

РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ И НОВЫЕ СТРАТЕГИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Канд. мед. наук П. П. СОРОЧАН, канд. биол. наук И. А. ГРОМАКОВА, канд. мед. наук Н. Э. ПРОХАЧ

REGULATORY T-CELLS AND NEW STRATEGIES OF ANTITUMOR IMMUNE THERAPY

P. P. SOROCHAN, I. A. GROMAKOVA, N. E. PROKHACH

Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева АМН Украины, Харьков

Обсуждаются результаты экспериментального и клинического применения стратегий противоопухолевой иммунотерапии, направленных на регуляторные Т-клетки.

Ключевые слова: регуляторные Т-клетки, противоопухолевая иммунотерапия.

The results of experimental and clinical application of antitumor immune therapy aimed at regulatory T-cells are discussed.

Key words: regulatory T-cells, antitumor immune therapy.

Регуляторные Т-клетки (Трег) — специализированные иммунокомпетентные клетки, способные специфически подавлять аутореактивные клоны клеток, предотвращая развитие аутоиммунных процессов. Исследования содержания Трег у онкологических пациентов выявили их увеличенные уровни в периферической крови, опухолевом микроокружении, дренирующих опухоль лимфатических узлах. Большое число данных указывает на то, что присутствие Трег в опухолевых сайтах связано с уменьшением опухолеспецифического иммунного ответа и что увеличение их количества коррелирует со снижением выживаемости пациентов. Идентифицированы различные субпопуляции Трег, которые действуют через сходные или отличающиеся механизмы супрессии опухолеспецифических эффекторных клеток. В настоящем обзоре литературы обсуждаются результаты экспериментального и клинического применения стратегий противоопухолевой иммунотерапии, ориентированных на Трег.

СУБПОПУЛЯЦИИ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК

Идентифицировано несколько различных типов Трег, включая натуральные $CD4^+25^+$ -Трег, IL-10-секретирующие Tr1-клетки, TGF- β -секретирующие Th3-клетки, $CD8^+CD28^-$ -Т-клетки, $CD8^+CD122^+$ -Т-клетки, $\gamma\delta$ -Т-клетки и NKT-клетки [1, 2]. Наиболее охарактеризованы $CD4^+CD25^+$ -Трег. Различают две фенотипически идентичные популяции $CD4^+CD25^+$ -Трег — натуральные и адаптивные. Натуральные Трег дифференцируются в обычных условиях в тимусе, превращаясь в зрелую регуляторную субпопуляцию. Генерация адаптивных $CD4^+CD25^+$ -Трег происходит при инфекционных и неопластических процессах. $CD4^+CD25^+$ -Трег составляют приблизительно 5–10% периферических

$CD4^+$ -Т-клеток и конститутивно экспрессируют CD25 (IL-2R α), GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor), CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4) и транскрипционный фактор FOXP3 (forkhead box P3). Только небольшая фракция активированных Т-клеток представлена мощными супрессорными клетками с высокой экспрессией CD25, FOXP3, CTLA-4 и CD62L. Большинство маркеров $CD4^+CD25^+$ -Т-клеток не являются селективными. Относительно селективный маркер Трег — FOXP3, играющий существенную роль в дифференцировке Трег, хотя и не все FOXP3-экспрессирующие клетки являются функционирующими Трег [3].

Высокий процент $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ -Трег обнаружен у больных со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта, карциномой грудной железы, раком легкого, карциномами головы и шеи, цервикальным раком, раком простаты, меланомой и гепатоклеточной карциномой [4].

В метастатических лимфатических узлах меланомы человека наряду с $CD4^+CD25^{high}$ -Трег также идентифицированы Tr1/Th3-подобные лимфоциты [5]. Сообщают о наличии Tr1-клеток в опухолях и периферической циркуляции пациентов с плоскоклеточной карциномой головы и шеи [6]. Авторы продемонстрировали возможность генерации Tr1-клеток из $CD4^+CD25^-$ -предшественников, присутствующих в инфильтрирующих опухоль лимфоцитах.

