

## Teoria immunoedycji – sieci immunosupresyjne w mikrośrodowisku nowotworów. Nowe cele dla immunoterapii

Immune edition theory – immunosuppressive network in tumor microenvironment.

New targets for immunotherapy

Теория иммуноэдиции – иммуносупрессионные сети в микросреде новообразований.

Новые цели для иммунотерапии

Katedra i Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Kierownik Kliniki: dr n. med. Dariusz Wydra

Correspondence to: Jacek J. Sznurkowski, Katedra i Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego,

ul. Kliniczna 1 A, 80-402 Gdańsk, tel.: 0 583 493 436, e-mail: jacek.sznurkowski@amg.gda.pl

Source of financing: Department own sources

### Streszczenie

W ostatnim czasie szczególnego znaczenia w onkologii nabiera immunoterapia. Dotychczasowe strategie immunoterapeutyczne skupiały się głównie na stymulowaniu lub uzupełnianiu funkcji komórek efektorowych. W ostatnim dziesięcioleciu dokonał się ogromny postęp w zrozumieniu sposobu, w jaki guzy nowotworowe nabywają zdolność do ucieczki przed układem immunologicznym. Pojawiło się pojęcie sieci immunosupresyjnej powstającej pod wpływem raka. Wykładnikiem immunosupresji w mikrośrodowisku guzów nowotworowych jest obecność regulatorowych limfocytów T ( $T_{regs}$ ), które należą do podgrupy komórek CD4+T. Ekspresja FOXP3 jest bezpośrednio związana z supresyjną funkcją tych komórek. W innych badaniach wykazano, że indoleamina 2,3-dioksygenaza (IDO) powoduje powstawanie obwodowej tolerancji immunologicznej wobec antygenów guza. W stanie fizjologicznym IDO jest niezbędna w tworzeniu środowiska, które ogranicza zniszczenie tkanek przez „nadaktywny” układ odpornościowy. Uważa się, że zwiększanie supresji immunologicznej przez IDO umożliwia przetrwanie i wzrost komórek rakowych. Analiza ekspresji antygenów FOXP3 oraz IDO pozwoli na zbadanie, jak duża jest „sieć immunosupresyjna” w bezpośrednim sąsiedztwie komórek raka sromu oraz w przyległym do nich układzie limfatycznym. Poszukiwanie „sieci immunosupresyjnych” wytwarzanych przez nowotwór wydaje się mieć ogromne znaczenie, ponieważ mogą dostarczyć całkiem nowych miejsc dla terapeutycznej interwencji, tym razem przy użyciu małych związków molekularnych zamiast stosowanych dotychczas (w immunoterapiach) czynników biologicznych. W poniższym artykule autorzy wyjaśniają podstawy teorii immunoedycji oraz opisują udział IDO i regulatorowych limfocytów T ( $T_{regs}$ ) w ucieczce komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego.

**Słowa kluczowe:** rakowa immunoedycja, IDO, IDO2, indoleamina 2,3-dioksygenaza,  $T_{regs}$ , FOXP3, ucieczka immunologiczna

### Summary

Immunotherapy nowadays becomes an increasingly important topic in oncology. Immunotherapeutic strategies implemented to date focused mainly on stimulation or supplementation of function of effector cells. Past decade witnessed a tremendous progress in our understanding of mechanisms whereby tumors acquire an ability to escape host's immune surveillance. There appeared the notion of cancer-dependent "immunosuppressive network". An indicator of immunosuppression in tumor microenvironment is the presence of regulator T lymphocytes ( $T_{regs}$ ) of the CD4+T subgroup. Expression of FOXP3 is directly associated with suppressive function of these cells. Other studies revealed that indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) induces peripheral immune tolerance to tumor antigens. In physiological conditions, IDO is indispensable in creation of a microenvironment preventing destruction of selected tissues by "hyperactive" immune system. It is currently believed that IDO-dependent increase of immune suppression enables survival and proliferation of cancer cells. Analysis of expression of FOXP3 antigens and IDO will provide an insight to the extent of "immunosuppressive

network” in direct neighborhood of vulvar cancer cells and in adjacent lymphatic system. Further research focused on tumor-dependent “immunosuppressive network” is of paramount importance, as it may provide entirely new targets for therapeutic intervention, this time using low-molecular-weight compounds instead of biological factors used hitherto in immune therapies. This paper explains basic concepts of immunoediting theory and describes the role of IDO and regulatory T lymphocytes ( $T_{regs}$ ) in the escape of cancer cells from immune surveillance.

