

Immunoonkologia – nowe dane

Zdzisław Gliński, Krzysztof Kostro

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Współcześnie stosowane metody diagnostyczne i terapia chorób nowotworowych, pomimo że mają do odnotowania duże sukcesy na polu wyleczeń, przedłużenia życia, ograniczenia przerzutów, ciągle nie spełniają oczekiwań. Metoda chirurgiczna, radioterapia i chemioterapia są metodami inwazyjnymi i często przynoszą większe szkody dla leczonego organizmu na skutek działań niepożądanych,

aniżeli uzyskane efekty lecznicze. Nowym bodźcem dla doskonalenia diagnostyki, a zwłaszcza terapii raka, stało się odkrycie i poznanie roli mechanizmów immunologicznych w chorobie nowotworowej.

Immunoonkologia jest względnie nową, bo licząca około 30 lat, dziedziną wiedzy, której osiągnięcia z ostatnich lat są wykorzystywane od pewnego czasu jako jedna z najbardziej obiecujących metod terapii

nowotworów przy wykorzystaniu układu odpornościowego pacjenta. Leczenie oparte o immunoonkologię jest o wiele skuteczniejsze aniżeli dotychczas stosowane, selektywniej ukierunkowane na komórki nowotworowe, dające często długotrwałe efekty, a przy tym mniej inwazyjne. U podstaw immunoonkologii leżą trzy zjawiska odgrywające kluczowe znaczenie w powodzeniu tej metody terapeutycznej. Po pierwsze istotny udział układu odpornościowego w odporności przeciwnowotworowej, z czym integralnie łączy się wykrywanie przez układ odpornościowy komórek nowotworowych jako „obce” (non-self) dla organizmu dzięki obecności antygenów swoistych dla nowotworu (tumor specific antigens – TSA) występujących tylko

na komórkach nowotworowych (1, 2). Po drugie możliwość podejmowania przez wyspecjalizowane komórki układu odpornościowego selektywnych działań, których celem jest niszczenie już zidentyfikowanych komórek nowotworowych, przy jednoczesnej ochronie zdrowych komórek organizmu. Po trzecie możliwość obejścia jednej z najważniejszych cech komórek nowotworowych, jaką jest unikanie ataku immunologicznego oraz supresyjnego działania nowotworu na układ immunologiczny pacjenta (3, 4).

Celem nowoczesnej immunoterapii jest przywrócenie zdolności układu immunologicznego do wyeliminowania z organizmu komórek nowotworowych, a jeżeli tego celu nie udaje się osiągnąć, to czasowe zahamowanie nowotworzenia i możliwości przerzutów. Osiągnięcie tego celu jest możliwe na dwa sposoby: albo przez zwiększenie aktywności własnego układu immunologicznego, albo przez zahamowanie supresyjnego działania samego nowotworu.

Etap immunoterapii

W rozwoju immunoterapii kilka odkryć odegrało kluczową rolę. Pod koniec XIX w. William Caley opisał możliwość wyzdrowienia części pacjentów z mięsakiem po stosowaniu iniekcji wyciągów bakteryjnych. Rozwinięciem tej nieswoistej metody terapii nowotworów była terapia cytokinami i terapia adaptatywna komórkami, np. aktywowanymi komórkami T, komórkami NK lub aktywowanymi limfokinami komórkami K. Działania były ukierunkowane na komórki nowotworowe przy braku zaangażowania układu immunologicznego pacjenta.

Kolejnym etapem była „aktywna immunoterapia nowotworów”, której celem jest wzmocnienie reaktywności immunologicznej pacjenta. Opracowano metody przy użyciu szczepionek przeciwrakowych zawierających lizaty nowotworów, kasety określonych epitopów, szczepionki DNA i terapie adaptatywne limfocytami. Chociaż łatwo było pobudzić *in vitro* proliferację komórek T skierowanych na antygeny nowotworowe, to jednak efektywność lecznicza była bardzo mała (5). Postępem było wykorzystanie swoistych przeciwciał np. w zwalczaniu białaczki, które zmieniają część nowotworowych krwinek białych w „komórki zabójców”. Eliminują one komórki nowotworowe, ale równocześnie pobudzają układ odpornościowy. Skuteczność leczenia ogranicza fakt istnienia różnych mechanizmów niszczenia komórek nowotworowej oraz obecność na powierzchni komórek nowotworowej różnych swoistych dla niej markerów, które mogą zmieniać się wraz z upływem czasu.

