

Received: 2016.05.09
Accepted: 2016.08.03
Published: 2016.10.04

Szlak sygnałowy PD1/PD1L, cząsteczka HLA-G i limfocyty T regulatorowe jako nowe czynniki immunosupresji w nowotworach*

PD1/PD1L pathway, HLA-G and T regulatory cells as new markers of immunosuppression in cancers

Paulina Własiuk, Maciej Putowski, Krzysztof Giannopoulos

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Streszczenie

Prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego jest zależne od skutecznej regulacji odpowiedzi immunologicznej. Utrzymanie homeostazy między sygnałami pobudzającymi i hamującymi funkcje komórek immunokompetentnych jest jednym z głównych elementów skutecznej odpowiedzi na stymulację antygenową. W warunkach patologicznych, takich jak przewlekłe zakażenia, choroby autoimmunologiczne czy nowotworowe dochodzi do znaczących dysproporcji i nadmiernej aktywacji jednej z komponent, aktywującej bądź hamującej funkcje układu odpornościowego. W ostatnim czasie zwraca się uwagę na kluczową rolę zmian ekspresji, takich cząsteczek jak cząsteczka śmierci programowanej 1 (Programmed Death-1, PD-1), ludzki antygen leukocytarny G (Human Leukocyte Antigen G, HLA-G) czy odsetki limfocytów T regulatorowych (Treg). Wyznaczniki zaburzeń funkcji układu odporności mogą się przyczyniać do progresji chorób, ale mogą być także dobrym celem terapii. Znaczenie ekspresji cząsteczek PD-1, HLA-G czy odsetki limfocytów Treg nie jest jednoznaczne. Nie zawsze ich zwiększona ekspresja czy odsetki są związane z progresją choroby nowotworowej. Najnowsze badania wykazały, że limfocyty Treg mogą hamować progresję tych chorób nowotworowych, które rozwinęły się na podłożu przewlekłych stanów zapalnych, a cząsteczki HLA-G mogą wpływać hamująco nie tylko na zdrowe komórki układu immunologicznego, ale również na komórki nowotworowe nowotworów układu krwiotwórczego, które mają receptory dla HLA-G. W artykule scharakteryzowano ekspresję cząsteczek PD-1 i jej ligandów, cząsteczek HLA-G i limfocytów Treg w warunkach fizjologicznych i patologicznych towarzyszących przewlekłym infekcjom, chorobom autoimmunologicznym i nowotworowym. Zrozumienie zależności między przedstawionymi elementami układu odpornościowego jest niezbędne do lepszego poznania mechanizmów wywołujących choroby i poszukiwania skutecznych możliwości ich zwalczania.

Słowa kluczowe:

PD-1 • HLA-G • limfocyty Treg • nowotwory • przewlekłe infekcje • choroby autoimmunologiczne

Summary

The appropriate function of the immune system depends on the effective regulation of the immune response on multiple levels. The key element of an effective immune response to antigenic stimulation is maintaining a homeostasis between activation and inhibitory function of immunocompetent cells and molecules. In pathological conditions such as chronic infections, autoimmune diseases or cancer there are significant alterations, and preva-

*Publikacja została sfinansowana ze środków zadania badawczego w ramach działalności statutowej UM w Lublinie „Rola cząsteczki HLA-G w patomechanizmie zaburzeń odporności w limfoproliferacjach”.

lence of signals of one type over another. Main markers of these dysfunctions are altered expressions of molecules, such as programmed death-1 (PD-1), Human Leukocyte Antigen G (HLA-G), or changed percentages of T regulatory cells (Treg). These indicators of immune system dysfunction may contribute to disease progression, but also could represent good targets for treatment. Interestingly, in recent years there are many new, interesting reports which showed that the role of PD-1, HLA-G or Treg is ambiguous and not always their higher expression or frequency lead to the progression of disease. Recent studies have shown that Treg can suppress bacteria-driven inflammation which promotes carcinogenesis and thus protect the host from cancer development. Moreover, proliferation of hematological tumor cells expressing ILT-2 receptor can be inhibited by HLA-G, in contrast to solid tumors where HLA-G favors tumor escape.

In this paper we present characteristics of expressions of PD-1 and its ligands, HLA-G, and frequency of Treg cells in a variety of physiological and pathological conditions associated with chronic infections, autoimmune diseases and cancer. The understanding of the complex interactions between the functional elements of immune system is essential for a detailed characteristics of the mechanisms leading to the development of diseases and identification of more effective targeted therapies.

Keywords:**PD-1 • HLA-G • T regulatory cells • cancer • chronic infections • autoimmune diseases****Full-text PDF:**<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1220994>**Word count:**

3587

Tables:

3

Figures:

3

References:

119

Adres autorki:

dr n. med. Paulina Własiuk, Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin; e-mail: paulina_wlasiuk@wp.pl

Wykaz skrótów:

APC – komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells), **BCR** – receptor limfocytów B (B cells receptor), **CTLA-4** – antygen 4 limfocytów T cytotoksycznych (cytotoxic T cell antigen 4), **DC** – komórki dendrytyczne (dendritic cells), **DLBCL** – chłoniak rozlany z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma), **FL** – chłoniak grudkowy (follicular lymphoma), **FOXP3** – czynnik transkrypcyjny FOXP3 (forkhead box P3), **GITR** – indukowany kortykosteroidami receptor martwicy nowotworu (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor), **HL** – chłoniak Hodgkina (Hodgkin's lymphoma), **HLA-G** – ludzki antygen leukocytarny G (human leukocyte antigen-G), **ICOS** – indukowany kostymulator limfocytów T (inducible T-cell costimulatory), **IFN-γ** – interferon gamma (interferon gamma), **IL** – interleukina (interleukin), **ILT2** – ludzki hamujący receptor immunoglobulinopodobny 2 (human inhibitory receptors Ig-like transcript 2), **ILT4** – ludzki hamujący receptor immunoglobulinopodobny 4 (human inhibitory receptors Ig-like transcript 4), **IPEX** – sprzężony z chromosomem X zespół dysregulacji immunologicznej, poliendokrynopatii i enteropatii (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome), **ITIM** – hamujący motyw immunoreceptora oparty na tyrozynie (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif), **ITSM** – przełączający motyw immunoreceptora oparty na tyrozynie (immunoreceptor tyrosine-based switch motif), **KIR2DL4** – hamujący receptor komórek naturalnie cytotoksycznych 2DL4 (killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL4), **LPS** – lipopolisachryd (lipopolysaccharide), **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex), **NF-κB** – jądrowy czynnik transkrypcyjny (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), **NF-ATc1** – jądrowy czynnik c1 aktywowanych limfocytów T (nuclear factor of activated T cells c1), **PBL** – przewlekła białaczka limfocytowa, **PD-1** – cząsteczka śmierci programowanej 1 (programmed death-1), **PD-L1** – ligand cząsteczki programowanej śmierci 1 (programmed death ligand-1), **PD-L2** – ligand cząsteczki programowanej śmierci 2 (programmed death ligand-2), **RA** – reumatoidalne zapalenie stawów (rheumatoid arthritis), **sHLA-G** – rozpuszczalny ludzki antygen leukocytarny G (HLA-G), **SLE** – toczeń rumieniowaty układowy (systemic lupus erythematosus), **SNP** – polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism), **TCR** – receptor limfocytów T (T cells receptor), **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu beta (transforming growth factor β), **TLR** – receptory Toll-podobne (Toll-like receptors), **Treg** – limfocyty T regulatorowe (T regulatory cells).