Обнаружено также присутствие $CD8^+$ -Трег в опухолевых сайтах. $CD8^+CD25^+FOXP3^+$ -Трег присутствовали в составе опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов при раке простаты, в периферической крови и опухоли больших колоректальных раком [7, 8]. Фенотип этих клеток близок к фенотипу $CD4^+CD25^+$ -Трег. У больных

колоректальным раком количество $CD8^+CD25^-$, но не $CD4^+CD25^-$ Трег коррелировало со стадией опухолевого процесса и степенью микроинвазии. Недавно показано [9], что более 50% опухолеинфильтрирующих лимфоцитов в опухолях различных гистологических типов могут составлять обладающие супрессорной активностью $CD8^+CD28^-$ -Т-клетки. Увеличение количества этих клеток коррелировало с худшим прогнозом заболевания. В инфильтрирующих опухоли грудной железы лимфоцитах идентифицирована популяция $\gamma\delta 1$ -Т-клеток, обладающих способностью подавлять ответы наивных и эффекторных Т-клеток и блокировать созревание и функционирование дендритных клеток [2].

Продемонстрирована возможность генерации в опухолевых сайтах стареющих Т-клеток с супрессорной функцией. С. Montes et al. [10] *in vitro* показали, что Т-клетки ($CD4^+$ - и $CD8^+$ -Т-лимфоциты) здоровых доноров при инкубации с опухолевыми клетками приобретают фенотип стареющих Т-клеток, характеризующихся утратой способности экспрессировать CD27 и CD28 и сокращением размеров теломера. Эти клетки обладают способностью подавлять пролиферацию эффекторных Т-клеток. Фенотипическое сходство стареющих Т-клеток и некоторых субпопуляций Трег дает основание предположить, что они представляют одну и ту же популяцию.

МЕХАНИЗМЫ СУПРЕССОРНОЙ АКТИВНОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК

Механизмы, посредством которых Трег подавляют активацию, пролиферацию и продукцию цитокинов антигенспецифическими хелперными $CD4^+$ - и киллерными $CD8^+$ -Т-клетками, исследованы недостаточно.

Полагают, что иммуносупрессорные механизмы Трег опосредуются прямым межклеточным взаимодействием, локальной секрецией ингибиторных цитокинов, конкуренцией за факторы роста [11].

Описано вовлечение мембраносвязанного TGF- β , цитолитических молекул (Fas и Гранзим В), LAG3 (lymphocyte activation gene-3), CTLA-4 в реализацию супрессорных механизмов Трег при межклеточном контакте. Супрессорное действие связывают также с увеличением внутриклеточного уровня мощного ингибитора пролиферации цАМФ посредством двух механизмов — непосредственной доставки цАМФ через щелевой контакт и индукции локальной продукции аденозина [11].

Активными участниками супрессорной функции Трег являются цитокины TGF- β и IL-10 [12]. Супрессорное действие Tr1 субпопуляции $CD4^+$ -Трег опосредуется этими цитокинами.

В качестве одного из механизмов опосредованной Трег иммуносупрессии рассматривается конкуренция за цитокины. Конститутивная экспрессия CD25 Трег создает им преимущество в потреблении IL-2 по сравнению с наивными Т-клетками, которые экспрессируют CD25 только после стиму-

ляции Т-клеточных рецепторов. Установлено, что при культивировании *in vitro* Трег лишают эффекторные Т-клетки IL-2 [13]. Р. Pandiyan et al. [14] продемонстрировали, что Трег-опосредованная конкуренция за факторы роста приводит к индуцированному депривацией цитокинов апоптозу эффекторных клеток как *in vitro*, так и *in vivo*.

О присутствии и функциональной активности Трег в специфических опухолях известно немного. Установлено, что $CD4^+CD25^{high}FOXP3^+$ -Трег метастатических узлов меланомы человека ингибируют пролиферацию $CD4^+CD25^-$ - и $CD8^+$ -Т-клеток контактзависимым механизмом [5]. Этот же механизм опосредовал подавление пролиферации наивных Т-клеток инфильтрирующими опухоли простаты $CD8^+FOXP3^+$ -Трег [7]. Показано [15], что опухолеинфильтрирующие лимфоциты плоскоклеточной карциномы головы и шеи содержат уникальную субпопуляцию $CD4^+CD25^{high}FOXP3^+$ -Т-клеток, которая продуцирует супрессорные IL-10 и TGF- $\beta 1$ и не требует контакта с клетками-респондентами для проявления супрессорной активности. Показано также, что в опухолевых сайтах этой же нозологии индуцируется генерация Tr1-клеток ($CD4^+CD25^-FOXP3^{low}CD132^+IL-10^+TGF-\beta 1^+$ -популяция), супрессорное действие которых также опосредуется IL-10 и TGF- β [6].

