ovarian cancer: 1) the production of a vaccine based on antigens of a particular tumor; 2) the activation of dendritic cells; 3) the elimination of Treg cells; 4) the activation of cytotoxic T cells⁽³⁾.

One strategy is to produce a vaccine. This strategy assumes the ability to prepare a vaccine tailored to a particular patient so as to enhance the host antitumor immune response (similar to vaccines against microbial antigens). The presence of tumor-associated antigens NY-ESO-1 and LAGE-1 has been confirmed in patients with epithelial ovarian cancer. These were then used to produce a corresponding vaccine and, as demonstrated, elicited both the production of specific antibodies and the response of specific T lymphocytes CD4⁺ and CD8⁺⁽³⁾. Similar features

i wykazano, że wywoływały zarówno produkcję swoistych przeciwciał, jak i odpowiedzi specyficznych limfocytów T CD4⁺ oraz CD8⁺(³). Podobnie cechy nasilonej odpowiedzi układu odpornościowego zaobserwowano, gdy do przygotowania szczepionki wykorzystano antygen MUC-1-TRICOM(³). Jednak kliniczna odpowiedź na takie leczenie nie jest pełna. Prawdopodobnie wynika to z braku specyficznych antygenów. Próba wyeliminowania tego problemu to stymulacja limfocytów chorego *in vitro* w środowisku komórek nowotworowych lub ich fragmentów, np. po wcześniejszej lizie. Jednak jak dotąd tworzenie tego rodzaju szczepionek lub podawanie uczulonych *in vitro* limfocytów nie przyniosło wymiernego klinicznego efektu. Prawdopodobną przyczyną jest hamujący profil mikrośrodowiska guza, uniemożliwiający właściwą stymulację antygenową, konieczną dla pozytywnego rezultatu tego rodzaju leczenia. Alternatywne postępowanie stanowi terapia, której podstawą jest aktywacja komórek dendrytycznych. Zakłada ona przygotowanie odpowiednio dojrzałych komórek dendrytycznych z obwodowych monocytów chorej i podanie ich do ogniska nowotworowego (np. ogniska przerzutowego raka jajnika do wątroby). Takie ognisko powinno być wcześniej uszkodzone przez termoablację (*radiofrequency ablation*, RFA). Uszkodzenie ogniska umożliwia ekspozycję antygenów nowotworowych, które wcześniej nie były dostępne dla układu odpornościowego, a podane do tego ogniska komórki dendrytyczne są zdolne do rozpoznania tych antygenów i ich dalszej prezentacji, tak by uruchomić swoistą odpowiedź układu odpornościowego. Podobną strategię wykorzystuje się w terapii bazującej na komórkach MAK (*macrophage-activated killer cells*). W tym przypadku stymulacja lokalnej odpowiedzi układu odpornościowego jest uzyskiwana przez podawanie INF- γ (³). Przedmiotem wielu analiz jest również zastosowanie cytokin w terapii raka jajnika. Wykazano, że cotygodniowa dootrzewnowa infuzja IL-2 może doprowadzić do klinicznej odpowiedzi nawet u 17% chorych na raka jajnika z opornością na związki platyny. Z kolei u chorych na raka jajnika, u których zastosowano monoklonalne przeciwciała anti-CTL-4, zaobserwowano wydłużenie przeżycia całkowitego(³). W badaniach klinicznych II fazy nad zastosowaniem GM-CSF z IFN- γ oraz karboplatiną albo cisplatiną z cyklofosfamidem i INF- γ uzyskano lepszą odpowiedź po dodaniu IFN- γ u chorych z rakiem jajnika(²). Istnieje możliwość bezpośredniego wykorzystania limfocytów T CD4⁺ lub CD8⁺ rozpoznających antygeny nowotworowe(²). Nowa strategia w immunoterapii zakłada w pierwszej kolejności wywołanie odpowiedzi nieswoistej, a w konsekwencji doprowadzenie do swoistej odpowiedzi przeciw guzowi poprzez manipulację w obrębie mikrośrodowiska guza. W takim rodzaju immunoterapii należy jeszcze uwzględnić haplotyp komórek NK chorej. W populacji można wyróżnić zasadniczo dwa haplotypy receptorów KIR, znajdujących się na powierzchni komórek NK. Haplotyp zależy od układu genów na pierwszym chromosomie. W zależności od liczby domen aktywujących lub