WPROWADZENIE

Układ immunologiczny człowieka ewoluował tak, aby zapewnić skuteczną odpowiedź na antygeny zagrażające organizmowi, ale nie do tego stopnia, żeby mogła powodować uszkodzenie tkanek w wyniku autoagresji. Wniknięcie patogenu do organizmu pobudza swoistą odpowiedź immunologiczną przez proliferację swoistych antygenowo limfocytów T oraz wydzielanie cytokin [3,106]. Skuteczna aktywacja limfocytów T podczas odpowiedzi immunologicznej jest wynikiem dostarczenia niezależnych sygnałów:

- między receptorem komórek T (T Cell Receptor, TCR) a cząsteczkami klasy I i II głównego układu zgodności tkankowej (Major Histocompatibility Complex, MHC) prezentującymi antygen,
- między cząsteczkami kostymulującymi oraz
- sygnału przekazywanego przez wydzielane cytokiny.

Po usunięciu patogenu efektorowa odpowiedź immunologiczna ulega zahamowaniu; w innym przypadku mogłaby doprowadzić do uszkodzenia tkanek lub rozwoju przewlekłego stanu zapalnego. Proces hamowania odpowiedzi immunologicznej jest zależny od sygnałów pochodzących z receptorów i komórek o właściwościach hamujących.

Zarówno ilościowe, jak i funkcjonalne zmiany dotyczące komórek i cząsteczek o właściwościach regulacyjnych mogą zachwiać równowagę immunologiczną i sprzyjać rozwojowi chorób zapalnych, nowotworowych czy chorób o podłożu autoimmunologicznym lub mogą być ich skutkiem. Regulacja odpowiedzi immunologicznej jest złożonym procesem i przebiega wieloetapowo, wynika z mechanizmów centralnej i obwodowej tolerancji wobec własnych antygenów [1,23]. W ciągu ostatnich lat zidentyfikowano wiele czynników biorących udział w regulacji tolerancji obwodowej. Poza limfocytami Treg, odpowiadającymi za regulację aktywacji, funkcji i proliferacji autoreaktywnych komórek, opisano receptor śmierci programowanej 1 (programmed death-1, PD-1) oraz cząsteczkę ludzkiego antygeny leukocytarnego G (HLA-G) należącą do grupy nieklasycznych cząsteczek MHC klasy I.

Najnowsze badania wykazały, że niektóre przewlekłe, nawracające i oporne na leczenie infekcje, będące czynnikiem wywołującym stan zapalny, utrzymujący się przez długi czas, łączą się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób nowotworowych. Przyjmuje się, że około 20% chorób nowotworowych u człowieka jest związanych z przewlekłymi infekcjami, ekspozycją na substancje drażniące lub chorobami o podłożu autoimmunologicznym. Najnowsze badania dowodzą również, że mikrośrodowisko, w którym toczy się przewlekły proces zapalny w dużej mierze jest podobne do mikrośrodowiska nowotworowego. W obydwu obserwuje się

zjawiska związane z rozwojem tolerancji immunologicznej oraz „wyczerpaniem” komórek układu immunologicznego. Przewlekły stan zapalny, jak i proces nowotworowy charakteryzują się pewnymi wspólnymi cechami, m.in. pojawieniem się nacieku komórek immunokompetentnych oraz wydzielaniem mediatorów reakcji zapalnych i immunologicznych [22].

W pracy przedstawiono charakterystykę głównych elementów układu immunologicznego, takich jak receptor PD-1, cząsteczka HLA-G oraz limfocyty Treg, których funkcje są związane z regulacją odpowiedzi immunologicznej i odgrywają istotną rolę rozwoju tolerancji immunologicznej w przebiegu przewlekłych procesów zapalnych, chorób nowotworowych i autoimmunologicznych.

Cząsteczka PD-1 i jej ligandy

Receptor PD-1, po raz pierwszy opisany przez Ishida i wsp. [51], ulega ekspresji przede wszystkim na aktywowanych limfocytach T oraz B, ale także na aktywowanych monocytach, komórkach dendrytycznych oraz komórkach NK i NKT [56]. Ekspresja cząsteczki PD-1, którą obserwuje się w wielu populacjach komórkowych, w przeciwieństwie do ograniczonego do limfocytów T występowania innych cząsteczek należących do nadrodziny cząsteczek CD28, sugeruje, że receptor PD-1 pełni główną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej [35]. Cząsteczka PD-1 jest glikoproteinowym receptorem o długości 288 aminokwasów, kodowanym przez gen *PDCD-1* umiejscowiony w chromosomie 2. W skład cząsteczki wchodzi domena transbłonowa, wewnątrzkomórkowa oraz immunoglobulinowa domena zewnątrzkomórkowa, zawierająca 21-33% identycznych sekwencji z cząsteczkami antygeny 4 limfocytów T cytotoksycznych (cytotoxic T cell antigen 4, CTLA-4), CD28 oraz indukowanego kostymulatora limfocytów T (inducible T-cell costimulator, ICOS) [119]. Za funkcje receptora odpowiada część cytoplazmatyczna, w której znajdują się dwa motywy tyrozynowe, będące miejscem wiązania fosfataz odpowiedzialnych za przekazywanie immunosupresyjnego sygnału. Są to: motyw hamujący immunoreceptora oparty na tyrozynie (immunoreceptor trosine-based inhibitory motif, ITIM) położony proksymalnie do błony komórkowej oraz dystalny przełączający motyw immunoreceptora oparty na tyrozynie (immunoreceptor tyrosine-based switch motif, ITSM). Badania *in vitro* z użyciem mysich limfocytów B wykazały, że to właśnie motyw ITSM jest niezbędny do hamującej funkcji PD-1 [56]. Ekspresja PD-1 jest indukowana przez szlak sygnałowy receptora TCR oraz receptora komórek B (B cell receptor, BCR) i jest podtrzymywana w czasie stymulacji antygenem [1,30]. Ponadto, niektóre cytokiny (IL-2, -7, -15 i -21), receptory TLR oraz interferony mogą stymulować ekspresję PD-1 na limfocytach T [58]. Ekspresja PD-1 na limfocytach B może być stymulowana obecnością przeciwciał anti-IgM, anti-CD40 oraz lipopolisacharydu (LPS) [115]. Istotną rolę w ekspresji PD-1 pełni też jądrowy czynnik c1 aktywowanych limfo-