Более высокую супрессорную активность проявляли опухолеинфильтрирующие $CD4^+CD25^{high}$ -Трег пациентов с меланомой, характеризующиеся высокой экспрессией ICOS (inducible costimulator) по сравнению с субпопуляцией, выделенной из мононуклеарных клеток периферической крови и обладающей низкой экспрессией ICOS. Продукция IL-10 ICOS^{high}-Трег, очевидно, вносит вклад в супрессорную активность этих клеток [16].

Гетерогенность субпопуляций Трег и различия в механизмах их функциональной активности определяют необходимость анализа функционирования этих клеток в опухолях различного гистологического типа как неперемного условия нахождения специфических путей противоопухолевой иммунотерапии.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ИММУННЫЕ СТРАТЕГИИ, ОРИЕНТИРОВАННЫЕ НА РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ

Моноклональные антитела к CD25. Эффективность монотерапии анти-CD25 моноклональными антителами (мкАТ) показана на некоторых экспериментальных моделях иммуногенных опухолей при системном и внутриопухолевом введении [3]. Повышение противоопухолевого эффекта отмечали при комбинировании анти-CD25 мкАТ с другими иммунными противоопухолевыми стратегиями. У мышей истощение регуляторных клеток мкАТ к CD25 в комбинации с адоптивным переносом цитотоксических Т-лимфоцитов приводило к регрессии и отсутствию повторного роста опухоли Rensa [17]. Введение анти-CD25 мкАТ, предшествующее вакцинации опухолевыми

клетками, существенно повышало выживаемость мышей — носителей нейробластомы [18]. Вакцинация облученными опухолевыми клетками, секретирующими IL-21, подавляла рост микрометастазов аденокарциномы грудной железы у 17% мышей, тогда как истощение Трег однократной дозой анти-CD25 мкАТ при комбинации с вакциной оказывало лечебный эффект более чем у 70% мышей [19]. Подавление роста клеток меланомы у всех мышей отмечали при применении анти-CD25 мкАТ в сочетании с внутриопухолевой трансфекцией гена IL-12, тогда как введение только анти-CD25 мкАТ было неэффективным [20]. Ch. Kudo-Saito et al. [21] продемонстрировали преимущества комбинированного применения вакцинации с использованием векторной системы *vaccinia/fowlpox*, внешнего облучения и анти-CD25 мкАТ для элиминации РЭА-экспрессирующей опухоли MC 38. У мышей, получавших мультимодальную терапию, наблюдали бóльший Т-клеточный ответ, специфичный не только к РЭА, но и к опухолеассоциированным антигенам p53 и gp70.

Блокада CTLA-4. Одной из наиболее исследованных целей блокирования Трег является CTLA-4 — трансмембранный белок, экспрессируемый как CD4⁺CD25⁺-Трег, так и эффекторными Т-клетками. Конститутивно высокая экспрессия CTLA-4 на Трег, как показано, индуцирует дендритные клетки для включения катаболизма триптофана через индоламин 2, 3-диоксигеназу, вызывая локальное истощение этой незаменимой аминокислоты и эффективно нарушая примирование и пролиферацию Т-клеток [22]. Успешные доклинические исследования, выполненные на мышинных моделях опухолей, послужили основанием для проведения клинических испытаний с использованием анти-CTLA-4 мкАТ для лечения больных раком различных гистологических типов. Многочисленные испытания двух моноклональных антител *ipilimumab* (MDX-010) и *tremelimumab* (CP-675,206) у пациентов с меланомой обсуждаются в обзорах [23, 24]. Начальные стадии исследований противоопухолевого эффекта анти-CTLA-4 мкАТ проведены у больных раком простаты. В пилотном исследовании [25] показано, что одна доза *ipilimumab*, примененная у пациентов с гормонорефрактерным раком простаты, безопасна и не приводит к развитию аутоиммунных реакций. У двух из 12 пациентов уровень PSA снижался более чем на 50%. При лечении 24 больных гормонорефрактерным раком простаты применяли *ipilimumab* (первый день каждого из 4-дневных циклов в дозах 0,5; 1,5 или 3 мг/кг) в комбинации с лечением GM-CSF (*sargramostim*, Berlex) (250 мг/м²/в сут в 1–14-е дни 28-дневного цикла). Максимальный эффект наблюдали у пациентов, получавших самую высокую дозу *ipilimumab*. У 50% таких больных отмечали более чем двукратное снижение уровня PSA и у одного пациента — частичную регрессию печеночных метастазов. Лечение приводило к экспансии как активированных эффекторных Т-клеток, так и Трег

[26]. У пациенток с распространенным раком яичников анти-CTLA-4 мкАТ повышали эффективность предварительной вакцинации облученными аутологичными опухолевыми клетками, секретирующими GM-CSF. Величина индуцированного терапией опухолевого некроза положительно коррелировала с соотношением количества внутриопухолевых эффекторных CD8⁺-Т-клеток и FOXP3⁺-Трег [27].

