

IWONA HUS<sup>1</sup>, JACEK ROLIŃSKI<sup>2</sup>

## Limfocyty T regulatorowe i Th17 w chorobach limfoproliferacyjnych

### T regulatory and Th17 cells in lymphoproliferative diseases

<sup>1</sup>Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
Kierownik: Prof. dr hab. med. Anna Dmoszyńska

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie  
Kierownik: Prof. dr hab. med. Jacek Roliński

---

#### STRESZCZENIE

Odkrycie nowych populacji limfocytów T pomocniczych w istotny sposób wpłynęło na rozwój wiedzy dotyczącej odporności przeciwnowotworowej i w wielu przypadkach przyczyniło się do zmiany dotychczasowych i opracowania nowych strategii immunoterapii. W przeciwieństwie do guzów litych, rola komórek T regulatorowych w patogenezie nowotworów układu krwiotwórczego jest znacznie bardziej złożona i kontrowersyjna. Wydaje się bowiem, iż mogą one w różny sposób wpływać na rozwój chorób limfoproliferacyjnych, odgrywając podwójną rolę, – z jednej strony hamując cytotoksyczne limfocyty T, z drugiej zaś wzrost komórek nowotworowych. Patomechanizm działania komórek T regulatorowych w limfoproliferacjach pozostaje nieznany, należy jednak pamiętać, iż istotną rolę w rozbieżności przedstawionych wyników może odgrywać także bardzo różna metodyka oznaczania komórek Treg. Opisane kontrowersje należy wziąć pod uwagę przy opracowaniu i klinicznym zastosowaniu protokołów immunoterapii. Wyniki wstępnych doświadczeń sugerują także znaczenie komórek Th17 w rozwoju nowotworów, zagadnienie to stanowi przedmiot prowadzonych obecnie licznych badań doświadczalnych.

**SŁOWA KLUCZOWE:** Limfocyty T regulatorowe – Limfocyty Th17 – Odporność przeciwnowotworowa – Limfoproliferacje

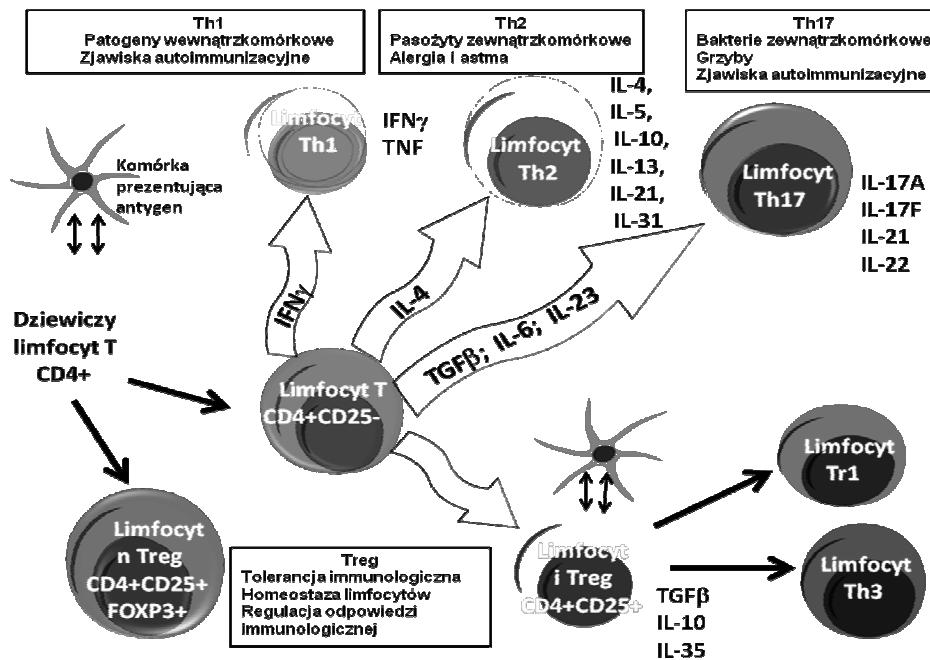
#### SUMMARY

The discovery of new subsets of T helper cells provided new insights in the understanding of anti-tumor immunity and significantly influenced the development of novel immunotherapeutic protocols. In contrast to solid tumors, the role of T regulatory cells in the pathogenesis of in hematological malignancies seems to be much more complex and controversial than just inhibition of the immune response. They might influence on tumor growth in different ways - from one side suppressing cytotoxic T cells, and from the other side – suppressing or even killing malignant cells. One should also keep in mind that divergent results might also reflect different methods of Treg cell evaluation. However, described controversions have to be taken into account on the development of new strategies of anti-cancer immunotherapy. Preliminary data suggest the potential impact of Th17 cells on tumor growth, however the role of these cells in the context of tumor immunity remains unknown.

**KEY WORDS:** T regulatory cells – Th17 cells – anti-tumor immunity – limfoproliferative diseases

## WSTĘP

Ostatnie dwie dekady przyniosły istotny postęp w poznaniu cech immunofenotypowych i czynnościowych subpopulacji limfocytów T. Stwierdzono, iż obowiązujący dotychczas podział limfocytów T pomocniczych CD4<sup>+</sup> na komórki Th1 i Th2, przedstawiony przez Mosmanna i Coffmana w 1986 roku [1] jest zbyt uproszczony. Początkowo, w latach 90-tych spośród limfocytów T CD4<sup>+</sup> wyodrębniono komórki T regulatorowe (Treg), ostatnio zaś opisano nową populację komórek Th17. Na Rycinie 1 przedstawiono charakterystykę opisanych dotychczas subpopulacji limfocytów T pomocniczych.



Ryc. 1. Charakterystyka subpopulacji limfocytów T pomocniczych – różnicowanie, funkcja i profil wydzielanych cytokin.