cytów T (nuclear factor of activated T cells c1, NF-ATc1), którego zablokowanie obniża ekspresję, a mutacja w genie kodującym NF-ATc1 skutkuje całkowitym brakiem ekspresji PD-1 [83]. Zidentyfikowano dwa ligandy receptora PD-1 i cząsteczki programowanej śmierci 1 (programmed death ligand-1, PD-L1) również znany jako B7-H1 lub CD274 oraz ligand cząsteczki programowanej śmierci 2 (programmed death ligand-2, PD-L2) znany też jako B7-DC lub CD273. Oba ligandy to transbłonowe glikoproteiny typu I zbudowane z domen IgV- i IgC-podobnych [29]. Ekspresja PD-L1 może być indukowana na większości komórek ludzkiego organizmu [24]. Natomiast ekspresja PD-L2 jest ograniczona i dotyczy komórek dendrytycznych, monocytów oraz nielicznych tkanek niehematopoetycznych [68]. Cząsteczka PD-1 pełni funkcję regulatora odpowiedzi immunologicznej o właściwościach hamujących, odgrywa także ważną rolę w regulacji tolerancji centralnej, jak i obwodowej [81]. Receptor PD-1 hamuje reakcje autoimmunologiczne przez zablokowanie proliferacji i wytwarzania cytokin przez limfocyty T. Wyniki badań doświadczalnych potwierdziły związek między brakiem ekspresji PD-1 a występowaniem chorób autoimmunologicznych [93]. Występowanie zjawisk autoimmunizacyjnych zaobserwowano u myszy pozbawionych genu kodującego cząsteczkę PD-1. Regulacja tolerancji centralnej opiera się na interakcji PD-1 i PD-L1 w procesie pozytywnej selekcji limfocytów T. Ekspresja receptora PD-1 jest związana z hamowaniem selekcji pozytywnej limfocytów T podczas ich transformacji w grasicę z komórek CD4⁺/CD8⁻ w limfocyty CD4⁺/CD8⁺ [80]. Ekspresję PD-L1 w czasie procesu selekcji pozytywnej zaobserwowano na tymocytach i komórkach kory grasicy, natomiast PD-L2 na komórkach rdzenia [81]. Regulacja tolerancji obwodowej opiera się natomiast na zahamowaniu aktywacji, proliferacji i funkcji efektorowej autoreaktywnych limfocytów T [57]. PD-1 ulega też ekspresji na limfocytach Treg, co umożliwia pośrednie oddziaływanie na limfocyty efektorowe [5]. Cząsteczka PD-1 wpływa również na odpowiedź typu humoralnego. Badania wykazały obecność PD-1 oraz jego ligandów na limfocytach B w ośrodkach rozmnażania oraz na limfocytach B pamięci [41,110]. Ekspresja PD-1 nie ma znaczenia dla różnicowania tych komórek oraz początkowych etapów wytwarzania limfocytów B, odgrywa jednak ważną rolę w powstawaniu długożyjących komórek plazmatycznych oraz przeżyciu limfocytów B w ośrodkach rozmnażania.

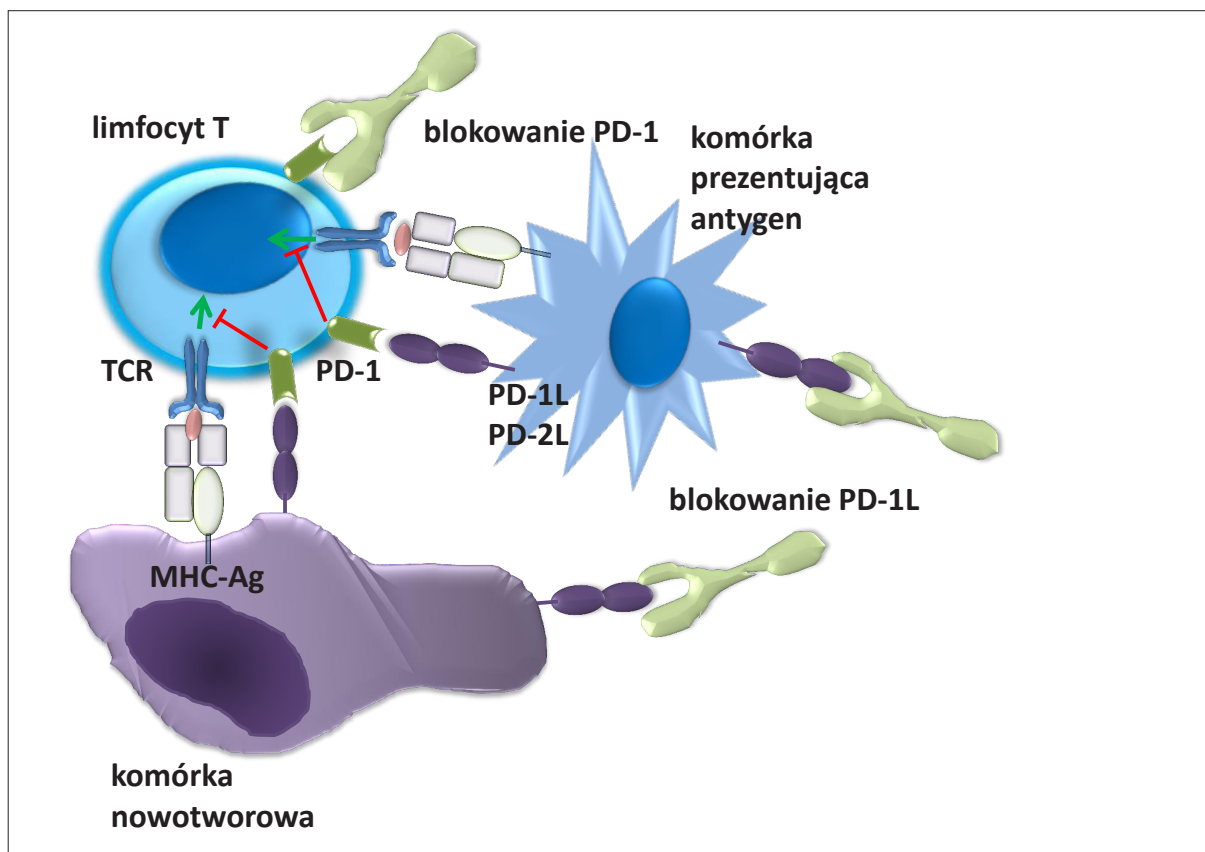
PD-1 w chorobach autoimmunologicznych

Choroby autoimmunologiczne to przewlekłe swoiste lub nieswoiste narządowo schorzenia obserwowane ze znaczącą częstotliwością w populacji ogólnej [19]. Mechanizmy powstawania tych chorób są poznane częściowo, wiadomo jednak, że ważną rolę odgrywają w nich predyspozycje genetyczne i czynniki immunologiczne. Zaburzona ekspresja receptora PD-1 została opisana w wielu chorobach o podłożu autoimmunologicznym, chociaż dane różnych autorów są rozbieżne [55]. Jiao i wsp. [52] wykazali podwyższoną ekspresję PD-1 u cho-