**Key words:** cancer immunoediting, IDO, IDO2, indoleamine 2,3-dioxygenase,  $T_{regs}$ , FOXP3, immune escape

## Содержание

В настоящее время особенное значение в онкологии играет иммунотерапия. Проводимая до сих пор иммунотерапевтическая стратегия концентрировалась главным образом на стимулировании или дополнении деятельности эффекторных клеток. Однако на протяжении последнего десятилетия можно было заметить огромный прогресс в понимании способности так наз. выхода опухолей новообразований при встрече с иммунологической системой. В связи с этим появилось понятие иммуносупрессионной сети образуемой под влиянием рака. Показателем иммуносупрессии в микросреде опухолей новообразований является наличие регулирующих лимфоцитов Т ( $T_{regc}$ ), которые принадлежат к подгруппе клеток КД4+Т. Выразительность ФОХПЗ связана непосредственно с супрессионной функцией упомянутых клеток. В некоторых исследованиях отмечается, что индолеамин 2,3-диоксигеназа (ИДО) способствует образованию периферической иммунологической толерантности в отношении антигенов опухоли. В физиологическом состоянии ИДО необходимо при образовании среды, которая ограничивает уничтожение клеток при помощи „слишком активной” невосприимчивости системы к определенной болезни. Считается, что увеличение иммунологической супрессии при помощи ИДО создает возможность сохранения и развития раковых клеток. Анализ выразительности антигенов ФОХПЗ и ИДО создает возможность исследования величины иммуносупрессионной сети в непосредственном соседстве раковых клеток в вульве и в примыкающей к ним лимфатической системе. Поиск иммунологических сетей, которые связаны с новообразованиями, может иметь большое значение, так как может давать совершенно новые возможности для терапевтического вмешательства, теперь при использовании небольших молекулярных соединений веществ вместо применяемых до сих пор при иммунотерапии биологических возбудителей. В настоящей статье авторы объясняют основы теории иммуноэдиции и дают описание участия ИДО, а также регуляторных лимфоцитов Т ( $T_{regc}$ ) в выходе клеток новообразований из-под иммунологического наблюдения.

**Ключевые слова:** раковая иммуноэдиция, ИДО, ИДО2, индолеамин 2,3-диоксигеназ,  $T_{regc}$ , ФОХПЗ, „выход” иммунологический

## TEORIA IMMUNOEDYCJI W NOWOTWORACH: NADZÓR IMMUNOLOGICZNY, RÓWNOWAGA I UCIECZKA

**W** 1863 roku Rudolf Virchow zauważył, że guzy nowotworowe są zawsze nacieczone leukocytami, i zasugerował związek pomiędzy „przebiegami” zapalnymi a złośliwieniem komórek. Na podstawie tych obserwacji Paul Ehrlich sformułował teorię dotyczącą nadzoru immunologicznego nad nowotworem, którą potwierdzili w latach pięćdziesiątych dwudziestego wieku Lewis Thomas i Macfarlane Burnet<sup>(1)</sup>.

Koncepcja jednak nie była dalej rozwijana przez ponad 50 lat. Odżyła ponownie na początku XXI wieku (po opublikowaniu wyników badań nad częstością nowotworów u myszy transgeniczných z genetycznie określonymi niedoborami odporności<sup>(2)</sup>). W 2004 roku Dunn i wsp. przedstawili nowatorską tezę „immunoedycji” układu odpornościowego<sup>(3)</sup>.