Fig. 1. Characteristics of the subsets of T helper cells – differentiation, functions and cytokines profile.

## Limfocyty T regulatorowe

Populacja limfocytów T o działaniu indukującym tolerancję immunologiczną opisana została po raz pierwszy u myszy przez Gershona i Kondo w 1971 roku i określona mianem „komórek supresorowych” [2]. Nazwa „komórki T regulatorowe” (Treg) powstała ponad 20 lat później, w 1995 roku, kiedy to Sakaguchi i wsp. wyodrębnili spośród limfocytów T CD4<sup>+</sup> myszy populację komórek hamujących procesy autoimmunizacji, których charakterystyczną cechą była wysoka ekspresja antygenu CD25 [3]. Dane przedstawione przez Sakagucciego zapoczątkowały rozwój badań dotyczących

biologii i funkcji komórek T regulatorowych. Badania te, zwłaszcza u ludzi, przez wiele lat utrudniał brak swoistego markera limfocytów Treg – ekspresja antygeny CD25 występuje bowiem również na aktywowanych efektorowych limfocytach T. W roku 2001 pojawiły się pierwsze publikacje dotyczące wewnątrzkomórkowej ekspresji czynnika transkrypcyjnego FoxP3 (*forkhead box P3*), który wkrótce potem uznany został za najbardziej swoisty marker limfocytów T regulatorowych [4, 5]. Białko FoxP3 odgrywa istotną rolę czynnościową w hamowaniu odpowiedzi odpornościowej przez komórki Treg [6]. Swoistość tego markera jest jednakże ostatnio kwestionowana, wykazano bowiem ekspresję FoxP3 w aktywowanych ludzkich limfocytach T bez aktywności supresorowej [7]. Większość badań nad limfocytami T regulatorowymi dotyczy ich najlepiej określonej fenotypowo populacji, komórek CD4+CD25<sup>high</sup>FoxP3+, określanych jako naturalnie występujące Treg (Rycina 1). Komórki te cechuje stan anergii oraz zdolność supresji innych populacji limfocytów T (CD4+CD25-, CD8+, komórek NK, NKT), limfocytów B i komórek dendrytycznych poprzez bezpośredni kontakt między komórkami [7]. Do charakterystycznych markerów powierzchniowych tych komórek, o istotnym znaczeniu czynnościowym należą białka: CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*; CD152) oraz GITR (*glucocorticoid-induced TNFR-related protein*) [8, 9]. Inne populacje limfocytów T regulatorowych CD4+ to komórki Tr1 i Th3, obie określane są jako tzw. indukowane Treg i wywierają działanie hamujące za pośrednictwem immunosupresyjnych cytokin (IL-10 i TGF-β) (Rycina 1). Komórki T regulatorowe o wysokiej ekspresji antygeny CD25 opisano także w obrębie limfocytów CD8+ [10].

W warunkach fizjologicznych główną funkcją limfocytów T regulatorowych jest hamowanie odpowiedzi odpornościowej przeciw własnym antygenom. Istotne znaczenie przypisuje się komórkom Treg w rozwoju chorób autoimmunologicznych, gdzie stwierdzono zarówno zmniejszenie ich liczby jak i upośledzenie funkcji. Przedmiotem licznych badań jest określenie ich roli w chorobach zakaźnych, w rozwoju tolerancji wobec przeszczepów [7], a także wpływu na odporność przeciwnowotworową. Większość danych na temat tego ostatniego zagadnienia dotyczy guzów litych. Pierwsze, przedstawili w 2001 roku, Woo i wsp., [11] którzy opisali zwiększenie odsetka komórek Treg u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuc i raka jajnika. W kolejnych latach stwierdzono zwiększenie liczby limfocytów Treg, zarówno w mikrośrodowisku guza nowotworowego, jak też we krwi chorych, w przypadku większości guzów litych (rak przewodu pokarmowego, piersi, trzustki, wątroby, czerniak, nowotwory głowy i szyi) [12–16]. Wykazano także korelację między wysokim odsetkiem tych komórek i krótkim czasem przeżycia chorych [17]. Powyższe dane przyczyniły do opracowania, a także klinicznego zastosowania strategii zmierzających do poprawy wyników przeciwnowotworowej immunoterapii komórkowej poprzez eliminację lub zahamowanie rozwoju limfocytów Treg. Selektywna eliminacja tych komórek z krwi obwodowej przy pomocy toksyny błoniczej sprzężonej z rekombinowaną IL-2 (ONTAK) przed rozpoczęciem leczenia DC transfekowanymi RNA komórek nowotworowych u chorych na raka nerki, przyczyniła się do zwiększenia zarówno odpowiedzi proliferacyjnej, jak i cytotoksycznej limfocytów T [18]. Blokada CTLA-4 wpłynęła na poprawę

wyników immunoterapii przeciwnowotworowej zarówno w badaniach doświadczalnych, jak też w badaniach klinicznych [19].

W przeciwieństwie do licznych publikacji, jak też stosunkowo jednolitego stanowiska badaczy na temat supresyjnego wpływu limfocytów T regulatorowych na odporność przeciwnowotworową u chorych na guzy łebe, dane dotyczące nowotworów układu krwiotwórczego są nie tylko mniej liczne, ale też znacznie bardziej rozbieżne i trudne do interpretacji, zwłaszcza w przypadku chorób limfoproliferacyjnych.