Monoklonalne przeciwciała są wykorzystywane w terapii raka piersi oraz chłoniaka z komórek B.

Ostatnio w immuno-onkologii i immunoterapii najwięcej uwagi poświęca się:

- Modyfikacji komórek T pacjentów celem uzyskania na ich powierzchni tzw. chimericznych receptorów antygenu (chimeric antigen receptor – CAR), które oprócz niszczenia nowotworu wydzielają cytokiny mobilizujące układ odpornościowy (6, 7).
- Roli limfocytów T regulatorowych (Treg), mieloidalnych komórek supresorowych, agonistom CD40 w celu usprawnienia funkcji komórek prezentujących antygen (APC) oraz inhibitorom ukierunkowanym na mechanizmy supresyjne komórek T-reg.
- Hamowaniu CTLA-4 na powierzchni limfocytów T celem wzmocnienia działania limfocytów T w obrębie zmian nowotworowych. Takie efekty daje np. lek Ipilimumab – ludzkie przeciwciało monoklonalne blokujące antygen CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4), zwiększając tym samym aktywność układu immunologicznego (8).

Modyfikacja komórek T pacjentów

Z chwilą, gdy badania przeprowadzone na zwierzętach jednoznacznie wykazały, że układ odpornościowy organizmu reaguje na nowotwór oraz że odpowiedź przeciwnowotworowa obejmuje zarówno wytwarzanie przeciwciał, jak i mechanizmy komórkowe, a także fakt że w tych procesach kluczowe znaczenie odgrywają komórki T, stworzono podstawę do opracowania nowych strategii wykorzystania własnych komórek T pacjenta do niszczenia nowotworu (9). Równocześnie stało się jasne, że komórki nowotworowe dysponują zdolnością do redukcji ekspresji antygenów nowotworowych na swojej powierzchni, tym samym utrudniając układowi immunologicznemu ich wykrycie. Dysponują one też możliwościami ekspresji białek powierzchniowych o właściwościach hamujących przeciwnowotworową aktywność układu immunologicznego. Co więcej, komórki mikrośrodowiska nowotworu nie tylko wydzielają substancje hamujące odpowiedź immunologiczną na nowotwór, ale też pobudzające rozrost i przeżycie komórek nowotworowych (10).

Często obecnie dyskutowaną metodą terapeutyczną jest swoista terapia adaptatywna (adaptative cell transfer – ACT). Efekty przyniosło leczenie pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną, którzy mimo dotychczas stosowanego leczenia mieli umrzeć w ciągu kilku miesięcy. Remisja nastąpiła u 24 z 27 chorych po podaniu własnych zmodyfikowanych limfocytów T.

Immuno-oncology – new data

Gliński Z., Kostro K., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Immunotherapy has changed cancer treatment by introducing therapies that target not the tumor, but the host immune system. Here, the current data are presented that can be found useful also for treating cancer in animals. Immunosurveillance has the great potential for specific tumor recognition and destruction without damaging normal tissue. Immuno-oncology treatments progressed considerably in the last 30 years with approvals for the use of various therapies including vaccines, cytokines, tumor-directed monoclonal antibodies and immune checkpoint inhibitors. Tumor heterogeneity is widely recognized as a hurdle for cancer immunotherapy. Although it was relatively easy to induce proliferation of tumor specific cytotoxic T cells, they largely were not effective in anti-cancer therapy. Cytotoxic T cells recognize cancer cell as being foreign however, if it has an expression of programmed cell death protein ligand 1 (PD-L1), the T-cell no longer identifies tumor cell as abnormal. PD-L1 binds to PD-1 on cytotoxic T cell, inhibiting its antitumor cytotoxicity. Medicines that block this molecule may make the cell visible to T-cells so it can be identified and destroyed. PD-1/PD-L1 pathway targeted agents and PD-L1 inhibitors are in development as immuno-oncology therapies.

Keywords: cancer, immune-oncology, therapeutic techniques.