of violent immune response were observed when the MUC-1-TRICOM antigen was used to prepare the vaccine(³). However, clinical response to this type of treatment is not complete. This is probably due to a lack of specific antigens. This problem may be solved by the stimulation of the patient's lymphocytes *in vitro* in an environment of tumor cells or their fragments, as, for example, after previous lysis. However, neither the production of this kind of vaccine nor the administration of *in vitro* sensitized lymphocytes provided a measurable clinical effect. This is most likely because in order for this type of treatment to have a favorable outcome it is necessary to inhibit the profile of the tumor microenvironment, precluding a proper antigen-related stimulation. An alternative would be therapy based on the activation of dendritic cells. It assumes preparation of properly matured dendritic cells from the patient's peripheral monocytes and their application directly to the tumor focus (for example, metastatic ovarian cancer within the liver). Such a focus should be previously damaged by radiofrequency ablation (RFA). This conditioning enables the exposure of tumor antigens, normally inaccessible to the immune system, while dendritic cells administered into the focus are able to recognize these antigens and their further presentation, thereby triggering a specific immune response. A similar strategy is used in MAK (macrophage-activated killer cells)-based therapy where the local immune response is stimulated by administering INF- γ (³). The use of cytokines in the treatment of ovarian cancer has also been the subject of several analyses. For example, once a week intraperitoneal infusions of IL-2 may produce a clinical response in up to 17% of platinum-resistant patients. On the other hand, a prolonged period of overall survival has been observed in ovarian cancer patients receiving the anti-CTL-4 monoclonal antibody(³). In phase II clinical trials on the use of GM-CSF with IFN- γ and carboplatin or cisplatin with cyclophosphamide and INF- γ , a better response was achieved after adding IFN- γ to the treatment protocol for ovarian cancer patients(²). There is also the possibility of the direct use of CD4⁺ or CD8⁺ T lymphocytes for recognizing tumor antigens(²). A novel strategy in immune therapy assumes the elicitation a non-specific response as well as the subsequent achievement of a specific antitumor response by altering the tumor microenvironment. In this setting, the haplotype of the patient's NK cells must be taken into account as well. In the general population, two basic haplotypes of KIR receptors may be isolated on the surface of NK cells. A haplotype is determined by the pattern of genes in the first chromosome. Depending on the number of activating or inhibiting domains, the predominant final haplotype may be either an inhibiting or an activating one. The effect of stimulating KIR receptors and thus the activity of NK cells depends on the number of domains involved. Epidemiological studies have revealed that individuals with an activating haplotype enjoy a lower incidence of genital malignancies. Recent studies have confirmed

hamujących dominujący końcowy haplotyp może być hamujący lub aktywujący. O efekcie pobudzenia receptorów KIR, a więc aktywności komórek NK, będzie decydowała liczba domen. W badaniach epidemiologicznych wykazano, że u osób z haplotypem aktywującym rzadziej występują nowotwory wywodzące się z narządów płciowych. Ostatnio potwierdzono możliwość uzyskania wysokiego poziomu odpowiedzi przeciwnowotworowej w układzie nieswoistym, za pomocą transplantacji komórek NK o identycznym haplocyfie od zdrowego dawcy, po uprzedniej znacznej immunosupresji u chorych z rakiem jajnika⁽³³⁾. Wiele terapii immunologicznych stosowanych dotychczas w warunkach eksperymentalnych wykazuje silną immunogenezę oraz możliwość generowania odpowiedzi cytotoksycznej przeciw danemu nowotworowi⁽³⁴⁾. Jednak mechanizm cytotoksycznej pamięci jest złożony. Więc aby osiągnąć cel terapeutyczny, czyli wydłużyć przeżycie całkowite chorych, można dodatkowo właściwie określić fenotyp komórek Treg oraz ich stan funkcjonalny, tak aby odpowiedź generowana w wyniku immunoterapii nie była przez nie hamowana^(23,35). Sposób usunięcia komórek Treg z mikrośrodowiska guza przedstawiono powyżej. Innym sposobem wykorzystania właściwości układu odpornościowego w leczeniu raka jajnika jest zastosowanie monoklonalnych przeciwciał. Temat ten jest ostatnio szeroko omawiany w literaturze przedmiotu^(36,37).