rych na toczeń rumieniowaty układowy (systemic lupus erythematosus, SLE) zarówno na poziomie mRNA, jak i białkowym. Natomiast Bertsias i wsp. [9] oraz Kristjansdottir i wsp. [61] wykazali niższą ekspresję PD-1 u chorych na SLE w porównaniu z osobami zdrowymi. Badania genomu człowieka wykazały, że występowanie polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism, SNP) w genie kodującym receptor PD-1 jest związane z częstszym występowaniem niektórych chorób autoimmunologicznych [86]. Wykazano, że u osób, u których stwierdzono występowanie SNP PD-1.3 znacznie częściej dochodziło do rozwoju SLE oraz nefropatii toczniowej [91,92]. Ponadto u tych chorych obserwowano obniżoną ekspresję PD-1 w porównaniu z osobami zdrowymi, która korelowała z obecnością SNP PD-1.3A. Zaobserwowano również, że u chorych z obniżoną ekspresją PD-1 zmniejsza się odsetek i upośledza funkcja limfocytów Treg, co może się wiązać z aktywacją autoreaktywnych limfocytów T i prowadzić do zaostrzenia objawów choroby [9,61]. W przebiegu SLE zaobserwowano także znacznie wyższą ekspresję PD-1L. U chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (rheumatoid arthritis, RA) oraz zespół Sjögrena ekspresja PD-1 jest wyższa niż u osób zdrowych [55]. W RA wykazano wysoką ekspresję PD-1 na limfocytach izolowanych z płynu stawowego, ale ścieżka przekazywania sygnału przez PD-1/PD-1L jest u tych chorych zaburzona, co objawia się nadmierną aktywacją limfocytów błony maziowej. Zahamowanie szlaku jest spowodowane dużym stężeniem rozpuszczalnego receptora PD-1 i jego ligandu PD-1L w surowicy krwi chorych na RA. Badania dowodzą, że rozpuszczalne postaci PD-1 i PD-1L hamują funkcję związanych z błoną komórkową cząsteczek PD-1 i PD-1L. Obecność rozpuszczalnego receptora PD-1 jest związana z występowaniem wariantu obróbkowego PD-1ex3, który jest charakterystyczny u chorych na RA [9,86].

Rola PD-1 w przewlekłych infekcjach i chorobach nowotworowych

Przewlekłe infekcje wirusowe i choroby nowotworowe są związane m.in. z długotrwałą stymulacją układu odpornościowego antygenami wirusowymi i nowotworowymi [6,89]. Prowadzi to do osłabienia funkcji efektorowych limfocytów T, które tracą zdolność zabijania komórek nowotworowych i zarażonych wirusami. Ponadto, obserwuje się wiele innych zaburzeń uniemożliwiających limfocytom T skuteczną walkę z chorobą, takich jak zaburzenia ekspresji i funkcji czynników transkrypcyjnych, zmniejszona liczba wydzielanych cytokin czy zaburzona odpowiedź limfocytów T pamięci [67,73,109]. Długotrwałe utrzymująca się stymulacja antygenowa powoduje tzw. „wyczerpanie” limfocytów T efektorowych. Jedną z najważniejszych cech „wyczerpanych” czynnościowo limfocytów T jest zwiększona ekspresja cząsteczek o właściwościach hamujących np. PD-1 czy CTLA-4. Pierwsze doniesienia dotyczące zjawiska „wyczerpania” komórek układu immunologicznego podczas przewlekłych infekcji wirusowych dotyczyły modelu mysiego [31,118]. Późniejsze badania profilu



Ryc. 1. Oddziaływanie cząsteczki PD-1. Cząsteczka PD-1 (programmed death-1) jest receptorem o właściwościach hamujących, który wykazuje ekspresję na aktywowanych limfocytach T i B. Ligandy dla PD-1 ulegają ekspresji na wielu komórkach w tym na komórkach prezentujących antygen oraz na komórkach nowotworowych. Sygnał hamujący jest przekazywany przez ligandy PD-1L i PD-2L i powoduje zahamowanie funkcji efektorowych komórek. Zwiększona ekspresja ligandów PD-1 jest obserwowana w wielu chorobach nowotworowych oraz w przewlekłych infekcjach. Zablockowanie sygnału na drodze PD-1/PD-1L przez przeciwciała monoklonalne jest jedną z nowych, obiecujących form terapii niektórych chorób nowotworowych

ekspresji genów wykazały, że profil ekspresji genów „wyczerpanych” limfocytów T w przewlekłych infekcjach wirusowych jest zbliżony do obserwowanego w chorobach nowotworowych [102]. Podwyższoną ekspresją PD-1 i osłabieniem funkcji efektorowych charakteryzują się głównie limfocyty T znajdujące się w nowotworowo zmienionej tkance. W wielu typach nowotworów zaobserwowano także podwyższoną ekspresję PD-1L, która w części z nich silnie korelowała z niekorzystnym rokowaniem (tabela 1).

Ekspresja PD-1 oraz jego ligandów PD-1L i PD-2L była także badana w nowotworach układu krwiotwórczego. Podwyższoną ekspresję PD-1 wykazano w wielu nowotworowych chorobach hematologicznych m.in. w chłoniaku Hogdkina (Hogdkin’s lymphoma, HL), w angioimmunoblastycznym chłoniaku T komórkowym, w PBL oraz części przypadków chłoniaka grudkowego (follicular lymphoma, FL) [6,25,43,117]. Ponadto na komórkach nowotworowych PBL i chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) wykazano także ekspresję PD-1L, który jest niezbędny do skutecznego przekazania sygnału hamującego do komórki docelowej. Cząsteczka PD-1 sprzyja

ucieczce komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego jednak wśród nowotworów hematologicznych tylko w przypadku FL zostało to udowodnione [76].