Teoria immunoedycji zakłada, że relacje pomiędzy nowotworem a układem odpornościowym są plastyczne i mają różne etapy. W pierwszym etapie układ odpornościowy zostaje wzbudzany przez uszkodzenia genetyczne komórek odpowiedzialne za genезę nowotworu. Powstaje odpowiedź immunologiczna skierowana przeciwko guzowi określana jako nadzór

## IMMUNOEDITION THEORY IN TUMORS: IMMUNE SURVEILLANCE, EQUILIBRIUM AND ESCAPE

**I**n 1863, Rudolf Virchow noticed that malignant tumors are always infiltrated by leukocytes and suggested an association between inflammatory “infiltrates” and malignant transformation of cells. Based on these observations, Paul Ehrlich formulated a theory concerning immune surveillance of tumors, which was confirmed by Lewis Thomas i Macfarlane Burnet in the ‘50s of the past century<sup>(1)</sup>.

Unfortunately, during the next 50 years, this concept has not been developed. It was revived again at the beginning of the present century after publication of results of studies on the incidence of tumors in transgenic mice with genetically determined immune deficit<sup>(2)</sup>. In 2004, Dunn et al. presented an innovative theory on “immune edition” of the immune system<sup>(3)</sup>. The “immune edition” theory assumes that interaction between tumor and host’s immune system is dynamic and has several phases.

In the first phase, host’s immune system is stimulated by genetic alterations at the cellular level, which are responsible for malignant transformation. Immune response thus generated and directed against the tumor is defined as immune surveillance.

immunologiczny. Na tym etapie nie ma klinicznych objawów choroby, a układ odpornościowy może skutecznie pokonać nowotwór, likwidując uszkodzone komórki<sup>(4)</sup>.

Przedłużająca się wybiórcza walka nadzoru immunologicznego z guzem może prowadzić do drugiego etapu immunoedycji, w którym nowotwór nie jest już całkowicie eliminowany i utrzymuje się w sprzyjającym mikrośrodkowisku tkankowym. Podczas tej fazy komórki guza kontynuują podziały, ale układ immunologiczny jest wciąż w stanie utrzymać nowotwór pod kontrolą. Powstaje równowaga immunologiczna. Klinicznie brak jest objawów choroby i wykrycie jej może być wyłącznie przypadkowe. Wyniki obserwacji pochodzących z leczenia pacjentów po przeszczepach narządów zdecydowanie potwierdzają tezę, że nieczynne schorzenia mogą istnieć w równowadze immunologicznej przez wiele lat, zanim staną się „nowotworem”<sup>(5)</sup>.

W trzecim i ostatnim etapie immunoedycji komórki nowotworowe osiągają stan, po którym mogą skutecznie uciekać, blokować i rozregulowywać układ odpornościowy. Następuje ucieczka immunologiczna nowotworu. Wówczas uszkodzenia postępują i choroba staje się klinicznie widoczna.

Poznanie mechanizmu ucieczki immunologicznej nowotworu jest kluczowe dla zrozumienia jego patofizjologii w wymiarze klinicznym, ponieważ proces ten zamienia „uśpione” uszkodzenia komórek w objawową chorobę nowotworową. Opracowanie skutecznych sposobów walki z ucieczką immunologiczną stwarza nadzieję na nowe metody leczenia nowotworów, zwłaszcza po zabiegach operacyjnych. W ostatnim dziesięcioleciu dokonał się znaczący postęp w wyjaśnieniu mechanizmów nabywania zdolności do ucieczki immunologicznej przez guzy nowotworowe<sup>(6,7)</sup>. Większość dotychczasowych strategii immunoterapeutycznych skupia się głównie na stymulowaniu lub uzupełnianiu funkcji komórek efektorowych. Być może wszystkie ograniczenia tych terapii wynikają z faktu występowania „sieciami immunosupresyjnymi” w mikrośrodkowisku guzów nowotworowych. Wydaje się, że zakłócenie mechanizmów immunosupresji może skutecznie odblokować układ odpornościowy i w rezultacie skierować pełen potencjał odporności przeciwko guzowi. Sieci immunosupresyjne dostarczają zatem zupełnie nowych miejsc do terapeutycznej interwencji, tym razem małymi molekułarnymi związkami zamiast biologicznych czynników, co może okazać się tańsze, łatwiejsze do wykonania, a z biegiem czasu bardziej efektywne<sup>(8)</sup>.