Podsumowując, w leczeniu nowotworów kobiecych narządów płciowych nie wykazano dotychczas jednoznacznie klinicznie satysfakcjonującego efektu immunoterapii. Jednak postęp badań podstawowych w tej dziedzinie pozwala wierzyć, że niebawem uda się go potwierdzić. Kluczem do poprawy skuteczności immunoterapii jest zdefiniowanie właściwego momentu jej zastosowania razem z leczeniem chirurgicznym, radio- i chemioterapią. Wymaga to monitorowania poziomu odpowiedzi układu odpornościowego podczas leczenia systemowego nowotworów. Klinicznie informację taką można zdobyć, monitorując liczebność populacji komórek Treg. Można wpływać na poziom selektywnej supresji układu odpornościowego chorej, ograniczając liczebność populacji komórek Treg, co pozwoli zwiększyć skuteczność w ten sposób zaprojektowanego leczenia systemowego.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Liu J., Yang G., Thompson-Lanza J.A. i wsp.: A genetically defined model for human ovarian cancer. *Cancer Res.* 2004; 64: 1655-1663.
2. Gavalas N.G., Karadimou A., Dimopoulos M.A., Bamias A.: Immune response in ovarian cancer: how is the immune system involved in prognosis and therapy: potential for treatment utilization. *Clin. Dev. Immunol.* 2010; 2010: 791603.
3. Kandalaf L.E., Powell D.J. Jr, Singh N., Coukos G.: Immunotherapy for ovarian cancer: what's next? *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 925-933.

the possibility of achieving a high-level non-specific antitumor response in ovarian cancer patients by transplanting NK cells featuring an identical haplotype from a healthy donor after previous profound immunosuppression⁽³³⁾. Several different types of immune therapies used to date in the experimental setting are highly immunogenic and able to generate a cytotoxic response against a particular type of cancer⁽³⁴⁾. However, the mechanism of cytotoxic memory is quite complex. In order to achieve a therapeutic effect, such as a prolongation of the patient's overall survival time, the phenotype and functional state of Treg cells must be determined to prevent their inhibiting any response from immune therapy^(23,35). The way to eliminate Treg cells from the tumor microenvironment has been presented above. Another way to harness the properties of the immune system in the treatment of ovarian cancer is to make use of monoclonal antibodies. This issue is currently the subject of intense discussion in the pertinent literature^(36,37).

To sum up, in the treatment of female genital malignancies, no clear-cut clinically satisfying effect of immune therapy has been demonstrated to date. Nevertheless, progress in basic research in this field leads us to believe that we will soon be able to confirm its effectiveness. The key issue in improving the efficacy of immune therapy is to identify the optimal time for its implementation in combination with surgery, radio- and chemotherapy. This would require monitoring a patient's level of immune response during the systemic treatment of tumors. In a clinical setting such information may be obtained by assessing the density of the Treg population. The level of the selective suppression of the patient's immune system may be altered by reducing the density of Treg cells, thus increasing the effectiveness of the designed systemic treatment.

4. Allavena P., Sica A., Garlanda C., Mantovani A.: The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. *Immunol. Rev.* 2008; 222: 155-161.
5. Balkwill F.: Cancer and the chemokine network. *Nat. Rev. Cancer* 2004; 4: 540-550.
6. Barnas J.L., Simpson-Abelson M.R., Yokota S.J. i wsp.: T cells and stromal fibroblasts in human tumor microenvironments represent potential therapeutic targets. *Cancer Microenviron.* 2010; 3: 29-47.
7. De Wever O., Mareel M.: Role of tissue stroma in cancer cell invasion. *J. Pathol.* 2003; 200: 429-447.
8. Knowles H., Leek R., Harris A.L.: Macrophage infiltration and angiogenesis in human malignancy. *Novartis Found. Symp.* 2004; 256: 189-200.
9. Mantovani A., Schioppa T., Porta C. i wsp.: Role of tumor-associated macrophages in tumor progression and invasion. *Cancer Metastasis Rev.* 2006; 25: 315-322.
10. Kryczek I., Zou L., Rodriguez P. i wsp.: B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma. *J. Exp. Med.* 2006; 203: 871-881.
11. Basta P., Galazka K., Mach P. i wsp.: The immunohistochemical analysis of RCAS1, HLA-G, and B7H4-positive macrophages in partial and complete hydatidiform mole in both applied therapeutic surgery and surgery followed by chemotherapy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2011; 65: 164-172.