Efekt modyfikacji było pojawienie się na ich powierzchni tzw. chimericznych receptorów antygenu natury białkowej, które potrafią rozpoznać antygeny występujące na powierzchni komórek nowotworowych i zniszczyć nowotwór (11). Chimeryczne receptory skierowują aktywność cytotoksyczną limfocytów T na komórki powodujące raka. Receptorem chimerycznym może być przeciwciało monoklonalne zredukowane do pojedynczego łańcucha o zmienionych regionach scFv wszczepione w domenę transmembranową limfocytów T, które rozpoznaje antygeny powierzchniowe komórki nowotworowej we współdziałaniu z układem restrykcyjnym MHC. Tak zmodyfikowane limfocyty T po namnożeniu są wszczepiane pacjentowi, od którego pochodzą, i niszczą nowotwór. Ponadto wydzielają one cytokiny, których celem jest mobilizowanie różnych składowych układu odpornościowego (9, 12). Efektem „burzy cytokinowej” może być wysoka gorączka lub niebezpieczny spadek ciśnienia krwi. Celem uniknięcia rozregulowania układu odpornościowego przez duże ilości cytokin wydzielanych przez limfocyty T stosuje się przeciwciała przeciwko IL-6, która jest jedną z głównych cytokin

prozapalnych. W tym samym celu wykorzystuje się też kortykosteroidy.

Najwięcej badań poświęcono leczeniu metodami immunologicznymi nowotworów krwi (przewlekła białaczka limfatyczna, ostra białaczka limfoblastyczna i chłoniaki). Są także podejmowane próby leczenia guzów litych jajników, gruczołu sutkowego i trzustki. Badania Hinrichs i Rosenberga (9, 13) na myszach oraz wstępne obserwacje kliniczne wykazały, że terapia adaptatywna umożliwia całkowitą albo długotrwałą regresję niektórych postaci raka. Długotrwała remisja w czerniaku z przerzutami w przypadku użycia limfocytów penetrujących guz (TIL) potwierdziła wybór tej metody leczenia i pozwoliła na usprawnienie leczenia innych typów nowotworów. Cofanie się zmian nowotworowych obserwowano po iniekcji pacjentom komórek T z receptorem chimerycznym dla CD19 w nowotworach wywodzących się z limfocytów B oraz komórek T z receptorem chimerycznym dla NY-ESO-1 dla rakowatych komórek maziowych i czerniaka (14). Również na modelu mysim z nowotworem komórek zrębu szpiku kostnego użyto komórek T CD8+ zmodyfikowanych do wydzielania jednolącuchowej IL-12, które po miejscowym wprowadzeniu pobudzają makrofagi CD11b+ F4/80^{hi}, komórki dendrytyczne CD11b+ MHC^{hi}, CD11 c^{hi} oraz mieloidalne komórki supresorowe CD11b+ Gr-1^{hi}. Te aktywowane komórki stymulują komórki TCD8+ do wydzielania IL-12, zwiększając w ten sposób ich działanie przeciwnowotworowe.

Inną strategią zwiększenia cytotoksycznej aktywności komórek T jest wykorzystanie TIL łącznie z drobnocząsteczkowymi czynnikami przeciwnowotworowymi, które indukują apoptozę. Na przykład wemurafenib zwiększa ekspresję antygenów melanocytów, a tym samym zwiększa możliwość rozpoznania tych antygenów przez komórki T (15).

Wyniki uzyskane na modelu zwierzęcym wykazały, że efektorowe komórki T wywodzące się z komórek dziewiczych Tn (T naive) cechują się większym potencjałem proliferacyjnym i większą zdolnością do produkcji cytokin, aniżeli komórki T wywodzące się z komórek Tem (T effector memory cells; 16). Efektorowe komórki T CD8+ wywodzące się z Tn, a nie wywodzące się z Tem lub Tcm (T central memory pool) okazały się najbardziej przydatne w terapii przeciwnowotworowej. U człowieka komórki T pochodne Tn cechuje większa ekspresja CD27 i posiadają dłuższe telomery (17). Ostatnio zwraca się uwagę w leczeniu adaptatywnym na komórki pamięci pnia Tscm (T memory stem cell). Te komórki u myszy cechują się większą zdolnością do replikacji

i skuteczniejszym działaniem przeciwnowotworowym od subpopulacji zwykłych komórek pamięci.