### **Chłoniak Hodgkina (*Hodgkin's lymphoma*, HL)**

Pierwsze badania dotyczące komórek Treg w chorobach limfoproliferacyjnych przeprowadzone zostały u chorych na chłoniaka Hodgkina (*Hodgkin's lymphoma*, HL), przez Marshalla i wsp. [20], którzy wykazali, iż limfocyty regulatorowe zarówno CD4+CD25+ jak i Tr1, stanowią wysoki odsetek limfocytów naciekających węzły chłonne zajęte procesem nowotworowym (*Hodgkin's lymphoma infiltrating lymphocytes*; HLIL). Komórki te posiadały właściwości hamowania odpowiedzi komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) na różne bodźce w warunkach *in vitro*. Reakcje te były odwracalne przy użyciu przeciwciał przeciw IL-10, przeciwciał przeciw antygenowi CTLA-4 (CD152) lub przy ograniczeniu kontaktu między komórkami [20]. Badania innych autorów nie tylko potwierdziły wysoki odsetek komórek Treg wśród limfocytów w węzłach chłonnych [21], ale też wykazały, iż odsetek ten jest istotnie wyższy we krwi obwodowej chorych na HL [21], nawet po uzyskaniu remisji, nie tylko w porównaniu do zdrowej grupy kontrolnej, ale też chorych na chłoniaki nieziarnicze [22]. W limfocytach T krwi obwodowej chorych na HL opisano także zwiększenie ekspresji CTLA-4 [23]. W przedstawionych badaniach nie określono jednakże ani klinicznego znaczenia, ani też czynnościowego związku między limfocytami Treg a pozostałymi komórkami w obrębie nacieku zapalnego. Interesujących danych dostarczyła przeprowadzona przez Alvaro i wsp. retrospektywna analiza odsetka komórek Treg oraz cytotoksycznych limfocytów T w obrębie węzłów chłonnych uzyskanych od 257 chorych na klasyczną postać HL [24]. Autorzy wykazali, iż w przeciwieństwie do guzów litych, wysoki odsetek komórek Treg koreluje z dłuższym czasem przeżycia chorych. Czynnikiem niekorzystnym rokowniczo był natomiast, podobnie jak we wcześniejszych badaniach Oudejansa i wsp. [25], wysoki odsetek cytotoksycznych limfocytów T. Według autorów, dane te wynikają z unikalnej histologii HL, w której niewielka liczba komórek nowotworowych otoczona jest znacznie liczniejszymi odczynowymi limfocytami oraz z bardzo złożonych zależności między tymi komórkami. Możliwe, iż komórki Treg poprzez supresję komórek zapalnych mogą wpływać hamująco na komórki Reed-Sternberga (R-S). Wykazano bowiem, iż komponenta zapalna jest w istotny sposób związana z przeżyciem komórek R-S. Inną hipotezę przedstawili Tanijri i wsp. [26], którzy wykazali, iż komórki R-S mogą pełnić rolę komórek prezentujących antygen (*antigen-presenting cells*, APC), a tym samym indukować powstanie Treg z dziewiczych limfocytów T. Stanowi to główny mechanizm indukcji powstawania limfocytów Treg

w chłoniaku Hodgkina, w przeciwieństwie do guzów litych, których komórki nie posiadają właściwości APC i główny mechanizm polega tu na przyciąganiu Treg powstałych w grasicy przy pomocy chemokiny CCL22. Według autorów pochodzenie limfocytów Treg ma kluczowe znaczenie dla ich funkcji i tłumaczy różnice opisywane w HL i guzach litych. Jest to jednakże hipoteza wstępna, ponieważ Ishida i wsp. wykazali, iż komórki HL, podobnie jak komórki guzów litych wydzielają CCL22 [27]. Opisano też przeciwne dane, dotyczące korelacji między nawrotem HL a wysokim odsetkiem komórek Treg [28]. Tym niemniej w świetle przedstawionych wyników nie można zastosować strategii hamujących limfocyty Treg u chorych na HL.

### **Chłoniaki nieziarnicze B-komórkowe (*B-cell non Hodgkin lymphoma, B-NHL*)**

Jeszcze więcej kontrowersji przyniosły wyniki badań dotyczących limfocytów T regulatorowych w chłoniakach nieziarniczych B-komórkowych. Podobnie jak w przypadku HL, w zajętych chorobą węzłach chłonnych stwierdzono istotnie większy odsetek komórek FoxP3+CTLA-4+ w porównaniu do węzłów nienowotworowych. Badania *in vitro* potwierdziły, iż komórki te hamują funkcję limfocytów CD4+ [29] i CD8+ naciekających nowotworowe węzły chłonne [30], a chemokina CCL22, wydzielana przez nowotworowe limfocyty B jest czynnikiem chemotaktycznym dla komórek Treg [29]. Badania doświadczalne przeprowadzone na mysim modelu chłoniaka wykazały zahamowanie wzrostu guza w wyniku deplecji komórek regulatorowych [31]. Stwierdzono ponadto, że komórki nowotworowe indukują powstawanie limfocytów Treg [32], i że jest to dominujący mechanizm ucieczki nowotworu spod nadzoru układu odpornościowego we wczesnej fazie jego rozwoju [33]. Deplecja Treg w zaawansowanej chorobie nie wywierała wpływu na wzrost guza, co sugeruje obecność innych mechanizmów immunosupresji.

Odmienne wyniki, w stosunku do badań prowadzonych na zwierzętach, przyniosła ocena prognostycznego znaczenia liczby komórek Treg u chorych na B-NHL. Stwierdzono bowiem, iż u chorych na chłoniaki grudekowe (*folicular lymphoma, FL*) wysoki odsetek komórek CD4+CD25+FoxP3+ wśród limfocytów naciekających guz nowotworowy [34, 35, 36] koreluje z istotnie dłuższym czasem przeżycia. Dane dotyczące rokowniczego znaczenia Treg w rozlanym chłoniaku z dużych limfocytów B (*diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL*) są natomiast rozbieżne [37, 38]. Kontrowersje tłumaczyć mogą wyniki badań Tzankowa i wsp. [36], którzy oceniali rokownicze znaczenie Treg w zależności od typu DLBCL i wykazali istotną korelację z przeżyciem jedynie w przypadku *germinal center-like* DLBCL (GC DLBCL). Zależności takiej nie stwierdzono zaś w *non-germinal center* DLBCL (nonGC DLBCL), pomimo iż, w obu przypadkach liczba komórek Treg była podobna [36]. Patogeneza tego zjawiska pozostaje niejasna, autorzy sugerują, iż jedną z przyczyn mogą być zaburzenia funkcji Treg w nowotworach wywodzących się z limfocytów B w późnych stadiach różnicowania [39]. Rzeczywiście, w non-GC DLBCL opisano istotnie wyższe stężenie IL-6 i TNF w porównaniu do GC DLBCL [40]. Obie cytokiny hamują funkcję limfocytów Treg [41, 42], co sugeruje, iż, pomimo zwiększenia ich liczby, komórki te mogą być nieprawi-