12. Jozwicki W., Windorbska W., Brożyna A.A. i wsp.: The analysis of receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells (RCAS1) immunoreactivity within the microenvironment of the ovarian cancer lesion relative to the applied therapeutic strategy. *Cell Tissue Res.* 2011; 345: 405-414.
13. Gershon R.K., Kondo K.: Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970; 18: 723-737.
14. Wilczynski J.R., Kalinka J., Radwan M.: The role of T-regulatory cells in pregnancy and cancer. *Front. Biosci.* 2008; 13: 2275-2289.
15. Dietl J., Engel J.B., Wischhusen J.: The role of regulatory T cells in ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2007; 17: 764-770.
16. Liu B., Nash J., Runowicz C. i wsp.: Ovarian cancer immunotherapy: opportunities, progresses and challenges. *J. Hematol. Oncol.* 2010; 3: 7.
17. Hinz S., Pagerols-Raluy L., Oberg H.H. i wsp.: Foxp3 expression in pancreatic carcinoma cells as a novel mechanism of immune evasion in cancer. *Cancer Res.* 2007; 67: 8344-8350.
18. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. i wsp.: Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 1995; 155: 1151-1164.
19. Sakaguchi S., Powrie F.: Emerging challenges in regulatory T cell function and biology. *Science* 2007; 317: 627-629.
20. Wolf D., Wolf A.M., Rumpold H. i wsp.: The expression of the regulatory T cell-specific forkhead box transcription factor FoxP3 is associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 8326-8331.
21. Houot R., Perrot I., Garcia E. i wsp.: Human CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells modulate myeloid but not plasmacytoid dendritic cells activation. *J. Immunol.* 2006; 176: 5293-5298.
22. Curiel T.J., Coukos G., Zou L. i wsp.: Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat. Med.* 2004; 10: 942-949.
23. Basta P., Gałązka K., Stasienko E. i wsp.: Analiza immunoreaktywności antygenów B7H4 i HLA-G w ognisku wznowy raka jajnika i jego mikrośrodowisku. *Curr. Gynecol. Oncol.* 2011; 9: 9-17.
24. Sato E., Olson S.H., Ahn J. i wsp.: 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.
25. Côté A.L., Usherwood E.J., Turk M.J.: Tumor-specific T-cell memory: clearing the regulatory T-cell hurdle. *Cancer Res.* 2008; 68: 1614-1617.
26. Wicherek Ł., Jozwicki W., Windorbska W. i wsp.: Analysis of Treg cell population alterations in the peripheral blood of patients treated surgically for ovarian cancer – a preliminary report. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2011; 66: 444-450.
27. Suttmuller R.P., van Duivenvoorde L.M., van Elsas A. i wsp.: 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: 823-832.
28. Wu X., Feng Q.M., Wang Y. i wsp.: The immunologic aspects in advanced ovarian cancer patients treated with paclitaxel and carboplatin chemotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.* 2010; 59: 279-291.
29. Zhu Y., Liu N., Xiong S.D. i wsp.: CD4⁺Foxp3⁺ regulatory T-cell impairment by paclitaxel is independent of toll-like receptor 4. *Scand. J. Immunol.* 2011; 73: 301-308.
30. Liu J.Y., Wu Y., Zhang X.S. i wsp.: Single administration of low dose cyclophosphamide augments the antitumor effect of dendritic cell vaccine. *Cancer Immunol. Immunother.* 2007; 56: 1597-1604.
31. Lutsiak M.E., Semnani R.T., De Pascalis R. i wsp.: Inhibition of CD4⁺25⁺ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide. *Blood* 2005; 105: 2862-2868.
32. Zhang L., Conejo-Garcia J.R., Katsaros D. i wsp.: Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 203-213.
33. Geller M.A., Cooley S., Judson P.L. i wsp.: A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer. *Cytotherapy* 2011; 13: 98-107.
34. Karkada M., Weir G.M., Quinton T. i wsp.: A novel breast/ovarian cancer peptide vaccine platform that promotes specific type-1 but not Treg/Tr1-type responses. *J. Immunother.* 2010; 33: 250-261.
35. Wiśniewski M., Koper K., Łukaszewska E. i wsp.: Changes in the Treg lymphocyte population levels in patients being treated for ovarian cancer with chemotherapy. *Curr. Gynecol. Oncol.* 2011; 9: 139-146.
36. Wicherek Ł., Windorbska W., Wiśniewski M. i wsp.: Monoclonal antibodies in oncologic gynecology. Part I. *Curr. Gynecol. Oncol.* 2012; 10: 38-45.
37. Wicherek Ł., Windorbska W., Wiśniewski M. i wsp.: Monoclonal antibodies in oncologic gynecology. Part II. *Curr. Gynecol. Oncol.* 2012; 10: 46-60.

Szanowni Prenumeratory!

Uprzejmie przypominamy, że zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dn. 6 października 2004 roku w sprawie sposobów dopełnienia obowiązku doskonalenia zawodowego lekarzy i lekarzy dentyistów prenumerata czasopisma „**Current Gynecologic Oncology**”

– indeksowanego w Index Copernicus – umożliwi doliczenie 5 punktów edukacyjnych do ewidencji doskonalenia zawodowego.

Podstawą weryfikacji jest dowód opłacenia prenumeraty lub zaświadczenie wydane przez Wydawcę.