### IDO – ENZYM IMMUNOSUPRESJI

Indoleamina 2,3-dioxygenaza (IDO) jest enzymem katalizującym tryptofan (EC 1.13.11.42), kodowanym przez gen *INDO* zlokalizowany na ludzkim chromosomie 8p12<sup>(9)</sup>. Przedstawienie pod koniec lat dziewięćdziesiątych przez Munn i wsp.<sup>(10)</sup> z Medical College of Georgia dowodów, że aktywność IDO jest niezwykle istotna w uniknięciu allogenicznego odrzucenia płodu przez matczyne układ odporności T-komórkowej u myszy, zainicjowało całą serię badań, w których wykazano immunosupresyjną rolę IDO w regulacji komórek T w nowotworach oraz w podtrzymywaniu różnorodnych przewlekłych infekcji, w tym infekcji wirusowych, pasożytniczych i bakteryjnych, takich jak wirus HIV, malaria, żółtaczkę typu C, *Toxoplasma gondii* czy *Chlamydia trachomatis*<sup>(9,11)</sup>.

At this phase, no clinical symptoms occur and the immune system may effectively eliminate the tumor by liquidation of damaged cells<sup>(4)</sup>.

Prolonged selective fight of immune surveillance against the tumor may lead to the second phase of immune edition, where the tumor is not entirely eliminated and may survive in a favorable tissue microenvironment. At this phase, tumor cells continue to multiply, but host's immune system is still able to control the tumor. A state of immune equilibrium exists, where no clinical symptoms are present and the disease may be detected only accidentally.

Clinical experience with post-transplantation patients confirm that inactive diseases may remain in a state of immune equilibrium for many years, before becoming an active tumor<sup>(5)</sup>.

At the third and last phase of immune edition, tumor cells reach a state, where they are able to escape, block and deregulate host's immune system. The tumor enters the phase of "immune escape". Damage progresses and the disease becomes symptomatic.

Discovery of the mechanism of immune escape is crucial for our understanding of its pathophysiology in the clinical dimension, as this process transforms "latent" cellular damage into symptomatic neoplastic disease. Development of effective techniques counteracting immune escape may provide novel anticancer therapies, particularly in patients after surgical procedures. The past decade witnessed a significant progress in elucidation of mechanisms of immune escape of malignant tumors<sup>(6,7)</sup>. Most immune-therapeutic strategies implemented hitherto focused mainly on stimulation or supplementation of effector cells' function. It is possible that all limitations of these therapies result from the existence of "immunosuppression networks" in tumor microenvironment. It appears that inhibition of immunosuppressive mechanisms may effectively de-block host's immune system and result in directing his entire immune potential against the tumor. Immunosuppressive networks provide wholly new targets for therapeutic intervention, this time using small, low-molecular weight substances instead of biological factors, which may prove cheaper, technically easier and more effective in the long run<sup>(8)</sup>.

### IDO – THE ENZYME OF IMMUNOSUPPRESSION

Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) is a tryptophan catalyzing enzyme (EC 1.13.11.42), encoded by *INDO* gene, in humans located in the chromosome locus 8p12<sup>(9)</sup>. Evidence presented by late '90s by Munn et al.<sup>(10)</sup> from Medical College of Georgia that IDO activity is crucial for avoiding of allogenic rejection of fetus by maternal immune system mediated by T-cells in mice, initiated an entire series of studies which confirmed an immune-suppressive role of IDO in regulation of T-cells in tumors and in maintaining several chronic infections, including viral, parasitic and bacterial, e.g. HIV, malaria, hepatitis C, toxoplasmosis or chlamydiosis<sup>(9,10)</sup>. Under normal physiological conditions, IDO is indispensable for creation of a microenvironment preventing destruction of cells by "hyperactive" immune system. Excessive immune suppression by IDO enables survival and proliferation of tumor cells producing specific antigens, which normally might be recognized as alien.