dłowe czynnościowo.  
 Ponadto, należy wziąć pod uwagę brak jednolitego schematu leczenia chorych na NHL w opisanych dotychczas badaniach, co może utrudniać ocenę rokowniczego znaczenia limfocytów Treg.

Określenie roli komórek Treg w patogenezie B-NHL jest bardzo trudne. Z jednej strony, wykazano, iż limfocyty CD4+CD25+GITR+ uzyskane z węzłów chłonnych chorych na FL hamują proliferację autologicznych i allogenicznych limfocytów CD8+CD25- oraz CD4+CD25- stymulowanych przeciwciałami anty-CD3 i anty-CD28 [43]. Ponadto, nowotworowe limfocyty B chłoniaka grudkowego indukują konwersję konwencjonalnych limfocytów T w limfocyty Treg, a właściwości tej nie posiadają prawidłowe limfocyty B [44]. Z drugiej zaś strony komórki Treg mają bezpośredni i pośredni hamujący wpływ na rozwój limfocytów B w ośrodkach rozmnażania grudek chłonnych, przez co mogą hamować rozwój nowotworu. W sposób bezpośredni nie tylko hamują one aktywację limfocytów B, wytwarzanie immunoglobulin *in vitro* oraz odpowiedź humoralną *in vivo* [45, 46], ale też indukują śmierć aktywowanych limfocytów B [47]. Pośrednio, wpływają hamująco na wytwarzanie immunoglobulin i przeżycie limfocytów B poprzez upośledzenie funkcji limfocytów pomocniczych CD4+ [48]. Teoria ta mogłaby tłumaczyć korzystne znaczenie rokownicze wysokiej liczby limfocytów Treg w chłoniakach z komórek wywodzących się z ośrodków rozmnażania, takich jak FL czy GC-DLBCL.

### **Szpiczak mnogi (*multiple myeloma*, MM)**

U chorych na szpiczaka mnogiego, podobnie jak w innych nowotworach układu chłonnego dane dotyczące komórek Treg są rozbieżne. Wykazano bowiem nie tylko zwiększenie odsetka prawidłowych czynnościowo limfocytów Treg we krwi obwodowej chorych na MM i osób z osobą z monoklonalną gammopatią o nieokreślonym znaczeniu (*monoclonal gammopathy of undetermined significance*, MGUS) [49, 50], ale także korelację między wysokim ich odsetkiem a stężeniem białka monoklonalnego. Równocześnie obserwowano zwiększenie surowiczego stężenia immunosupresyjnych cytokin, IL-10 i TGFβ. Jednakże, przeciwne dane przedstawili Prabhala i wsp. opisując zarówno zmniejszenie liczby, jak i upośledzenie supresyjnej funkcji komórek CD4+CD25+FoxP3+ u chorych na MM i osób z MGUS [39]. Według autorów przyczyną obserwowanych nieprawidłowości może być zwiększone stężenie cytokin, takich IL-6 i TNF. Wpływ dysfunkcji komórek Treg na zaburzenia układu odpornościowego w MM pozostaje niewyjaśniony. Kontrowersyjne i skąpe są dane dotyczące wpływu leczenia immunomodulującego stosowanego u chorych na MM na liczbę limfocytów Treg. Opisano bowiem zarówno zwiększenie odsetka komórek Treg w trakcie leczenia talidomidem [50], (jednakże autorzy nie opisali związku z odpowiedzią kliniczną), ale również zahamowanie proliferacji i upośledzenie ich funkcji w warunkach hodowli *in vitro* z lenalidomidem lub pomalidomidem [51]. W świetle powyższych danych trudno ocenić kliniczne znaczenie opisanego przez Banerjee i wsp. zwiększenia liczby Treg, zarówno w warunkach *in vitro*, jak też we krwi chorych na MM pod

wpływem stosowanych w immunoterapii przeciwnowotworowej, komórek dendrytycznych generowanych z monocytów krwi obwodowej [52]. Istotne znaczenie na funkcję DC mają warunki generacji. Stymulacja dojrzewania DC przy pomocy mieszaniny cytokin prozapalnych (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) z dodatkiem prostaglandyny E2 w największym stopniu przyczynia się do indukcji komórek Treg. Biorąc pod uwagę fakt, iż większość danych przemawia jednak za niekorzystnym wpływem Treg na odporność przeciwnowotworową w MM, wyniki uzyskane przez Banerjee i wsp. z całą pewnością powinny być wzięte pod uwagę w planowanych protokołach immunoterapii z wykorzystaniem DC.

### **Przewlekła białaczka limfocytowa (*chronic lymphocytic leukemia, CLL*)**

W przeciwieństwie do przedstawionych wyżej danych, opisane jak dotąd obserwacje dotyczące komórek Treg u chorych na CLL są stosunkowo spójne. Wykazano bowiem zarówno zwiększenie odsetka i bezwzględnych wartości Treg we krwi obwodowej chorych, jak też korelację między wysokim ich odsetkiem a stopniem zaawansowania choroby [53–56]. Zastosowanie leczenia przeciwnowotworowego w postaci fludarabiny [53], a także talidomidu [56] wpływa na zmniejszenie odsetka oraz zahamowanie supresyjnej funkcji komórek Treg. Opisano natomiast związek między zwiększeniem odsetka limfocytów Treg i brakiem odpowiedzi na immunoterapię komórkową w postaci modyfikowanych komórek białaczkowych [57] oraz autologicznych komórek dendrytycznych [58]. W hodowli *in vitro* istotne zmniejszenie liczby Treg uzyskano także przy pomocy przeciwciała anty-CD200, którego wysoką ekspresję opisano na wielu rodzajach komórek nowotworowych, także CLL [59].