Имунотоксины и регуляторные Т-клетки. В качестве возможной стратегии истощения Трег рассматривают применение имунотоксинов. Токсин, конъюгированный с интерлейкином-2, обеспечивающим его проникновение в Трег, способен избирательно уничтожать гиперэкспрессирующие CD25 клетки в течение нескольких дней. По данным P. Attia et al. [28], однократное применение конъюгата рекомбинантный интерлейкин-2/дифтерийный токсин (*Denileukin Diftitox*, DAB389IL-2, или Онтак, — препарат, разрешенный FDA для лечения кожной Т-клеточной лимфомы) не приводило к элиминации Трег и регрессии опухоли у пациентов с метастатической меланомой. При многократных инъекциях имунотоксина Онтак [29] наблюдали регрессию метастазов меланомы у пяти пациентов и практически полный ответ у одного больного из шестнадцати, включенных в исследование. Авторы отмечали временное истощение Трег, а также CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток. У некоторых пациентов репопуляция Т-клеток совпадала с появлением *de novo* специфичных к антигенам меланомы CD8⁺-Т-клеток. Применение Онтак способствовало повышению эффективности противоопухолевой вакцинации у онкологических больных. Применение Онтак [30] за четыре дня до введения вакцины на основе дендритных клеток приводило к 1000-кратному усилению иммунного ответа, тогда как только вакцинация усиливала иммунный ответ в 50 раз у больных с метастатической карциномой почек. У пациентов с опухолями, экспрессирующими раковоэмбриональный антиген, истощение Трег с помощью многократных инъекций *Denileukin Diftitox* усиливало антигенспецифический иммунный ответ на вакцинацию дендритными клетками, модифицированными с помощью рекомбинантного вирусного вектора *fowlpox* (rF-CEA(6D)-TRICOM) [31]. Клиническая доступность имунотоксинов и полученные положительные результаты делают обоснованным дальнейшее их изучение в качестве агентов, приводящих к истощению Трег у онкологических пациентов.

Регуляция супрессорной активности регуляторных Т-клеток. Выявление аутоиммунных реакций, сопровождающих истощение Трег при использовании анти-CD25 мкАТ и блокаторов CTLA-4, обусловило поиск новых подходов к противоопухолевой иммунотерапии. Нивелирование супрессорных эффектов CD4⁺FOXP3⁺-Трег и проявление стимулирующих эффектов на эффекторные CD4⁺- и CD8⁺-Т-клетки при передаче сигналов через GITR и OX40 (CD134) [32] заставило

обратить внимание на эти молекулы как на цель противоопухолевой иммунотерапии.

D. Cohen et al. [33] показали на мышинных моделях, что *in vivo* лигирование GITR агонистическими анти-GITR мкАТ DTA-1 может усиливать как вызванный вакцинацией, так и естественный противоопухолевый иммунитет. Эти же авторы продемонстрировали отторжение подкожной меланомы B16 у 20–30% C57BL/6 мышей, получавших 1 мг DTA-1 в 0-й и 4-й день после интрадермальной инокуляции опухолевых клеток, по сравнению с 0–5% у контрольных IgG-инъекционных животных [34]. На этой же опухолевой модели было продемонстрировано повышение эффективности терапии DTA1 при комбинировании с циклофосфамидом (ЦФ). В серийных экспериментах длительная безрецидивная выживаемость отмечалась у 0–20% мышей, получавших только DTA-1, и у 60–80%, леченных ЦФ и DTA-1. На 10-й день после инокуляции опухолевых клеток, когда отдельное введение препаратов было неэффективным, комбинированная стратегия повышала выживаемость у 40% мышей. Соотношение CD8⁺-Т-клеток и CD4⁺FOXP3⁺-Трег в опухоли получавших DTA-1 и ЦФ животных составляло 40:1 против 5:1 в контрольной группе, получавшей ЦФ и IgG [35]. K. Ko et al. [36] показали, что однократная внутривенная или внутриопухолевая инъекция анти-GITR мкАТ оказывала противоопухолевое действие в отношении сформировавшейся опухоли у мышей-опухоленосителей. При этом совместное введение анти-GITR и анти-CTLA-4 мкАТ обеспечивало синергический эффект, приводящий к элиминации более распространенных опухолей. Напротив, совместное введение анти-CD25 и анти-GITR мкАТ было менее эффективным по сравнению с лечением одними анти-GITR мкАТ, поскольку анти-CD25 мкАТ приводили к истощению как CD25⁺-активированных Т-клеток, так и CD4⁺CD25⁺-Трег. В доклинических исследованиях протестировано действие растворимых белков слияния, состоящих из Fc-фрагмента иммуноглобулина и мышинных лигандов GITR (Fc-mGITRL). Иммунотерапевтическое действие Fc-mGITRL опосредовалось главным образом CD8⁺-Т-клетками и сопровождалось значительным снижением супрессорной активности Трег [37].