W normalnym stanie fizjologicznym IDO jest niezbędna w tworzeniu środowiska, które ogranicza zniszczenie tkanek przez „nadaktywny” układ odpornościowy. Zwiększanie supresji immunologicznej IDO umożliwia przetrwanie i wzrost komórek guza produkujących specyficzne antygeny, które normalnie byłyby rozpoznawane jako obce.

### AKTYWNOŚĆ IDO W NOWOTWORACH U LUDZI

Aktywacja IDO jest przykładem mechanizmu, w którym komórki guza mogą opuścić układ immunologiczny. Korzyść komórki nowotworowej związana z przetrwaniem poprzez aktywację IDO jest okupiona wyzbyciem się niezbędnych do życia aminokwasów egzogennych<sup>(9)</sup>.

Zależność między nowotworem i zwiększonym katabolizmem tryptofanu była odkryta w moczu pacjentów chorych na raka pęcherza moczowego już w latach pięćdziesiątych XX wieku<sup>(12)</sup>. Dodatkowe badania potwierdziły, że podobne zjawisko ma miejsce w nowotworach piersi, nowotworach prostaty, chłoniakach oraz w białaczkach<sup>(13-16)</sup>.

Do chwili obecnej opublikowano kilka prac sugerujących, że nadekspresja IDO jest związana z obniżeniem prognozy w nowotworach.

W badaniu obejmującym niewielką liczbę surowiczych raków jajnika wykazano pozytywną korelację między ekspresją IDO mRNA w guzach nowotworowych pobranych od pacjentów w stopniu IIIC wg FIGO a opornością na paklitaksel. Dodatkowo analiza ekspresji antygenów IDO oceniana metodami immunohistochemicznymi wykazała korelację odwrotną do czasu przeżycia pacjentów w stopniu III i IV wg FIGO<sup>(17)</sup>.

Podobny trend był obserwowany na większym materiale w badaniu IDO w przypadkach raka odbytu<sup>(18)</sup>. Wysoka ekspresja IDO wiązała się ze znaczną redukcją komórek TCD3+ w porównaniu z próbkami tkanek wykazujących niską ekspresję IDO. Ponadto wysoka reaktywność immunologiczna IDO w znacznym stopniu korelowała z częstością przerzutów do wątroby. Analiza metodą Kaplana-Meiera nie wykazała żadnych różnic w przeżywalności w obu porównywanych grupach, jednak wysoka ekspresja IDO wyłoniła się w tym badaniu jako niezależna zmienna prognostyczna. Co ciekawe, w tej samej grupie badanych zaobserwowano podwyższony poziom IDO w tkankach, w których rozpoznano histopatologicznie nieswoiste zapalenie jelit. Występowanie tego schorzenia jest uznanym czynnikiem ryzyka raka jelita grubego<sup>(18)</sup>.

### IDO2: DRUGI ENZYM KATABOLIZUJĄCY TRYPTOFAN

Odkrycie genu nazwanego *IDO2* albo *INDOL1* spowodowało nowe podejście do badań nad IDO. Poszukiwania sekwencji nukleotydów powiązanych z *INDO* w bazie ludzkiego genu doprowadziło do poznania drugiego genu, który jest powiązany z *INDO*, na ludzkim chromosomie 8p12<sup>(9)</sup>. Produkcja IDO2 w tkankach okazuje się dużo wyższa niż ekspresja

### IDO ACTIVITY IN HUMAN TUMORS

IDO activation is an example of a mechanism, whereby tumor cells may escape host's immune surveillance. Profit in the form of IDO-dependent survival of tumor cells prevails over its cost, i.e. loss of essential exogenous amino acids<sup>(9)</sup>.