### **Chłoniaki nieziarnicze T komórkowe (*T-cell non Hodgkin lymphoma, T-NHL*)**

Nieliczne prace na temat znaczenia limfocytów T regulatorowych w T-NHL dotyczą przede wszystkim chłoniaków skórnych (*cutaneous T-cell lymphomas, CTCL*). Wykazano, iż liczba limfocytów Treg w naciekach nowotworowych jest największa w ziarniniaku grzybiastym, w porównaniu do bardziej agresywnych postaci, zespołu Sezariiego i nieokreślonych CTCL, a wysoki odsetek komórek Treg koreluje ze wcześniejszym stadium choroby i dłuższym czasem przeżycia [60, 61]. Autorzy nie wykazali ekspresji FoxP3 w nowotworowych limfocytach CTCL, chociaż dane na temat są rozbieżne, co, jak wykazały badania Banham i wsp., może przynajmniej w części wynikać z odmiennego rodzaju przeciwciał stosowanych w różnych badaniach [62]. Mechanizm działania limfocytów Treg w T-NHL pozostaje nieznanym. Możliwe, iż posiadają one właściwość bezpośredniego hamowania funkcji nowotworowych limfocytów T, zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby. Badania Tiemessen i wsp., wykazały bowiem istotne zaburzenia czynnościowe Treg w zaawansowanych stadiach CTCL oraz hamowanie *in vitro* proliferacji limfocytów CLCL przez komórki Treg izolowane od zdrowych dawców [63].

Odrębnym, interesującym zagadnieniem jest ekspresja FoxP3 w nowotworowych limfocytach T, którą wykazano u znacznej liczby chorych na T-komórkowego chłonia-ka/białaczkę dorosłych (*adult T-cell leukemia/lymphoma*, ATLL) [64, 65]. Stwierdzono, iż nowotworowe limfocyty T chorych na ATLL mogą pełnić funkcje Treg, hamując proliferację nienowotworowych limfocytów CD4<sup>+</sup> w warunkach *in vitro*, przy czym interesujące jest, iż właściwości te nie były zależne od ekspresji FoxP3 [66, 67]. Być może są one odpowiedzialne za głęboką immunosupresję obserwowaną w przebiegu ATLL.

### Limfocyty Th17

Limfocyty Th17 stanowią ostatnią spośród dotychczas opisanych populacji limfocytów T pomocniczych. Charakterystyczną cechą tych komórek jest wydzielanie IL-17, skąd też wywodzi się ich nazwa „Th17” [68]. Limfocyty Th 17 zostały opisane w 2005 roku [69] zarówno u myszy, jak i u ludzi, lecz cechy fenotypowe oraz czynnościowe, jak też mechanizmy odpowiedzialne za ich różnicowanie wydają się być odmienne. W różnicowaniu limfocytów T w Th17 u myszy najważniejszą rolę odgrywają cytokiny TGFβ i IL-6 [70], a IL-23 wpływa na ekspansję i przeżycie tych komórek. Istotny wpływ na różnicowanie limfocytów Th17 u ludzi ma natomiast IL-1β, zaś znaczenie TGFβ pozostaje kontrowersyjne [71]. Rolę czynnika transkrypcji niezbędnego dla różnicowania limfocytów T w kierunku Th17 pełni ROR γT (*retinoic acid-related orphan receptor γ*). Limfocyty Th17 wydzielają szereg cytokin, spośród których najważniejsza jest IL-17 (określana także jako IL-17A), która odgrywa istotną rolę w obronie przeciwbakteryjnej (bakterie zewnątrzkomórkowe) i przeciwgrzybiczej [70]. Opisano także jej udział w patogenezie ludzkich chorób autoimmunologicznych. Do innych cytokin wytwarzanych przez limfocyty Th17 należą: IL-22, IL-17F, IL-26, IL-6, TNFα.

Wyniki wstępnych badań sugerują także udział populacji Th17 w odporności przeciwnowotworowej. Obecność limfocytów Th17 w mikrośrodkowisku guza wykazano wprawdzie w doświadczalnych modelach ludzkich nowotworów [72], jednakże nie określono jak dotąd jednoznacznie wpływu tych komórek na ich rozwój. IL-17 jako cytokina o plejotropowym działaniu, może bowiem prawdopodobnie wywierać działanie hamujące lub stymulujące wzrost nowotworu. W badaniach doświadczalnych wykazano, iż cytokiny IL-17 i IL-23 promują wzrost nowotworu i upośledzają funkcję nowotworowo-swoistych cytotoksycznych limfocytów T CD8<sup>+</sup> [73, 74], z drugiej zaś strony opisano silną indukcję odporności przeciwnowotworowej przez komórki dendrytyczne transdukowane IL-23 [75]. Na modelu mysim uzyskano eradykację zawan-owanego czerniaka przy pomocy nowotworowo-swoistych limfocytów Th17 generowanych *in vitro* [76]. Wszczepienie myszom komórek nowotworowych transfekowanych DNA dla IL-17 indukuje swoistą odpowiedź przeciwnowotworową i wywołuje zahamowanie wzrostu guza [77]. Te rozbieżności mogą wynikać również z odmiennej natury cytokin wytwarzanych endogennie oraz przez komórki modyfikowane drogą inżynierii genetycznej lub generowane *in vitro*. Interesująca koncepcja wykorzystania



komórek Th17 w immunoterapii nowotworów opracowana została przez Kottke i wsp. Polega ona na eradykacji nowotworu poprzez indukcję odpowiedzi autoimmunologicznej przeciw antygenom raka prostaty przebiegającej za pośrednictwem Th17 [78].