Subpopulacje komórek T aktywne w terapii ACT można też uzyskać przy użyciu cytokin polaryzujących. Komórki o fenotypie T17 różnią się ekspresją receptorem γ -tymus i produkują IL-17A i IL-17F. Zarówno komórki TCD8+, jak i TCD4+ indukowane w kierunku różnicowania w komórki o fenotypie T17 cechują się zwiększoną zdolnością powodowania regresji guza. Prowadzone są też badania nad rolą kostymulatora indukcyjnego (ICOS) i innych rodzajów sygnałów w polaryzacji komórek T człowieka celem uzyskania fenotypu T17 (18).

Limfocyty T regulatorowe

U zwierząt i u człowieka limfocyty T regulatorowe (Treg) mają istotne znaczenie w rozwoju nowotworu oraz w wyciszeniu swoistej odpowiedzi immunologicznej organizmu na nowotwór (19, 20, 21). W oparciu o te obserwacje w pełni uzasadniony okazał się pogląd odnośnie do możliwości opracowania takich strategii klinicznych, które ograniczą działanie Treg, a tym samym przywrócą zaburzone przez nowotwór działanie układu immunologicznego lub nawet wzmocnią odporność przeciwnowotworową. Te strategie obejmują z jednej strony zmniejszenie w organizmie ilości komórek Treg, blokowanie ich penetracji lub ograniczenie mechanizmów różnicowania oraz mechanizmów odpowiedzialnych za immunosupresję (22, 23). Komórki Treg tworzą specyficzną populację komórek T o właściwościach supresji odpowiedzi immunologicznej na nowotwór przez wpływanie na aktywność przeciwnowotworową innych typów komórek (24). Opisał je i nazwał Treg po raz pierwszy Gershon i wsp. w 1972 r. (25). Następnie wykryto w komórkach Treg gen *FoxP3* będący, przynajmniej u myszy, specyficznym markerem dla Treg CD4+ (26, 27). Okazało się, że *FoxP3* pełni rolę nie tylko kluczowego markera śródkomórkowego, ale że jest on konieczny dla powstania i aktywności Treg CD4+CD25+ (28). Obecnie wyróżnia się 3 subpopulacje komórek TregCD4+ o działaniu supresyjnym: Cd4+CD25+FoxP3+m oraz T γ 1 produkujące IL-10 oraz Th3 produkujące czynnik wzrostu guza TGF β (29, 30). Oprócz komórek Treg w mikrośrodkowisku nowotworu występują komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (myeloid-derived suppressor cell – MDSC) i cytokiny o działaniu supresyjnym wydzielane przez te komórki. Ilość komórek Treg i MDSC jest ściśle skorelowana ze stadiem choroby i może być wykorzystana do prognozowania jej zejścia (31). Komórki nowotworu indukują

pojawienie się Treg w oparciu o mechanizm niezależny oraz zależny od bezpośrednich kontaktów pomiędzy komórkami. W pierwszym mechanizmie TGF β produkowany przez komórki nowotworu indukuje konwersję dziewiczych komórek Tn (T naive) TCD4+CD25 w Treg. W komórkach nowotworu ma miejsce ekspresja kostymulujących cząsteczek CD80/CD86 lub CD70. Kontakty tych komórek nowotworu z Tn są drugim mechanizmem konwersji Tn w Treg. Zwiększona ilość Treg wpływa hamująco na aktywność komórek NK, TCD4+ i TCD8+, co przyczynia się do rozrostu nowotworowego (32, 33).

Okazało się, że TregFoxP3+ są jedną z najważniejszych barier w immunoterapii raka, ponieważ niszczą kontrolę immunologiczną nowotworzenia (34, 35). Terapia nowotworów ukierunkowana na deplecję Treg CD4+CD25+FoxP3+ lub neutralizację produktów ich działania, będąca nową strategią leczniczą, poprawiła jakość immunoterapii wielu typów nowotworów, do której włączono dodatkowo swoiste szczepienia i blokadę CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte associated antygen; 36, 37).