На моделях карциномы толстого кишечника CT26, опухолей грудной железы TSA и N2C у Balb/c мышей и фибросаркомы у C57BL/6 мышей продемонстрирован противоопухолевый эффект агонистических анти-OX40 мкАТ — OX86. Сравнение эффектов OX86 и Fc-mOX40L показало, что OX86 оказывал умеренный противоопухолевый эффект у мышей с карциномой толстого кишечника CT26 и почечно-клеточной карциномой (RENCA), тогда как применение Fc-m-OX40L на этих же опухолевых моделях приводило к полной ремиссии и обеспечивало долговременное выживание [38].

Наряду с костимуляторными молекулами важное место в регуляции супрессорной активно-

сти Трег принадлежит Toll-подобным рецепторам (TLR). Продемонстрирована способность лигандов TLR8 подавлять функциональную активность Трег. Поли-G-олигонуклеотиды, лиганды TLR8, как показано, блокируют супрессорную активность не только натуральных CD4⁺CD25⁺-Трег и антигениндуцированных CD4⁺-Трег, но и супрессию, опосредованную CD8⁺-Трег и $\gamma\delta$ -Трег, что предполагает наличие у этих клеток общего TLR8-опосредованного механизма передачи сигнала [39]. Данные о блокаде супрессорной функции различных субпопуляций Трег TLR8-лигандами обуславливают целесообразность исследования блокады данного пути у онкологических больных.

Противоопухолевые препараты и регуляторные Т-клетки. К настоящему времени продемонстрирована способность некоторых противоопухолевых препаратов оказывать регулирующее влияние на количество и функциональную активность Трег. Химиотерапевтический препарат циклофосфамид в низких дозах приводит к снижению числа и функциональной активности Трег. Снижение экспрессии GITR и FOXP3 под влиянием циклофосфамида, полагают, опосредует уменьшение супрессорной активности Трег [40]. По данным R. Elmslie et al. [41], длительное введение низких доз циклофосфамида (10 мг/м²) и стандартных доз ингибитора циклооксигеназы пироксикама (0,3 мг/кг) подавляло опухолевый ангиогенез, снижало проявления иммуносупрессии и приводило к истощению Трег у собак с саркомами мягких тканей. Снижение Трег *in vivo* у пациентов с хронической лейкемией отмечали при действии флударабина (FLU). Продемонстрировано, что присутствие флударабина останавливало экспансию IL-10-продуцирующих CD4⁺-Трег в культурах лимфоцитов периферической крови больных меланомой, для генерации в которых антигенспецифических ответов цитотоксических лимфоцитов использовали аутологичные, нагруженные пептидом Mart-1(27–35) дендритные клетки. Присутствие флударабина в культуре способствовало генерации значительно большего числа антигенспецифических цитотоксических лимфоцитов [42]. Противоопухолевые агенты леналидомид и помалидомид также оказывали ингибирующее действие на пролиферацию и супрессорную активность Трег. Оба препарата вдвое снижали IL-2-опосредованную генерацию FOXP3 и CTLA-4 позитивных CD4⁺CD25^{high}-Трег в культуре мононуклеарных клеток периферической крови. В лимфатических узлах мышей Balb/C наблюдали 25%-ное снижение Трег после лечения помалидомидом. Ингибирование функциональной активности Трег опосредовалось снижением экспрессии FOXP3 [43]. Иматиниба мезилат (Гливек, STI571), селективный ингибитор тирозинкиназ, используемый в клинических концентрациях, нарушал иммуносупрессивную функцию и экспрессию FOXP3⁺-Трег в экспериментах *in vitro*. Применение иматиниба *in vivo* у мышей приводило к снижению количества и функциональной активности Трег.