Zaledwie pojedyncze publikacje poruszają temat potencjalnej roli komórek Th17 w chorobach limfoproliferacyjnych. U chorych na MM stwierdzono korelację między wysokim stężeniem IL-17 w surowicy a stężeniem proangiogennych cytokin (VEGF, i TNF), gęstością naczyń krwionośnych (*microvessel density*, MVD) oraz klinicznym stadium choroby. Dane te sugerują, iż IL-17 może poprzez pośrednie działanie proangiogenne stymulować wzrost nowotworu [79], co wykazano także wcześniej w guzach litych [80]. Ekspresję IL-17 opisano w komórkach CTCL: ziarniniaka grzybiastego i zespołu Sezarięgo, u części chorych uległa ona zwiększeniu w miarę progresji choroby. Prawdopodobnie IL-17 wywołuje infiltrację neutrofilii do guza nowotworowego i nasila proces zapalny w mikrośrodowisku nowotworu, przez co może wpływać na fenotyp i wzrost komórek nowotworowych [81]. Przedstawione dane sugerują potencjalne znaczenie komórek Th17 w odporności przeciwnowotworowej. Wpływ IL-17 na rozwój nowotworu pozostaje jednakże nieokreślony i wydaje się zależeć w dużej mierze od pochodzenia i immunogenności nowotworu. Z jednej strony wykazano bowiem wywołane przez IL-17 zahamowanie proliferacji nowotworowej zależne od limfocytów T, z drugiej zaś stymulację wzrostu guza poprzez indukcję wydzielania proangiogennych cytokin.

## PIŚMIENNICTWO

1. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; **136**: 2348-57.
2. Gershon RK, Kondo K. Infectious immunological tolerance. *Immunology* 1971; **21**: 903-14.
3. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; **155**: 1151-64.
4. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F. i wsp. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001; **27**: 20-1.
5. Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA. i wsp. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001; **27**: 68-73.
6. Ramsdell F. Foxp3 and natural regulatory T cells: key to a cell lineage? *Immunity* 2003; **19**: 165-8.
7. Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood* 2006; **108**: 804-11.
8. Read S, Malmström V, Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* 2000; **192**: 295-302.
9. McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, i wsp. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity* 2002; **16**: 311-23.
10. Cosmi L, Liotta F, Lazzeri E, i wsp. Human CD8+CD25+ thymocytes share phenotypic and functional features with CD4+CD25+ regulatory thymocytes. *Blood* 2003; **102**: 4107-14.
11. Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, i wsp. Regulatory CD4(+)CD25(+) T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2001; **61**: 4766-72.

12. Sasada T, Kimura M, Yoshida Y, Kanai M, Takabayashi A. CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: possible involvement of regulatory T cells in disease progression. *Cancer* 2003; **98**: 1089-99.
13. Ichihara F, Kono K, Takahashi A, Kawaida H, Sugai H, Fujii H. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 4404-8.
14. Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, Manns MP, Greten TF, Korangy F. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2005; **65**: 2457-64.
15. Javia LR, Rosenberg SA. CD4+CD25+ suppressor lymphocytes in the circulation of patients immunized against melanoma antigens. *J Immunother* 2003; **26**: 85-93.
16. Schaefer C, Kim GG, Albers A, Hoermann K, Myers EN, Whiteside TL. Characteristics of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral circulation of patients with head and neck cancer. *Br J Cancer* 2005; **92**: 913-20.
17. Curiel TJ, 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**: 942-9.
18. Dannull J, Su Z, Rizzieri D, i wsp. Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. *J Clin Invest* 2005; **115**: 3623-33.
19. Vigouroux S, Yvon E, Biagi E, Brenner MK. Antigen-induced regulatory T cells. *Blood* 2004; **104**: 26-33.
20. Marshall NA, Christie LE, Munro LR, i wsp. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004; **103**: 1755-62.
21. Bosler DS, Douglas-Nikitin VK, Harris VN, Smith MD. Detection of T-regulatory cells has a potential role in the diagnosis of classical Hodgkin lymphoma. *Cytometry B Clin Cytom* 2008; **74**: 227-35.
22. Baráth S, Aleksza M, Keresztes K, i wsp. Immunoregulatory T cells in the peripheral blood of patients with Hodgkin's lymphoma. *Acta Haematol* 2006; **116**: 181-5.
23. Kosmaczewska A, Frydecka I, Boćko D, Ciszak L, Teodorowska R. Correlation of blood lymphocyte CTLA-4 (CD152) induction in Hodgkin's disease with proliferative activity, interleukin 2 and interferon-gamma production. *Br J Haematol* 2002; **118**: 202-9.
24. Alvaro T, Lejeune M, Salvadó MT, i wsp. Outcome in Hodgkin's lymphoma can be predicted from the presence of accompanying cytotoxic and regulatory T cells. *Clin Cancer Res* 2005; **11**: 1467-73.
25. Oudejans JJ, Jiwa NM, Kummer JA, i wsp. Activated cytotoxic T cells as prognostic marker in Hodgkin's disease. *Blood* 1997; **89**: 1376-82.
26. Tanijiri T, Shimizu T, Uehira K, i wsp. Hodgkin's reed-sternberg cell line (KM-H2) promotes a bidirectional differentiation of CD4+CD25+Foxp3+ T cells and CD4+ cytotoxic T lymphocytes from CD4+ naive T cells. *J Leukoc Biol* 2007; **82**: 576-84.
27. Ishida T, Ishii T, Inagaki A, i wsp. Specific recruitment of CC chemokine receptor 4-positive regulatory T cells in Hodgkin lymphoma fosters immune privilege. *Cancer Res* 2006; **66**: 5716-22.
28. Wilson WM, Dua U, Grigg AP, Gandhi MK. Correlation of T-cell immune response with spontaneous resolution and subsequent relapse of Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2006; **47**: 871-6.
29. Yang ZZ, Novak AJ, Stenson MJ, Witzig TE, Ansell SM. Intratumoral CD4+CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression of infiltrating CD4+ T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2006; **107**: 3639-46.
30. Yang ZZ, Novak AJ, Ziesmer SC, Witzig TE, Ansell SM. Attenuation of CD8(+) T-cell function by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2006; **66**: 10145-52.
31. Heier I, Hofgaard PO, Brandtzaeg P, Jahnsen FL, Karlsson M. Depletion of CD4+ CD25+ regulatory T cells inhibits local tumour growth in a mouse model of B cell lymphoma. *Clin Exp Immunol* 2008; **152**: 381-7.
32. Zhou G, Levitsky HI. Natural regulatory T cells and de novo-induced regulatory T cells contribute independently to tumor-specific tolerance. *J Immunol* 2007; **178**: 2155-62.