Wyniki niedawno opublikowanych badań dowodzą, że zahamowanie szlaku przekazywania sygnału przez PD-1/PD-1L prowadzi przynajmniej do częściowego odzyskania funkcji efektorowych przez limfocyty T, co znalazło zastosowanie w leczeniu niektórych chorób nowotworowych. Dotychczas przeprowadzono ponad 200 badań klinicznych, w których badano skuteczność dziewięciu typów przeciwciał anty-PD-1 w 20 różnych chorobach nowotworowych [48]. Obecnie dwa preparaty, Nivolumab i Pembrolizumab, zostały dopuszczone do leczenia czerniaka i niedrobnokomórkowego raka płuca [10,96]. W początkowych fazach badań klinicznych testowane są przeciwciała anty-PD-1L [48].

EKSPRESJA I STRUKTURA HLA-G

Fizjologiczna rola HLA-G po raz pierwszy została opisana przez Rouas-Freiss i wsp. [97] w 1997 r. na komórkach trofoblastu, gdzie odpowiada ono za ochronę obcego antygenowo płodu przed zniszczeniem przez

Tabela 1. Charakterystyka ekspresji PD-1 i PD-1L w wybranych chorobach nowotworowych

Rodzaj nowotworu	Charakterystyka ekspresji PD-1 lub PD-1L	Piśmiennictwo
Rak nerki	Wysoka ekspresja PD-1 na limfocytach T oraz PD-1L na komórkach nowotworowych	[108]
Chłoniak nie-Hodgkina	Ekspresja PD-1 na limfocytach CD4 ⁺ CD25 ⁻ . W chłoniaku DLBCL zwiększona ekspresja PD-1 i PD-1L łączy się z krótszym przeżyciem	[117] [59]
Chłoniak/białaczka T komórkowa	Ekspresja PD-1 związana z „wyczerpaniem” czynnościowym limfocytów T, częściowo odwracalnym po zablokowaniu szlaku sygnałowego PD-1/PD1L	[101]
Przewlekła białaczka limfocytowa	Ekspresja PD-1 obserwowana na limfocytach T, ale również na komórkach nowotworowych. Ekspresja PD-1 i PD-1L na limfocytach nowotworowych	[114] [44] [43]
Szpiczak plazmocytowy	Ekspresja PD-1L na komórkach nowotworowych hamuje funkcje limfocytów T <i>in vitro</i>	[73]
Czerniak	Wysoka ekspresja PD-1L na komórkach nowotworowych u wszystkich badanych chorych	[24]
Rak piersi	Wysoka ekspresja PD-1L na komórkach nowotworowych, która koreluje z wielkością guza, stopniem zróżnicowania oraz ekspresją HER2	[34]
Rak płuc	Ekspresja PD-1L na komórkach nowotworowych u niemal wszystkich chorych	[60]

układ immunologiczny matki. Cząsteczki HLA-G ulegają ekspresji na powierzchni lub są wydzielane przez kilka typów komórek, takich jak limfocyty T, komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells, APC) komórki dendrytyczne DC-10 różnicujące się pod wpływem stymulacji IL-10 czy monocyty. Ekspresja HLA-G w warunkach fizjologicznych ma ograniczony charakter, a jego występowanie potwierdzono poza trofoblastem na komórkach nabłonkowych naczyń płodu, komórkach rogówki, grasicy czy trzustki [12,65]. Obecność HLA-G na tych komórkach jest związana z hamowaniem funkcji efektorowych komórek immunokompetentnych i rozwojem tolerancji obwodowej [4].

HLA-G jest glikoproteiną zbudowaną z dwóch łańcuchów, ciężkiego i lekkiego, regionu transbłonowego i regionu wewnątrzkomórkowego. HLA-G należy do nieklasycznych cząsteczek MHC klasy I, do których można zaliczyć również HLA-E i HLA-F. W przeciwieństwie do klasycznych cząsteczek MHC, HLA-G jest kodowane jedynie przez 28 alleli charakteryzuje się więc niskim stopniem polimorfizmu, który ogranicza się do 7 różnych izoform białkowych [11,13,50] (ryc.2). HLA-G może występować w postaci związanej z błoną (HLA-G1, -G2, -G3, -G4) lub w postaci rozpuszczalnych antygenów (soluble HLA-G – sHLA-G) (HLA-G5, -G6, -G7). Ponadto cząsteczka HLA-G1 może ulegać proteolizie i być złuszczana z powierzchni komórki do płynów ustrojowych [90]. Wykazano, że niska ekspresja HLA-G1 i HLA-G5 jest czynnikiem ryzyka nawracających poronień, a niska ekspresja rozpuszczalnej izoformy HLA-G2 wiąże się z ryzykiem niepo-

wodzenia implantacji u kobiet poddanych procedurom zapłodnienia *in vitro* [63]. Udowodniono, że wiele czynników mikrośrodowiska może zwiększać ekspresję HLA-G, można do nich zaliczyć:

- stres komórkowy,
- niedożywienie,
- niedotlenienie,
- hormony, takie jak progesteron,
- cytokiny: GM-CSF, IL-10, TNF, TGF-β, interferony [14].

Cząsteczka HLA-G wykazuje właściwości immunosupresyjne wpływając hamująco na wszystkie etapy odpowiedzi immunologicznej: różnicowanie, proliferację, cytolizę, wydzielanie cytokin i immunoglobulin. Ponadto, HLA-G może wpływać na proces prezentacji antygenów limfocytom T przez hamowanie aktywności i różnicowania komórek dendrytycznych, oddziałuje także na limfocyty B i T podczas fazy efektorowej odpowiedzi immunologicznej oraz na neutrofile hamując proces fagocytozy z ich udziałem [2]. HLA-G prowadzi także do zahamowania cytolizy, proliferacji oraz migracji komórek NK [13]. HLA-G oddziałuje na wszystkie komórki zawierające receptory dla tej cząsteczki, czyli ILT-2, ILT-4 lub KIR2DL4. Cząsteczka sHLA-G wiążąc się z cząsteczką CD8 powoduje apoptozę komórek NK oraz limfocytów T [18] (ryc.3). Hamowanie funkcji tych komórek może zachodzić również w wyniku trogocytozy, zjawiska polegającego na przeniesieniu fragmentu błony komórkowej zawierającego cząsteczki HLA-G na powierzchnię innej komórki np. komórki NK lub limfo-