Receptor inhibitorowy CTLA-4

Koncepcja, że blokada receptorów inhibitorowych na limfocytach T spowoduje osiągnięcie długotrwałej odpowiedzi immunologicznej na nowotwór, leży u podstaw immunoterapii z wykorzystaniem przeciwciał skierowanych przeciwko tego typu receptorom. Szczególnie istotna jest ekspresja receptora CTLA-4 na komórkach Treg oraz limfocytach CD8+ (38, 39). Receptorami inhibitorowymi limfocytu T są zarówno CTLA-4, jak i receptor PD-1Rs. Okazało się, że efektem blokady receptora CTLA-4 przez swoiste przeciwciała jest odrzucenie u myszy transplantu raka okrężnicy i włókniakomiesaka, a także opóźnienie rozrostu nowotworowego. Co więcej, efektem leczenia jest pojawienie się pamięci immunologicznej i odrzucenie ponownego transplantu nowotworu bez dodatkowego blokowania CTLA-4 (39). Również zachęcające wyniki uzyskano u myszy w przypadku raka prostaty, raka nerek i chłoniaka. W badaniach tych stosowano przeciwciała blokujące interakcje CTLA-4 z ligandami B7 bez ich wpływu na aktywność CD28 (40).

CTLA-4 (cytotoxic T cell antigen 4) zidentyfikowany w 1987 r., jest białkiem z nadrodziny immunoglobulin, które występuje w błonie komórkowej aktywowanych limfocytów T jako homodimer i przekazuje do wnętrza komórki sygnał hamujący aktywację limfocytu T (41). Zarówno forma monomeryczna, jak i homodimer mają zdolność do wiązania ligandów, ale forma monomeryczna nie powoduje

uaktywnienia szlaków sygnałowych. Masa cząsteczkowa w pełni glikozylowanego dimeru wynosi 45 kDa (42). Il-2 będąca jedną z najważniejszych cytokin uczestniczących w wygaszaniu reakcji immunologicznej, działając na limfocyty T indukuje ekspresję CTLA-4, który najprawdopodobniej przerywa sygnały przekazywane przez TCR (receptor antygenowy limfocyty) w wyniku blokowania sygnałów kostymulujących biegnących od CD28+ (43). Oprócz formy błonowej występuje forma rozpuszczalna (sCTLA-4) u człowieka o masie 23 kDa oraz forma liCTLA-4 (zależna od ligandu) niezdolna do wiązania CD80/CD86. Ligandami dla CTLA-4 są występujące na powierzchni komórek APC cząsteczki CD80 i CD86 (44). Na limfocytach T po aktywacji przez cząsteczkę CD28 pojawia się cząsteczka CTLA-4 wiążąca te same ligandy co CD28, ale tłumiąca aktywację. sCTLA-4 produkują oprócz limfocytów T też limfocyty B, może ona też występować na komórkach dendrytycznych.

Głównym mechanizmem działania CTLA-4 jest hamowanie aktywacji limfocytów T, przez co odgrywa on rolę sprzężenia zwrotnego w odpowiedzi immunologicznej. O roli tej negatywnej regulacji świadczy wywołujący przedwczesną śmierć zespół limfoproliferacyjny, któremu towarzyszą uszkodzenia licznych tkanek i śmierć po 2–3 tygodniach obserwowana u myszy z brakiem CTLA-4 (45, 46).

Molekularne mechanizmy hamujące go działania CTLA-4 są różnorodne. Do najważniejszych można zaliczyć współzawodnictwo CTLA-4 z cząsteczką CD28, a ponieważ powinowactwo CD28 do CD80 i CD86 jest mniejsze aniżeli CTLA-4, CD28 jest wyłączane z kompleksów z ligandami, czego efektem jest obniżenie poziomu sygnału aktywującego limfocyty. Ważnym mechanizmem jest hamowanie sygnału biegnącego od kompleksu TCR/CD3 oraz hamowanie sygnału kostymulującego CD28, zaś w limfocytach B ligacja TCLA-4 powoduje blokowanie szlaków NF- κ B i białek STAT.