Correlation between tumor and increased catabolism of tryptophan was discovered while studying urine of bladder tumor patients in the '50s of the past century<sup>(12)</sup>. Subsequent studies revealed a similar phenomenon in patients with breast and prostate tumors, lymphomas and leukemias<sup>(13-16)</sup>.

To date, several papers were published, suggesting that IDO overexpression in cancer patients is an unfavorable prognostic factor. One study including a limited number of serous ovarian cancer patients revealed a positive correlation between IDO mRNA expression in surgical specimens of tumors obtained from FIGO stage IIIC patients and resistance to paclitaxel. Furthermore, an analysis of IDO antigens expression using immunohistochemical technique revealed an inverse correlation thereof with survival in patients at FIGO stages III and IV<sup>(17)</sup>.

A similar trend was observed in a large-scale study on the role of IDO in anal cancer<sup>(18)</sup>. High IDO expression as associated with significantly reduced TCD3+ cells' level as compared with tissue samples demonstrating low IDO expression. Furthermore, high immune reactivity of IDO correlated significantly with the incidence of liver metastases. A Kaplan-Meier analysis did not reveal any differences in survival in both compared groups, although a high IDO expression turned out to be an independent prognostic variable. Interestingly enough, the same group of patients presented an elevated IDO level in tissues where histologically non-specific bowel inflammation was subsequently diagnosed. Presence of this condition is a recognized risk factor for large bowel cancer<sup>(18)</sup>.

### IDO2: ANOTHER TRYPTOPHAN CATABOLIZING ENZYME

Discovery of the gene *IDO2* or *INDOL1* opened new horizons in IDO studies. A search for *INDO*-associated sequence of nucleotides based on human genome has led to the discovery of a second gene, also *INDO*-associated, located on human chromosome 8p12<sup>(9)</sup>. Tissue production of IDO2 turned out to be much higher than *INDO* expression. While IDO and IDO2 proteins are not highly homogenous (identical in 43%), amino acids which determine catalytic activity of IDO, are also present in IDO2<sup>(9)</sup>.

Both IDO and IDO2 are potential targets for 1-methyltryptophan (1MT), which is a strong inhibitor of both enzymes.

### REGULATOR T CELLS (T<sub>regs</sub>) – KEY COMPONENT OF IMMUNOSUPPRESSION NETWORK. NEW THERAPEUTIC PERSPECTIVES

Regulator T cells (T<sub>regs</sub>) play a crucial role in ensuring peripheral tolerance of own and foreign antigens. Compromised



INDO. Mimo że białka IDO i IDO2 nie wykazują wysokiej homologiczności (w 43% identyczne), to jednak aminokwasy istotne w aktywności katalitycznej IDO są również zawarte w IDO2<sup>(9)</sup>.

Zarówno IDO, jak i IDO2 są potencjalnym celem dla 1-metylotryptofanu (1MT), który jest silnym inhibitorem dla obu enzymów.

### KOMÓRKI REGULATOROWE (T<sub>regs</sub>) – KLUCZOWY ELEMENT SIECI IMMUNOSUPRESYJNEJ. NOWE PERSPEKTYWY TERAPEUTYCZNE

Regulatorowe komórki T (T<sub>regs</sub>) odgrywają kluczową rolę w zapewnieniu obwodowej tolerancji wobec własnych i obcych antygenów. Osłabienie funkcji komórek (T<sub>regs</sub>) jest związane z różnymi autoimmunologicznymi chorobami, takimi jak toczeń rumieniowaty układowy, cukrzyca typu I, reumatoidalne zapalenie stawów i stwardnienie rozsiane<sup>(3)</sup>.

Szczególnie znaczenie dla badań onkologicznych miało częstsze stwierdzanie komórek T<sub>regs</sub> z aktywnością supresorową w guzach złośliwych i krwi chorych na raka niż populacji zdrowej<sup>(19)</sup>. Zablockowanie funkcji komórek T<sub>regs</sub> w modelach guzów u myszy spowodowało silne wzmocnienie odporności przeciwko guzowi oraz jego całkowitą eliminację, co wskazuje na istotną rolę komórek T<sub>regs</sub> w odporności guzowej.