Tabela 2. Charakterystyka ekspresji HLA-G w wybranych chorobach nowotworowych

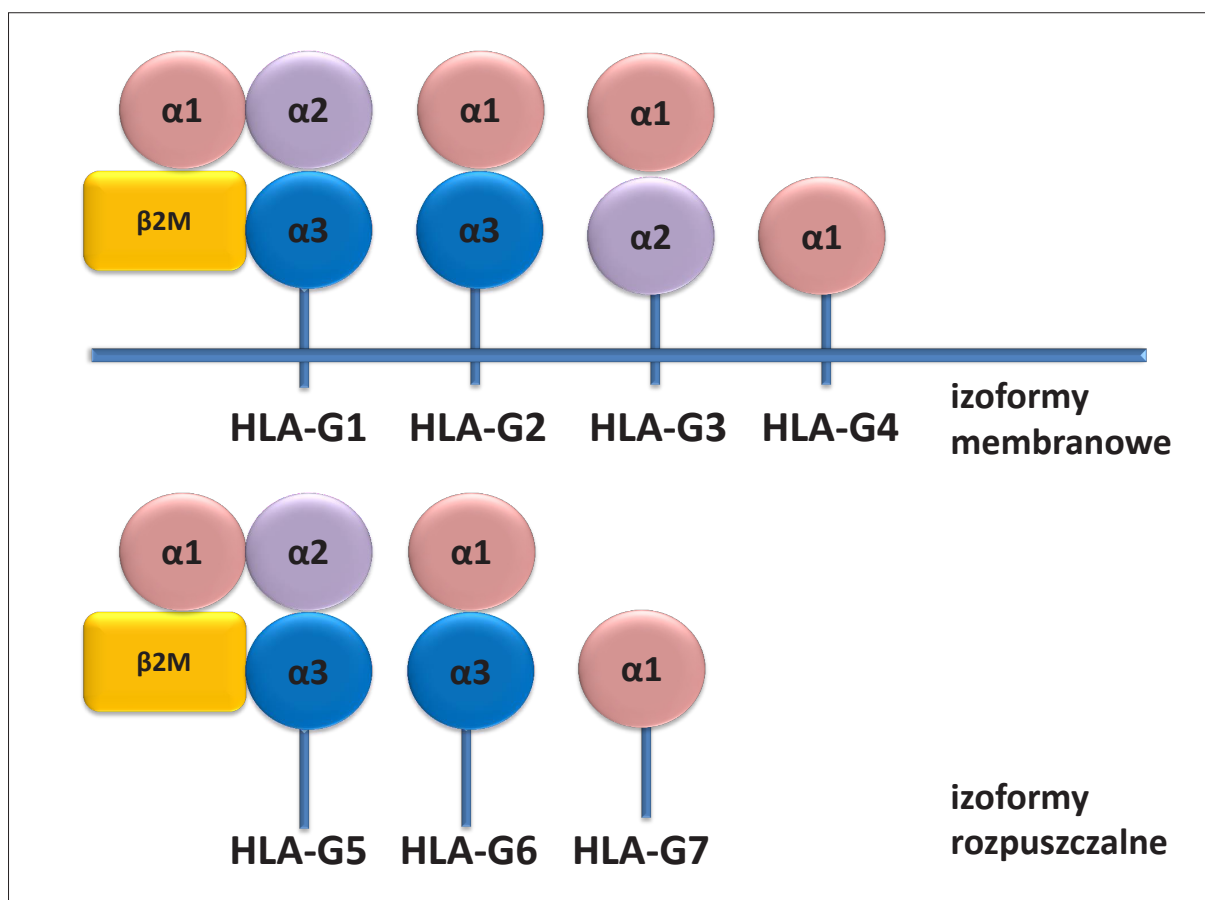
Rodzaj nowotworu	Charakterystyka ekspresji HLA-G	Piśmiennictwo
Rak żołądka	Podwyższone stężenie sHLA-G jako biomarker raka żołądka	[88]
Rak płuc	Podwyższone stężenie sHLA-G, wzrastające wraz ze stopniem zaawansowania choroby	[70]
Rak piersi	Wysoka ekspresja HLA-G na limfocytach T związana ze zwiększonym stężeniem IL-10 oraz zmniejszonym wydzielaniem IFN γ .	[87]
	Ekspresja HLA-G związana z wielkością guza, stopniem zajęcia węzłów chłonnych i stadiem zaawansowania choroby	[49]
Rak jelita grubego	Ponad 70% komórek nowotworowych wykazuje ekspresję HLA-G i koreluje ona z krótszym całkowitym przeżyciem chorych	[46]
Rak nerki	Wysoka ekspresja HLA-G nie ma związku z rokowaniem dla chorego	[66]
Rak wątroby	Wysoka białkowa ekspresja HLA-G silnie korelująca ze stadiem zaawansowania choroby	[70]
Rak jajnika	Wysoka ekspresja HLA-G jest związana z niekorzystnym rokowaniem	[15]
Glejak	Chorzy z niską białkową ekspresją HLA-G przeżywali średnio 7 miesięcy dłużej od chorych z wysoką ekspresją HLA-G	[107]
Ostre białaczki szpikowe	Ekspresja HLA-G na komórkach dendrytycznych oraz CD4+ limfocytach.	[74]
	Ekspresja HLA-G na komórkach blastycznych nie ma związku z rokowaniem dla chorego	[45]
Przewlekła białaczka limfocytowa	Wysoka ekspresja na poziomie mRNA, białkowym i sHLA-G	[36] [113]
Szpiczak plazmocytowy	Wysokie stężenie sHLA-G jest bez związku z rokowaniem dla chorego.	[64]
	Wysokie stężenie sHLA-G, które koreluje ze stężeniem kreatyniny	[111]

cytu T [16]. Częsteczką HLA-G powoduje także indukcję tolerogennych komórek dendrytycznych, a w ostatnich latach opisano także populację limfocytów Treg indukowanych HLA-G [12].

Rola HLA-G w chorobach nowotworowych

Podwyższoną ekspresję HLA-G zarówno w postaci związanej z błoną komórkową, jak i rozpuszczalnej zaobserwowano w wielu chorobach w tym nowotworowych, co może świadczyć, że jest to element strategii komórek nowotworowych w ucieczce spod nadzoru immunologicznego [15,36]. Podwyższoną ekspresję HLA-G wykazano również w przebiegu chorób infekcyjnych o podłożu bakteryjnym, wirusowym i pasożytniczym [2,94]. Pierwsze doniesienia dotyczące ekspresji HLA-G w chorobach nowotworowych dotyczyły czerniaka, obecnie lista nowotworów, w których wykazano podwyższoną ekspresję HLA-G jest znacznie dłuższa (tabela 2). Badania wykazały, że w guzach litych podwyższona

ekspresja HLA-G w postaci związanej z błoną komórkową dotyczy jedynie obszaru, na którym rozwija się proces nowotworowy, co potwierdzają wyniki barwień immunohistochemicznych. W nowotworach litych poziom ekspresji HLA-G zwykle jest związany ze stopniem zaawansowania choroby. Wyższe stężenia obserwuje się w bardziej zaawansowanych stadiach choroby i wiąże się to zazwyczaj z gorszym rokowaniem [15]. W przypadku hematologicznych chorób nowotworowych, rola HLA-G jest niejednoznaczna. Zaobserwowane wysokie stężenia sHLA-G u chorych na szpiczaka plazmocytozowego, chłoniaki niehodgkinowskie czy przewlekłą białaczkę limfocytową (PBL) nie korelowały ze stopniem zaawansowania choroby czy rokowaniem. Obecnie wiadomo, że jest to związane z brakiem receptorów HLA-G na komórkach guzów litych, przez co cząsteczki HLA-G występujące w nadmiarze w przebiegu choroby nowotworowej są zdolne do hamowania komórek immunokompetentnych, a nie komórek nowotworowych, ułatwiając tym samym progresję choroby nowotworowej [64,98].