Przełom w leczeniu czerniaka z przeżutami nastąpił po wprowadzeniu przeciwciał monoklonalnych anti-CTLA-4, które blokując wiązanie tego białka z cząsteczkami kostymulującymi, znoszą jeden z mechanizmów tolerancji immunologicznej oraz negatywnej regulacji procesu aktywacji limfocytów. Następstwem jest nasilona aktywacja limfocytów Tc oraz zniesienie kontroli sprawowanej przez limfocyty supresorowe. Ipilimumab jest pierwszym przeciwciałem monoklonalnym ukierunkowanym na cząsteczkę CTLA-4, które zostało zarejestrowane do stosowania w onkologii. Mechanizm jego działania polega na blokowaniu cząsteczki CTLA-4 na powierzchni limfocytów T, co umożliwia

reaktywację swoistej odpowiedzi immunologicznej. Niedogodnością jest fakt, że funkcjonalne limfocyty T efektywnie rozpoznają i likwidują nie tylko komórki nowotworowe, ale odpowiadają również za reakcje autoimmunologiczne (8, 47).

Obecnie w onkologii jest coraz powszechniej stosowana terapia skojarzona wykorzystująca chemioterapię, radioterapię, protonoterapię, chirurgię onkologiczną oraz coraz częściej immunoterapię. Wydaje się, że w przyszłości diagnostykę zdominują testy immunogenetyczne i immunologiczne. W leczeniu nowotworów będzie dominować immunoterapia oraz terapia celowana, łącznie z zabiegami operacyjnymi. Leczenie ma nie tylko oddziaływać na komórkę nowotworową, ale także zwiększać odporność przeciw guzowi, hamować sygnały pobudzające, wzmacniać sygnały hamujące oraz wpływać na środowisko guza, np. na jego unaczynienie. Wydaje się, że wykorzystanie farmakogenomiki oraz nanotechnologii do badań nad biologią nowotworów ich rozwojem i leczeniem przyczyni się do zwiększenia skuteczności leczenia (48, 49, 50).

Piśmiennictwo

- Schreiber R.D., Old L.J., Smyth M.J.: Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011, **331**, 1565–1570.
- Coulie P.G., Van den Eynde B.J., van der Bruggen P., Boon T.: Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer* 2014, **14**, 135–146.
- Finn O.J.: Cancer immunology. *N. Engl. J. Med.* 2008, **358**, 2704–2715.
- Finn O.J.: Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Annals Oncol.* 2012, **23**, 6–9.
- Vanneman M., Dranoff G.: Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nat. Rev. Cancer* 2012, **12**, 237–251.
- Zhang T., Lemoi B.A., Sentman C.L.: Chimeric NK-receptor-bearing T cells mediate antitumor immunotherapy. *Blood* 2005, **106**, 1544–1551.
- Barber A., Rynda A., Sentman C.L.: Chimeric NKG2D expressing T cells eliminate immunosuppression and activate immunity within the ovarian tumor microenvironment. *J. Immunol.* 2009, **183**, 6939–6947.
- Adams J.L., Smothers J., Srinivasan R., Hoos A.: Big opportunities for small molecules in immuno-oncology. *Nature Rev. Drug Discov.* 2015, **14**, 603–622.
- Rosenberg S.A., Restifo N.P.: Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science* 2015, **348**, 62–68.
- Chen F., Zhuang X., Lin L., Yu P., Wang Y., Shi Y., Hu G., Sun Y.: New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. <http://www.biomed-central.com/1741-7015/13/45>
- Sedelain M., Brentjens R., Riviere I.: The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Disc.* 2013, **3**, 388–398.
- Gatenby R.A., Silva A.S., Gillies R.J., Frieden B.R.: Adaptive therapy. *Cancer Res.* 2009, **69**, 4894–4903.
- Hinrichs C.S., Rosenberg S.A.: Exploiting the curative potential of adoptive T-cell therapy for cancer. *Immunol. Rev.* 2014, **257**, 56–71.
- Hinrichs C.S., Rosenberg S.A.: Exploiting the curative potential of adoptive T-cell therapy for cancer. *Immunol. Rev.* 2014, **257**, 56–71.
- Bollag G., Tsai J., Zhang J., Zhang C., Ibrahim P., Nolop K., Hirth P.: Vemurafenib: the first drug approved for BRAF-mutant cancer. *Nature Rev. Drug Disc.* 2012, **11**, 873–886.
- Berger C., Jensen M.C., Lansdorf P.M., Gough M., Elliott C., Riddell S.R.: Adaptive transfer of effector CD8+ T