Komórki T<sub>regs</sub> należą do podgrupy komórek CD4+T i stanowią około 10-15% wszystkich komórek CD4+T. Najbardziej specyficznym markerem dla komórek T<sub>regs</sub> jest regulator transkrypcji FOXP3. Ekspresja FOXP3 jest bezpośrednio związana z supresyjną funkcją komórek T<sub>regs</sub>, a transfer genu retrowirusowego FOXP3 do komórek CD4+/CD25-T zamienia je w komórki T<sub>regs</sub><sup>(20)</sup>.

W 2005 roku zidentyfikowano wysoko selektywny włącznik dla specyficznego inaktywacji komórek T<sub>regs</sub> u myszy. Wytworzono agonistyczne przeciwciało, które przylączy się do mysiego białka GITR (*glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor* – receptora czynnika nekrozy guza indukowanego przez glukokortykoidy). Receptor GITR w nieznanym stopniu ulega ekspresji na komórkach T w stanie spoczynku, ale ulega znaczącej ekspresji na komórkach T<sub>regs</sub> i jest natychmiastowo regulowany tak, by aktywować cytotoksyczne komórki T. U myszy wzbudzenie T<sub>regs</sub> przez GITR wraz ze specyficzną antygenową stymulacją likwidują supresyjną funkcję T<sub>regs</sub>. W niektórych modelach guza u myszy regularne stosowanie przeciwciał przeciwko GITR (DTA-1) powoduje znaczne, a czasem nawet całkowite zniszczenie guza<sup>(21)</sup>.

Korzystny efekt działania przeciwciał przeciwko receptorom GITR udowodniono również w mysim modelu raka szyjki macicy<sup>(22)</sup>.

Reasumując, można stwierdzić, że w dotychczasowych badaniach wykazano, iż IDO jest istotnym enzymem dla antynowotworowych reakcji zachodzących w mikrośrodowisku guza. Podobnie komórki regulatorowe CD4+/CD25+/FOXP3+T w badaniach eksperymentalnych wydają się kluczowym elementem nadzoru immunologicznego nad rakiem.

function of T<sub>regs</sub> is associated with several autoimmune disorders, e.g. systemic lupus erythematoses, type I diabetes, rheumatoid arthritis and multiple sclerosis<sup>(3)</sup>.

Of particular importance for oncologic studies was the discovery of higher T<sub>regs</sub>-dependent suppressor activity in tumor tissue and in blood of cancer patients than in healthy controls<sup>(19)</sup>. Inhibition of T<sub>regs</sub> function in murine tumor models resulted in a significant enhancement of resistance directed against the tumor and its subsequent total elimination, thus confirming a crucial role of T<sub>regs</sub> cells in antitumor resistance.

T<sub>regs</sub> belong to the CD4+T subgroup and constitute about 10-15% of all CD4+T cells. Most specific marker of T<sub>regs</sub> cells is FOXP3 transcription regulator. FOXP3 expression is directly associated with suppressor function of T<sub>regs</sub> cells and transfer of the FOXP3 retroviral gene to CD4+/CD25-T cells turns them into T<sub>regs</sub> cells<sup>(20)</sup>.

In 2005, a highly selective trigger for specific inactivation of murine T<sub>regs</sub> cells was identified. An antagonist antibody was obtained, showing an affinity to murine GITR protein (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor). GITR receptor is only weakly expressed in inactive T-cells, but its expression increases dramatically in T<sub>regs</sub>, being immediately regulated so as to activate cytotoxic properties of T cells. In mice, specific antigen-dependent stimulation of T<sub>regs</sub> by GITR, suppress the inhibitory function of T<sub>regs</sub>. In some murine tumor models, regular administration of anti-GITR antibodies (DTA-1) resulted in a significant and sometimes even total elimination of tumor<sup>(21)</sup>.