Кроме того, показано усиление противоопухолевого иммунного ответа при иммунизации вакциной на основе дендритных клеток при иматинибрезистентной BCR-ABL-негативной лимфоме [44]. Селективное снижение популяции Трег выявлено при анализе 55 образцов периферической крови от пациентов с немелкоклеточным раком легких, получавших паклитаксел. Повышение экспрессии рецептора клеточной смерти Fas (CD95) вносило вклад в снижение количества Трег. После лечения паклитаксолом ингибиторная функция Трег была существенно нарушена, в то время как продукция Th1-клетками цитокинов ИФ- γ и ИЛ-2 и экспрессия маркера активации CD44 CD4⁺ и CD8⁺-Т-клеток достоверно увеличивались [45].

Элиминация иммуносупрессивных факторов под влиянием некоторых химиопрепаратов указы-

вает на целесообразность комбинирования химио- и иммунотерапевтических подходов. Дальнейшее выяснение, каким образом противоопухолевые препараты проявляют свои иммуномодулирующие эффекты, будет способствовать развитию более совершенных стратегий комбинации химио- и иммунотерапии онкологических больных.

Наряду с представленными стратегиями истощения и регулирования функциональной активности Трег, стратегии блокирования транспорта Трег, дифференцировки, снижения чувствительности эффекторных клеток рассматриваются в качестве перспективных подходов. По мере увеличения знаний о различных популяциях регуляторных клеток, их вклада в иммунную дисфункцию управление этими клетками также может быть включено в стратегии противоопухолевого лечения.

Литература

1. Wang R. F. CD8⁺ regulatory T cells, their suppressive mechanisms, and regulation in cancer // *Hum. Immunol.*— 2008.— Vol. 69, № 11.— P. 811–814.
2. Tumor-infiltrating gammadelta T cells suppress T and dendritic cell function via mechanisms controlled by a unique toll-like receptor signaling pathway / G. Peng, H. Y. Wang, W. Peng et al. // *Immunity.*— 2007.— Vol. 27, № 2.— P. 334–348.
3. Curiel T. J. Regulatory T cells and treatment of cancer // *Curr. Opin. Immunol.*— 2008.— Vol. 20, № 2.— P. 241–246.
4. Piersma S. J., Welters M. J., van der Burg S. H. Tumor-specific regulatory T cells in cancer patients // *Hum. Immunol.*— 2008.— Vol. 69, № 4–5.— P. 241–249.
5. Foxp3 Expressing CD4⁺CD25^{high} Regulatory T cells are overrepresented in human metastatic melanoma lymph nodes and inhibit the function of infiltrating T cells / M. Viguiet, F. Lemaitre, O. Verola et al. // *J. Immunol.*— 2004.— Vol. 173.— P. 1444–1453.
6. T regulatory type 1 cells in squamous cell carcinoma of the head and neck: mechanisms of suppression and expansion in advanced disease / C. Bergmann, L. Strauss, Y. Wang et al. // *Clin. Cancer Res.*— 2008.— Vol. 14, № 12.— P. 3706–3715.
7. CD8⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells mediate immunosuppression in prostate cancer / Y. Kuniwa, Y. Miyahara, H. Y. Wang et al. // *Clin. Cancer Res.*— 2007.— Vol. 13, № 23.— P. 6947–6958.
8. Identification of CD8⁺CD25⁺Foxp3⁺ suppressive T cells in colorectal cancer tissue / N. Chaput, S. Louafi, A. Bardier // *Gut.* [In print].
9. CD8⁺ CD28⁻ T regulatory lymphocytes inhibiting T cell proliferative and cytotoxic functions infiltrate human cancers. / G. Filaci, D. Fenoglio, M. Fravega et al. // *J. Immunol.*— 2007.— Vol. 179, № 7.— P. 4323–4334.
10. Tumor-induced senescent T cells with suppressor function: a potential form of tumor immune evasion / C. L. Montes, A. I. Chapoval, J. Nelson // *Cancer Res.*— 2008.— Vol. 68, № 3.— P. 870–879.
11. Sojka D. K., Huang Y. H., Fowell D. J. Mechanisms of regulatory T-cell suppression — a diverse arsenal for a moving target // *Immunology.*— 2008.— Vol. 124.— P. 13–22.
12. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor-beta: the role of T regulatory cells / A. Taylor, J. Verhagen, K. Blaser et al. // *Immunology.*— 2006.— Vol. 117, № 4.— P. 433–442.
13. CD25⁺CD4⁺ T cells compete with naive CD4⁺T cells for IL-2 and exploit it for the induction of IL-10 production / T. Barthlott, H. Moncrieffe, M. Veldhoen et al. // *Int. Immunol.*— 2005.— Vol. 17, № 3.— P. 279–288.
14. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4⁽⁺⁾ T cells / P. Pandiyan, L. Zheng, S. Ishihara et al. // *Nat. Immunol.*— 2007.— Vol. 8, № 12.— P. 1353–1362.
15. A unique subset of CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ T cells secreting interleukin-10 and transforming growth factor-beta1 mediates suppression in the tumor microenvironment / L. Strauss, C. Bergmann, M. Szczepanski et al. // *Clin. Cancer Res.*— 2007.— Vol. 13, № 15 (Pt. 1).— P. 4345–4354.
16. Expression of ICOS on human melanoma-infiltrating CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ T regulatory cells: implications and impact on tumor-mediated immune suppression / L. Strauss, C. Bergmann, M. J. Szczepanski et al. // *J. Immunol.*— 2008.— Vol. 180, № 5.— P. 2967–2980.
17. Combinations of tumor-specific CD8⁺ CTLs and anti-CD25 mAb provide improved immunotherapy / Y. Ohmura, K. Yoshikawa, S. Saga et al. // *Oncol. Rep.*— 2008.— Vol. 19, № 5.— P. 1265–1270.
18. Johnson B. D., Jing W., Orentas R. J. CD25⁺ regulatory T cell inhibition enhances vaccine-induced immunity to neuroblastoma // *J. Immunother.*— 2007.— Vol. 30, № 2.— P. 203–214.
19. CD25⁺ regulatory T cell depletion augments immunotherapy of micrometastases by an IL-21-secreting cellular vaccine / A. Comes, O. Rosso, A. M. Orenge et al. // *J. Immunol.*— 2006.— Vol. 176, № 3.— P. 1750–1758.
20. In vivo elimination of CD25⁺ regulatory T cells leads to tumor rejection of B16F10 melanoma, when combined with interleukin-12 gene transfer / H. Nagai,