Automat biochemiczny MINDRAY BS-120



Automat hematologiczny 3-diff MINDRAY BC-2800vet



Najnowszy automat hematologiczny 5-diff MINDRAY BC-5000vet



(cytometria przepływowa + laser)

STAMAR®

Autoryzowany
i wyłączny dystrybutor sprzętów
firmy **mindray**
do laboratorium weterynaryjnego

- cells derived from central memory cells establishes persistent T cell memory in primates. *J. Clin. Invest.* 2008, **118**, 294–305.
17. Christian S., Hinrichs., Zachary A., Borman., Cassard L., Gattinoni L., Spolski R., Zhiya Yu., Sanchez-Perez L., Muranski P., Kern S.J., Logun C., Palmer D.C., Ji Y., Reger R.N., Leonard W.J., Danner R.L., Rosenberg S.A., Restifo N.P.: Adoptively transferred effector cells derived from naive rather than central memory CD8+ T cells mediate superior antitumor immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009, **106**, 17469–17474.
 18. Hinrichs C.S., Kaiser A., Paulos C.M., Cassard L., Sanchez-Perez L., Heemskerk B., Wrzesinski C., Borman Z.A., Muranski P., Restifo N.P.: Type 17 CD8+ T cells display enhanced antitumor immunity. *Blood* 2009, **114**, 596–599.
 19. Linehan D.C., Goedegebuure P.S.: CD25+CD4+ regulatory T-cells in cancer. *Immunol. Res.* 2005, **32**, 155–168.
 20. Beyer M., Schultze J.L.: Regulatory T cells in cancer. *Blood* 2006, **108**, 804–811.
 21. Smyth M. J., Ngiew S. F., Teng M. W. L.: Targeting regulatory T cells in tumor immunotherapy. *Immunol. Cell Biol.* 2014, **92**, 473–474.
 22. Shimizu J., Yamazaki S., Sakaguchi S.: Induction of tumor immunity by removing CD25+CD4+ T cells: a common basis between tumor immunity and autoimmunity. *J. Immunol.* 1999, **163**, 5211–5218.
 23. Viel C.T., Moore T.T., Liyanage U.K., Frey D.M., Ehlers J.P., Eberlein T.J., Goedegebuure P.S., Linehan D.C.: Depletion of CD4+CD25+ regulatory T cells promotes a tumor-specific immune response in pancreas cancer-bearing mice. *Ann. Surg. Oncol.* 2006, **13**, 1252–1258.
 24. Shevach E.M.: Certified professionals: CD4+ CD25+ suppressor T cells. *J. Exp. Med.* 2001, **193**, 41–46.
 25. Gershon R.K., Cohen P., Hencin R., Lieberhaber S.A.: Suppressor T cells. *J. Immunol.* 1972, **108**, 586–590.
 26. Ziegler S.F.: FOXP3: of mice and men. *Ann. Rev. Immunol.* 2006, **24**, 209–226.
 27. Huen J., Polansky J.K., Hamann A.: Epigenetic control of FOXP3 expression: the key to a stable regulatory T-cell lineage? *Nat. Rev. Immunol.* 2009, **9**, 83–89.
 28. Walker M.R., Kasprowitz D.J., Gersuk V.H., Benard A., Van Landeghen M., Buckner J.H., Ziegler S.F.: Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25-T cells. *J. Clin. Invest.* 2003, **112**, 1437–1443.
 29. Toda A., Piccirillo C.A.: Development and function of naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2006, **80**, 458–470.
 30. Han Y., Guo Q., Zhang M., Chen Z., Cao X.: CD69+ CD4+ CD25- T cells, a new subset of regulatory T cells, suppress T cell proliferation through membrane-bound TGF- β 1. *J. Immunol.* 2009, **182**, 111–120.
 31. Schreiber T.H.: The use of FoxP3 as a biomarker and prognostic factor for malignant human tumors. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2007, **16**, 1931–1934.
 32. Liyanage U.K., Moore T.T., Joo H.G., Tanaka Y., Herrmann V., Doherty G., Drebin J.A., Strasberg S.M., Eberlein T.J., Goedegebuure P.S., Linehan D.C.: Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J. Immunol.* 2002, **169**, 2756–2761.