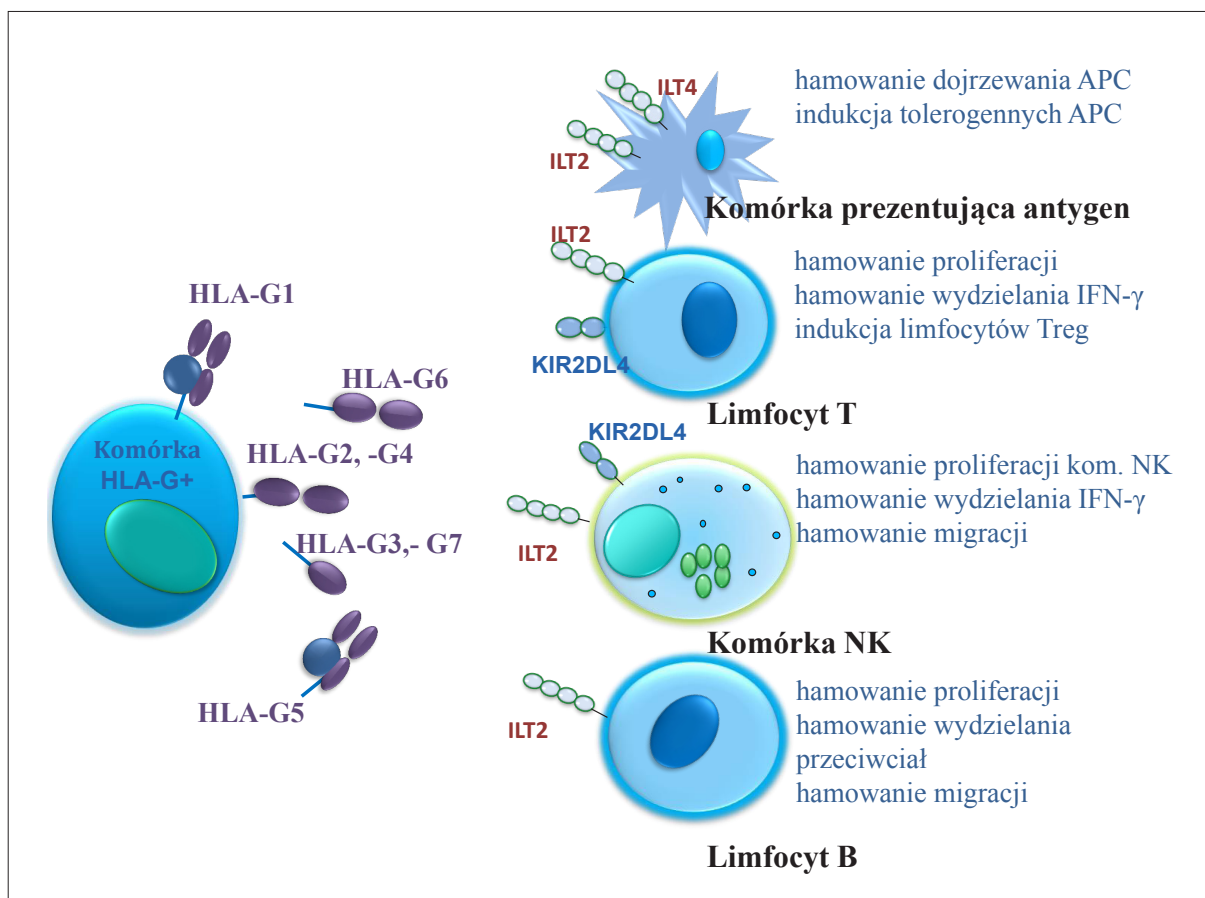
Ryc. 2. Izofory HLA-G. Cząsteczka HLA-G należąca do nieklasycznych cząsteczek MHC klasy I charakteryzuje się niskim polimorfizmem i występuje w postaci siedmiu izoform. Cząsteczki HLA-G1 i –G5 są zbudowane z łańcucha ciężkiego α (zawierającego 3 domeny $\alpha 1$, $\alpha 2$ i $\alpha 3$) oraz cząsteczki β -2-mikroglobuliny (B-2-M). Pozostałe izofory GLA-G zbudowane są z wybranych domen łańcucha ciężkiego α . Do izoform związanych z błoną komórkową zaliczamy: HLA-G1, -G2, -G3, -G4, natomiast do izoform rozpuszczalnych: HLA-G5, -G6, -G7. Ponadto cząsteczka HLA-G1 może ulegać proteolizie i być złączana z powierzchnią komórki do płynów ustrojowych

Odmienne role HLA-G w nowotworach litych i hematologicznych może wynikać z charakterystyki komórek nowotworowych, które w nowotworach hematologicznych wywodzą się z komórek układu odpornościowego i podobnie jak zdrowe komórki wykazują ekspresję receptorów cząsteczek HLA-G [113]. Obecność receptorów ILT2 i ILT4 na komórkach nowotworowych w nowotworach hematologicznych pozwala wnioskować, że HLA-G może hamować również proliferację komórek kłonu nowotworowego [98]. Wstępne wyniki badań przeprowadzonych na liniach komórkowych szpiczaka plazmocytozowego wskazują, że cząsteczki HLA-G hamują aktywność komórek układu immunologicznego, ale również są zdolne do hamowania aktywności nowotworowych plazmocytozów [78]. Rola HLA-G w przebiegu nowotworów hematologicznych polega przede wszystkim na:

- hamowaniu aktywności cytotoxicznej komórek NK przez HLA-G+ komórki nowotworowe w szpiczaku plazmocytozowym i PBL,
- antyproliferacyjnym wpływie HLA-G na komórki nowotworowe, które wykazują ekspresję receptora ILT2 [15].

HLA-G w chorobach autoimmunologicznych i infekcyjnych

Cząsteczka HLA-G odgrywa także istotną rolę w chorobach rozwijających się na podłożu autoimmunologicznym i infekcyjnym. Jej funkcja jest związana z regulacją odpowiedzi immunologicznej w chorobach autoimmunologicznych, takich jak choroby przewodu pokarmowego, skóry, choroby reumatyczne, neurologiczne, a także w infekcjach wirusowych, bakteryjnych i pasożytniczych osłabiając odpowiedź immunologiczną na antygeny drobnoustrojów patogennych [94]. Rizzo i wsp. [95] wykazali, że stężenie sHLA-G u chorych na toczeń rumieniowaty układowy jest niższe w porównaniu do osób zdrowych. Odmienne wyniki opublikowali Chen i wsp. [17], którzy wykazali u chorych na toczeń podwyższone stężenia sHLA-G w porównaniu z grupą kontrolną. W chorobach skóry rozwijających się na podłożu immunologicznym ekspresja HLA-G jest podwyższona w porównaniu do osób zdrowych. Podwyższona ekspresja HLA-G na makrofagach u tych chorych może być związana z hamowaniem funkcji autoreaktywnych limfocytów T aktywowanych przez cytokiny i chemokiny wydzielane przez keratynocyty.