33. Elpek KG, Lacelle C, Singh NP, Yolcu ES, Shirwan H. CD4+CD25+ T regulatory cells dominate multiple immune evasion mechanisms in early but not late phases of tumor development in a B cell lymphoma model. *J Immunol* 2007; **178**: 6840-8.
34. Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, i wsp. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006; **108**: 2957-64.
35. Lee AM, Clear AJ, Calaminici M, i wsp. Number of CD4+ cells and location of forkhead box protein P3-positive cells in diagnostic follicular lymphoma tissue microarrays correlates with outcome. *J Clin Oncol* 2006; **24**: 5052-9.
36. Tzankov A, Meier C, Hirschmann P, Went P, Pileri SA, Dirnhofer S. Correlation of high numbers of intratumoral FOXP3+ regulatory T cells with improved survival in germinal center-like diffuse large B-cell lymphoma, follicular lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica* 2008; **93**: 193-200.
37. Hasselblom S, Sigurdadottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Ridell B, Andersson PO. The number of tumour-infiltrating TIA-1+ cytotoxic T cells but not FOXP3+ regulatory T cells predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2007; **137**: 364-73.
38. Lee NR, Song EK, Jang KY, i wsp. Prognostic impact of tumor infiltrating FOXP3 positive regulatory T cells in diffuse large B-cell lymphoma at diagnosis. *Leuk Lymphoma* 2008; **49**: 247-56.
39. Prabhala RH, Neri P, Bae JE, i wsp. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood* 2006; **107**: 301-4.
40. Pedersen LM, Jürgensen GW, Johnsen HE. Serum levels of inflammatory cytokines at diagnosis correlate to the bcl-6 and CD10 defined germinal centre (GC) phenotype and bcl-2 expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2005; **128**: 813-9.
41. Wan S, Xia C, Morel L. IL-6 produced by dendritic cells from lupus-prone mice inhibits CD4+CD25+ T cell regulatory functions. *J Immunol* 2007; **178**: 271-9.
42. Valencia X, Stephens G, Goldbach-Mansky R, Wilson M, Shevach EM, Lipsky PE. TNF downmodulates the function of human CD4+CD25hi T-regulatory cells. *Blood* 2006; **108**: 253-61.
43. Hilchey SP, De A, Rimsza LM, Bankert RB, Bernstein SH. Follicular lymphoma intratumoral CD4+CD25+GITR+ regulatory T cells potentially suppress CD3/CD28-costimulated autologous and allogeneic CD8+CD25- and CD4+CD25- T cells. *J Immunol* 2007; **178**: 4051-61.
44. Ai WZ, Hou JZ, Zeiser R, Czerwinski D, Negrin RS, Levy R. Follicular lymphoma B cells induce the conversion of conventional CD4+ T cells to T-regulatory cells. *Int J Cancer* 2009; **124**: 239-44.
45. Bystry RS, Aluvihare V, Welch KA, Kallikourdis M, Betz AG. B cells and professional APCs recruit regulatory T cells via CCL4. *Nat Immunol* 2001; **2**: 1126-32.
46. Lim HW, Hillsamer P, Banham AH, Kim CH. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2005; **175**: 4180-3.
47. Zhao DM, Thornton AM, DiPaolo RJ, Shevach EM. Activated CD4+CD25+ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood* 2006; **107**: 3925-32.
48. Lim HW, Hillsamer P, Kim CH. Regulatory T cells can migrate to follicles upon T cell activation and suppress GC-Th cells and GC-Th cell-driven B cell responses. *J Clin Invest* 2004; **114**: 1640-9.
49. Beyer M, Kochanek M, Giese T, i wsp. In vivo peripheral expansion of naive CD4+CD25high FoxP3+ regulatory T cells in patients with multiple myeloma. *Blood* 2006; **107**: 3940-9.
50. Feyler S, von Lilienfeld-Toal M, Jarmin S, i wsp. CD4(+)CD25(+)FoxP3(+) regulatory T cells are increased whilst CD3(+)/CD4(-)/CD8(-)/alpha-betaTCR(+) Double Negative T cells are decreased in the peripheral blood of patients with multiple myeloma which correlates with disease burden. *Br J Haematol* 2009; **144**: 686-95.
51. Galustian C, Meyer B, Labarthe MC, i wsp. The anti-cancer agents lenalidomide and pomalidomide inhibit the proliferation and function of T regulatory cells. *Cancer Immunol Immunother* 2008 Nov 14
52. Banerjee DK, Dhodapkar MV, Matayeva E, Steinman RM, Dhodapkar KM. Expansion of FOXP3high regulatory T cells by human dendritic cells (DCs) in vitro and after injection of cytokine-matured DCs in myeloma patients. *Blood* 2006; **108**: 2655-61.