 33. Ormandy L.A., Hillemann T., Wedemeyer H., Manns M.P., Greten T.F., Korangy E.: Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* 2005, **65**, 2457–2464.
 34. Lizee G., Radvanyi L.G., Overwijk W.W., Hwu P.: Improving antitumor immune responses by circumventing immunoregulatory cells and mechanisms. *Clin. Cancer Res.* 2006, **12**, 4794–4803.
 35. Zhou X., Bailely-Bucktrout S., Jeker L.T., Bluestone J.A.: Plasticity of CD4+Foxp3+ T cells. *Curr. Opin. Immunol.* 2009, **21**, 281–285.
 36. Fiotta A.M., Morosini M., Passadore I., Cascina A., Draghi P., Dore R., Rossi S., Pozzi E., Meloni F.: Systemic inflammatory response and downmodulation of peripheral CD25+Foxp3+ T-regulatory cells in patients undergoing radiofrequency thermal ablation for lung cancer. *Human Immunol.* 2009, **70**, 477–486.
 37. Juang C.M., Hung C.E., Yeh J.Y., Horng H.C., Twu N.F., Cheng M.H., Wen K.C., Yuan C.C., Chao K.C., Wu T.C., Yen M.S.: Regulatory T cells: Potential target in anticancer immunotherapy. *Taiwan J. Obst. Gynecol.* 2007, **46**, 215–221.
 38. Restifo N.P., Dudley M.E., Rosenberg S.A.: Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat. Rev. Immunol.* 2012, **12**, 269–281.
 39. Hurwitz A.A., Fuster B.A., Kwon E.D., Truong T., Choi E.M., Greenberg N.M., Burg M.B., Allison J.P.: Combination immunotherapy of primary prostate cancer in a transgenic mouse model using CTLA-4 blockade. *Cancer Res.* 2000, **60**, 2444–2448.
 40. Intlekofer A.M., Thompson C.B.: At the Bench: Preclinical rationale for CTLA-4 and PD-1 blockade as cancer immunotherapy. *J. Leukocyte Biol.* 2013, **94**, 25–39.
 41. Walunas T.L., Lenschow D.J., Bakker C.Y., Linsley P.S., Freeman G.J., Green J.M., Thompson C.B., Bluestone J.A.: CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994, **1**, 405–413.
 42. Brunet J.F., Denizot F., Luciani M.F., Roux-Dosseto M., Suzan M., Mattei M.G., Golstein P.: A new member of the immunoglobulin superfamily—CTLA-4. *Nature* 1987, **328**, 267–270.
 43. Lee S., Margolin K.: Cytokines in cancer immunotherapy. *Cancer* 2011, **3**, 3856–3893.
 44. Ostrov D.A., Shi W., Schwartz J.C., Almo S.C., Nathansen S.G.: Structure of murine CTLA-4 and its role in modulating T cell responsiveness. *Science* 2000, **290**, 816–819.
 45. Chamber C.A., Sullivan T.J., Allison J.P.: Lymphoproliferation in CTLA-4-deficient mice is mediated by costimulation-dependent activation of CD4+ T cells. *Immunity* 1997, **7**, 885–895.
 46. Waterhouse P., Penny J.M., Timms E., Wakeham A., Shahinian A., Lee K.P., Thompson C.B., Griesser H., Mak T.W.: Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. *Science* 1995, **270**, 985–988.
 47. Vanneman M., Dranoff G.: Combining immunotherapy and targeted therapies in cancer treatment. *Nat. Rev. Cancer* 2012, **12**, 237–251.
 48. Peer D., Karp J.M., Hong S., Farokhzad O.C., Margalit R., Langer R.: Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature Nanotechnol.* 2007, **2**, 751–760.
 49. Weng L., Zhang L., Peng Y., Huang R.S.: Pharmacogenetics and pharmacogenomics a bridge to individual cancer therapy. *Pharmacogenomics* 2013, **14**, 15–24.
 50. Westbrook K., Stearns V.: Pharmacogenomics of breast cancer therapy: an update. *Pharmacol. Therapeut.* 2013, **139**, 1–11.