- T. Horikawa, I. Hara et al. // *Exp. Dermatol.*— 2004.— Vol. 13, № 10.— P. 613–620.
21. The requirement of multimodal therapy (vaccine, local tumor radiation, and reduction of suppressor cells) to eliminate established tumors / Ch. Kudo-Saito, J. Schlom, K. Camphausen et al. // *Clin. Cancer Res.*— 2005.— Vol. 11, № 12.— P. 4533–4544.
 22. Puccetti P., Fallarino F. Generation of T cell regulatory activity by plasmacytoid dendritic cells and tryptophan catabolism // *Blood Cells Mol. Dis.*— 2008.— Vol. 40, № 1.— P. 101–105.
 23. Weber J. Anti-CTLA-4 antibody ipilimumab: case studies of clinical response and immune-related adverse events // *Oncologist.*— 2007.— Vol. 12.— P. 864–872.
 24. Tremelimumab (CP-675,206), a cytotoxic t lymphocyte-associated antigen 4 blocking monoclonal antibody in clinical development for patients with cancer / A. Ribas, D. C. Hanson, D. A. Noe et al. // *Oncologist.*— 2007.— Vol. 12.— P. 873–883.
 25. A pilot trial of CTLA-4 blockade with human anti-ctla-4 in patients with hormone-refractory prostate cancer / E. J. Small, N. S. Tchekmedyian, B. I. Rini et al. // *Clin. Cancer Res.*— 2007.— Vol. 13.— P. 1810–1815.
 26. Combination immunotherapy with GM-CSF and CTLA-4 blockade for hormone refractory prostate cancer: Balancing the expansion of activated effector and regulatory T cells / L. Fong, B. Kavanagh, Y. Hou et al. // *J. Clin. Oncol. (ASCO Annual Meeting Proceedings).*— 2007.— Vol. 25, № 18S (Suppl.).— Abstract 3001.
 27. Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients / F. S. Hodi, M. Butler, D. A. Oble et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.*— 2008.— Vol. 105, № 8.— P. 3005–3010.
 28. Inability of a fusion protein of IL-2 and diphtheria toxin (Denileukin Diftitox, DAB389IL-2, ONTAK) to eliminate regulatory T lymphocytes in patients with melanoma / P. Attia, A. V. Maker, L. R. Haworth et al. // *J. Immunother.*— 2005.— Vol. 28, № 6.— P. 582–592.
 29. Transient T cell depletion causes regression of melanoma metastases / M. A. Rasku, A. L. Clem, S. Telang et al. // *J. Transl. Med.*— 2008.— Vol. 6.— 18 p.
 30. Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells / J. Dannull, Z. Su, D. Rizzieri et al. // *J. Clin. Invest.*— 2005.— Vol. 115, № 12.— P. 3623–3633.
 31. Depletion of human regulatory T cells specifically enhances antigen-specific immune responses to cancer vaccines / M. A. Morse, A. C. Hobeika, T. Osada et al. // *Blood.*— 2008.— Vol. 112, № 3.— P. 610–618.
 32. Triggering of OX40 (CD134) on CD4⁺CD25⁺ T cells blocks their inhibitory activity: a novel regulatory role for OX40 and its comparison with GITR / B. Valzassina, C. Guiducci, H. Dislich et al. // *Blood.*— 2005.— Vol. 105, № 7.— P. 2845–2851.
 33. Agonist anti-GITR antibody induces CD8 T cell-mediated tumor rejection / A. D. Cohen, A. Diab, M. A. Perales et al. // *J. Clin. Oncol. (ASCO Annual Meeting Proceedings).*— 2007.— Vol. 25, № 18S (Suppl.).— Abstract 3058.