Favorable effect of anti-GITR antibodies was also confirmed in the murine cervical cancer model<sup>(22)</sup>.

To sum up we may state that hitherto performed studies demonstrated a crucial role of IDO in antitumor response taking place in tumor microenvironment. Similarly, experimental studies reveal that regulator cells CD4+/CD25+/FOXP3+T appear to be a key component of antitumor immune surveillance mechanisms.

#### PIŚMIENNICTWO: BIBLIOGRAPHY:

1. Burnet M.: Cancer: a biological approach: III. Viruses associated with neoplastic conditions. IV. Practical applications. Br. Med. J. 1957; 1: 841-847.
2. Dunn G.P., Koebel C.M., Schreiber R.D.: Interferons, immunity and cancer immunoediting. Nat. Rev. Immunol. 2006; 6: 836-848.
3. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D.: The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. Immunity 2004; 21: 137-148.
4. Gasser S., Raulet D.H.: The DNA damage response arouses the immune system. Cancer Res. 2006; 66: 3959-3962.
5. MacKie R.M., Reid R., Junor B.: Fatal melanoma transferred in a donated kidney 16 years after melanoma surgery. N. Engl. J. Med. 2003; 348: 567-568.
6. Zou W.: Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. Nat. Rev. Cancer 2005; 5: 263-274.
7. Kim R., Emi M., Tanabe K., Arihiro K.: Tumor-driven evolution of immunosuppressive networks during malignant progression. Cancer Res. 2006; 66: 5527-5536.

8. Muller A.J., Scherle P.A.: Targeting the mechanisms of tumoral immune tolerance with small-molecule inhibitors. *Nat. Rev. Cancer* 2006; 6: 613-625.
9. Katz J.B., Muller A.J., Prendergast G.C.: Indoleamine 2,3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunol. Rev.* 2008; 222: 206-221.
10. Munn D.H., Zhou M., Attwood J.T. i wsp.: Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science* 1998; 281: 1191-1193.
11. Zou W.: Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6: 295-307.
12. Boyland E., Williams D.C.: The estimation of tryptophan metabolites in the urine of patients with cancer of the bladder. *Biochem. J.* 1955; 60: v.
13. Ambanelli U., Rubino A.: Some aspects of tryptophan – nicotinic acid chain in Hodgkin's disease. Relative roles of tryptophan loading and vitamin supplementation on urinary excretion of metabolites. *Haematol. Lat.* 1962; 5: 49-73.
14. Ivanova V.D.: Disorders of tryptophan metabolism in leukaemia. *Acta Unio Int. Contra Cancrum* 1964; 20: 1085-1086.
15. Rose D.P.: Tryptophan metabolism in carcinoma of the breast. *Lancet* 1967; 1: 239-241.
16. Wolf H., Madsen P.O., Price J.M.: Studies on the metabolism of tryptophan in patients with benign prostatic hypertrophy or cancer of the prostate. *J. Urol.* 1968; 100: 537-543.
17. Okamoto A., Nikaido T., Ochiai K. i wsp.: Indoleamine 2,3-dioxygenase serves as a marker of poor prognosis in gene expression profiles of serous ovarian cancer cells. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 6030-6039.
18. Brandacher G., Perathoner A., Ladurner R. i wsp.: Prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in colorectal cancer: effect on tumor-infiltrating T cells. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 1144-1151.
19. Barnett B., Kryczek L., Cheng P. i wsp.: Regulatory T cells in ovarian cancer: biology and therapeutic potential. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2005; 54: 369-377.
20. Zheng Y., Rudensky A.Y.: Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat. Immunol.* 2007; 8: 457-462.
21. Ko K., Yamazaki S., Nakamura K. i wsp.: Treatment of advanced tumors with agonistic anti-GITR mAb and its effects on tumor-infiltrating Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 2005; 202: 885-891.
22. Loddenkemper C., Hoffmann C., Stanke J. i wsp.: Regulatory (FOXP3<sup>+</sup>) T cells as target for immune therapy of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. *Cancer Sci.* 2009; 100: 1112-1117.