53. Beyer M, Kochanek M, Darabi K, i wsp. Reduced frequencies and suppressive function of CD4+CD25hi regulatory T cells in patients with chronic lymphocytic leukemia after therapy with fludarabine. *Blood* 2005; **106**: 2018-25.
54. Motta M, Rassenti L, Shelvin BJ, i wsp. Increased expression of CD152 (CTLA-4) by normal T lymphocytes in untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Increased expression of CD152 (CTLA-4) by normal T lymphocytes in untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2005; **19**: 1788-93.
55. Giannopoulos K, Schmitt M, Kowal M, i wsp. Characterization of regulatory T cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Oncol Rep* 2008; **20**: 677-82.
56. Giannopoulos K, Schmitt M, Własiuk P, i wsp. The high frequency of T regulatory cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia is diminished through treatment with thalidomide. *Leukemia* 2008; **22**: 222-4.
57. Biagi E, Rousseau R, Yvon E, i wsp. Responses to human CD40 ligand/human interleukin-2 autologous cell vaccine in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2005; **11**: 6916-23.
58. Hus I, Schmitt M, Tabarkiewicz J, i wsp. Vaccination of B-CLL patients with autologous dendritic cells can change the frequency of leukemia antigen-specific CD8+ T cells as well as CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells toward an antileukemia response. *Leukemia* 2008; **22**: 1007-17.
59. Pallasch CP, Ulbrich S, Brinker R, i wsp. Disruption of T cell suppression in chronic lymphocytic leukemia by CD200 blockade. *Leuk Res* 2009; **33**: 460-4.
60. Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, i wsp. FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival. *Leukemia* 2007; **21**: 2512-8.
61. Klemke CD, Fritzsching B, Franz B, i wsp. Paucity of FOXP3+ cells in skin and peripheral blood distinguishes Sézary syndrome from other cutaneous T-cell lymphomas. *Leukemia* 2006; **20**: 1123-9.
62. Banham AH, Brown PJ, Lyne L, Schulze HJ, Hallermann C. Is FOXP3 expressed in cutaneous T-cell lymphomas? *Eur J Haematol* 2008; **80**: 90-1.
63. Tiemessen MM, Mitchell TJ, Hendry L, Whittaker SJ, Taams LS, John S. Lack of suppressive CD4+CD25+FOXP3+ T cells in advanced stages of primary cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 2006; **126**: 2217-23.
64. Karube K, Ohshima K, Tsuchiya T, i wsp. Expression of FoxP3, a key molecule in CD4CD25 regulatory T cells, in adult T-cell leukaemia/lymphoma cells. *Br J Haematol* 2004; **126**: 81-4.
65. Roncador G, Garcia JF, Garcia JF, i wsp. FOXP3, a selective marker for a subset of adult T-cell leukaemia/lymphoma. *Leukemia* 2005; **19**: 2247-53.
66. Yano H, Ishida T, Inagaki A, i wsp. Regulatory T-cell function of adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Int J Cancer* 2007; **120**: 2052-7.
67. Chen S, Ishii N, Ine S, i wsp. Regulatory T cell-like activity of Foxp3+ adult T cell leukemia cells. *Int Immunol* 2006; **18**: 269-77.
68. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, i wsp. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005; **6**: 1123-32.
69. Park H, Li Z, Yang XO, i wsp. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005; **6**: 1133-41.
70. Romagnani S. Human Th17 cells. *Arthritis Res Ther* 2008; **10**: 206.
71. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008; **112**: 1557-69.
72. Kryczek I, Wei S, Zou L, i wsp. Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *J Immunol* 2007; **178**: 6730-3.
73. Tartour E, Fossiez F, Joyeux I, i wsp. Interleukin 17, a T-cell-derived cytokine, promotes tumorigenicity of human cervical tumors in nude mice. *Cancer Res* 1999; **59**: 3698-704.
74. Langowski JL, Zhang X, Wu L, i wsp. IL-23 promotes tumour incidence and growth. *Nature* 2006; **442**: 461-5.

75. Hu J, Yuan X, Belladonna ML, i wsp. Induction of potent antitumor immunity by intratumoral injection of interleukin 23-transduced dendritic cells. *Cancer Res* 2006; **66**: 8887-96.
76. Muranski P, Boni A, Antony PA, i wsp. Tumor-specific Th17-polarized cells eradicate large established melanoma. *Blood* 2008; **112**: 362-73.
77. Kottke T, Sanchez-Perez L, Diaz RM, i wsp. Induction of hsp70-mediated Th17 autoimmunity can be exploited as immunotherapy for metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 2007; **67**: 11970-9.
78. Benchetrit F, Ciree A, Vives V, i wsp. Interleukin-17 inhibits tumor cell growth by means of a T-cell-dependent mechanism. *Blood* 2002; **99**: 2114-21.
79. Alexandrakis MG, Pappa CA, Miyakis S, i wsp. Serum interleukin-17 and its relationship to angiogenic factors in multiple myeloma. *Eur J Intern Med* 2006; **17**: 412-6.
80. Langowski JL, Kastelein RA, Oft M. Swords into plowshares: IL-23 repurposes tumor immune surveillance. *Trends Immunol* 2007; **28**: 207-12.
81. Cirée A, Michel L, Camilleri-Bröet S, i wsp. Expression and activity of IL-17 in cutaneous T-cell lymphomas (mycosis fungoides and Sezary syndrome). *Int J Cancer* 2004; **112**: 113-20.

Praca wpłynęła do Redakcji 20.04.2009 r. i została zakwalifikowana do druku 30.04.2009 r.

**Adres do korespondencji:**

Iwona Hus  
Klinika Hematoonkologii i Transplantacji Szpiku  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
ul. Staszica 11  
20-081 Lublin