 34. Agonist anti-GITR antibody enhances vaccine-induced CD8⁺ T-cell responses and tumor immunity / A. D. Cohen, A. Diab, M. A. Perales et al. // *Cancer Res.*— 2006.— Vol. 66.— P. 4904–4912.
 35. Synergistic tumor immunity induced by chemotherapy and agonist anti-GITR antibody / A. D. Cohen, D. Hirschhorn-Cymerman, A. Diab et al. // *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).*— 2007.— Vol. 110.— Abstract 1788.
 36. Treatment of advanced tumors with agonistic anti-GITR mAb and its effects on tumor-infiltrating Foxp3⁺CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells / K. Ko, S. Yamazaki, K. Nakamura et al. // *J. Exp. Med.*— 2005.— Vol. 202, № 7.— P. 885–891.
 37. Construction and preclinical characterization of Fc-mGITRL for the immunotherapy of cancer / P. Hu, R. S. Arias, R. E. Sadun et al. // *Clin. Cancer Res.*— 2008.— Vol. 14, № 2.— P. 579–588.
 38. Fc-mOX40L fusion protein produces complete remission and enhanced survival in 2 murine tumor models / R. E. Sadun, W. E. Hsu, N. Zhang et al. // *J. Immunother.*— 2008.— Vol. 31, № 3.— P. 235–245.
 39. Tumor-infiltrating gammadelta T cells suppress T and dendritic cell function via mechanisms controlled by a unique toll-like receptor signaling pathway / G. Peng, H. Y. Wang, W. Peng et al. // *Immunity.*— 2007.— Vol. 27, № 2.— P. 334–348.
 40. Inhibition of CD4⁺CD25⁺ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide / M. E. Lutsiak, R. T. Semnani, R. De Pascalis // *Blood.*— 2005.— Vol. 105, № 7.— P. 2862–2868.
 41. *Elmslie R. E., Glawe P., Dow S. W.* Metronomic therapy with cyclophosphamide and piroxicam effectively delays tumor recurrence in dogs with incompletely resected soft tissue sarcomas // *J. Vet. Intern. Med.*— 2008.— Vol. 22, № 6.— 1373–1379.
 42. Presence of low dose of fludarabine in cultures blocks regulatory T cell expansion and maintains tumor-specific cytotoxic T lymphocyte activity generated with peripheral blood lymphocytes / U. Hegde, A. Chhabra, S. Chattopadhyay et al. // *Pathobiology.*— 2008.— Vol. 75, № 3.— P. 200–208.
 43. The anti-cancer agents lenalidomide and pomalidomide inhibit the proliferation and function of T regulatory cells / C. Galustian, B. Meyer, M. C. Labarthe et al. // *Cancer Immunol. Immunother.*— 2008 [in print].
 44. Imatinib mesylate inhibits CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell activity and enhances active immunotherapy against BCR-ABL-tumors / N. Larmonier, N. Janikashvili, C. J. LaCasse et al. // *J. Immunol.*— 2008.— Vol. 181, № 10.— P. 6955–6963.
 45. Differential impairment of regulatory T cells rather than effector T cells by paclitaxel-based chemotherapy / L. Zhang, K. Dermawan, M. Jin et al. // *Clin. Immunol.*— 2008.— Vol. 129, № 2.— P. 219–229.

Поступила 28.01.2009