Ryc. 3. Wpływ HLA-G na komórki układu immunologicznego. HLA-G oddziałuje na wszystkie komórki posiadające receptory dla tej cząsteczki czyli ILT-2, ILT-4 lub KIR2DL4. Ekspresja tych receptorów jest powszechna na komórkach układu immunologicznego przez co HLA-G wywiera istotny hamujący wpływ na komórki układu immunologicznego. Zwiększona ekspresja HLA-G towarzyszy wielu chorobom nowotworowym i przez hamowanie proliferacji, dojrzewania i migracji komórek prezentujących antygen, komórek NK, limfocytów T i B sprzyja wyłamywaniu się komórek nowotworowych spod nadzoru układu immunologicznego

HLA-G może działać protekcyjnie również na keratynocyty przez hamowanie cytotoksyczności limfocytów T i indukcję limfocytów Treg [94].

LIMFOCYTY T REGULATOROWE

Limfocyty Treg odgrywają główną rolę w utrzymaniu homeostazy immunologicznej, zapobiegają rozwojowi chorób autoimmunologicznych, wytwarzają stan tolerancji na antygeny mikroorganizmów żyjących w symbiozie z ustrojem człowieka. Zarówno zmiany ilościowe, jak i jakościowe dotyczące tej populacji komórek obserwuje się w chorobach autoimmunologicznych, infekcyjnych, nowotworowych, niedoborach odporności, a także u chorych po transplantacjach [53,77,112]. Limfocyty Treg mogą nie tylko hamować funkcje komórek efektorowych, ale również indukować powstawanie innych komórek o właściwościach regulatorowych. Do niedawna sądzono, że limfocyty Treg pełnią jedynie funkcje hamujące, co nie było zgodne z ich nazewnictwem.

Limfocyty Treg tworzą niejednorodną fenotypowo grupę komórek odpowiedzialnych za regulację funk-

cji układu odpornościowego. Badania przeprowadzone w latach 90 ub.w. przez Sakaguchi i wsp. [99] wykazały, że limfocyty Treg są jedną z subpopulacji limfocytów T CD4⁺ wykazujących wysoką ekspresję markera CD25. Antygen CD25 nie jest markerem obecnym wyłącznie na limfocytach Treg, gdyż jego ekspresję obserwuje się także na aktywowanych efektorowych limfocytach T. Późniejsze badania dotyczące czynnika transkrypcyjnego FOXP3 (forkhead box P3) istotnego w funkcjonowaniu limfocytów Treg doprowadziły do uznania go za najbardziej swoisty marker tych limfocytów [100]. Najlepiej opisaną subpopulacją limfocytów Treg są komórki o fenotypie CD4⁺CD25^{hi}FOXP3⁺, określane jako naturalnie występujące limfocyty Treg. Komórki te pochodzą z grasicy i stanowią 5-10% limfocytów CD4⁺ krwi obwodowej oraz 1-2% całej populacji obwodowych limfocytów T [28]. Do ich markerów należą również m.in. CTLA-4 i czynnik transkrypcyjny GITR, ale nie są markerami swoistymi jak FOXP3 [26]. Do innych subpopulacji limfocytów regulatorowych należą Tr1, Th3 i CD4⁺CD25⁻ określane jako tzw. indukowane limfocyty Treg, które nabywają zdolności supresorowych również na obwodzie po kontakcie z antygenem. Ponadto, obec-

Tabela 3. Znaczenie limfocytów Treg w chorobach nowotworowych

Rodzaj nowotworu	Znaczenie limfocytów Treg	Piśmiennictwo
Przewlekła białaczka limfocytowa	Podwyższony odsetek limfocytów Treg, zwiększający się ze stopniem zaawansowania choroby; brak zależności pomiędzy odsetkiem limfocytów Treg a niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi jak ZAP-70 i CD38	[38]
Chłoniaki (FL, DLBCL-podobny, HL)	Podwyższony odsetek limfocytów Treg koreluje z dłuższym przeżyciem chorych	[105]
Rak płuc	Podwyższony odsetek limfocytów Treg koreluje z krótszym czasem przeżycia i wcześniejszymi nawrotami choroby	[103]
Czerniak	Zwiększone odsetki limfocytów Treg korelują z niekorzystnym rokowaniem.	[75]
Rak wątroby	Podwyższony odsetek Treg koreluje z krótszym czasem przeżycia	[32]
Rak piersi	Zwiększony odsetek limfocytów Treg koreluje z krótszym; całkowitym przeżyciem chorych Ekspresja FOXP3 jest związana z lepszym rokowaniem u chorych ekspresją HER2	[116] [62]

ność komórek CD25+ o właściwościach regulatorowych wykazano także w populacji limfocytów T CD8⁺ [20].

Główną funkcją limfocytów Treg jest hamowanie odpowiedzi immunologicznej, zwłaszcza przeciwko własnym antygenom oraz utrzymanie obwodowej tolerancji. Limfocyty Treg odpowiadają za homeostazę układu odpornościowego zapobiegając patologicznej reakcji przeciw patogenom, indukując tolerancję wobec przeszczepów czy tolerancję organizmu matki na tkanki płodu podczas ciąży [28]. Z wiekiem zwiększa się liczba limfocytów Treg, co osłabia odpowiedź immunologiczną i sprzyja wytworzeniu antygenowoswoistej tolerancji ułatwiającej rozwój chorób nowotworowych [42]. Mechanizm działania limfocytów Treg jest złożony i niedokładnie jeszcze poznany. Aktywność supresyjna tych komórek wynika m.in. z hamowania proliferacji dziewiczych limfocytów T, jak również z hamowania wydzielania IL-2 przez limfocyty efektorowe. Ponadto, limfocyty Treg mogą hamować proliferację limfocytów B oraz wytwarzanie i zmianę klas wytwarzanych przeciwciał [69]. Limfocyty Tr1 oraz Th3 należące do indukowalnych limfocytów Treg wydzielają cytokiny o właściwościach immunosupresyjnych. Limfocyty Tr1 wydzielają duże ilości IL-10 oraz niewielkie TGF- β , natomiast Th3 działa głównie przez TGF- β [21].

Rola limfocytów Treg w przewlekłych infekcjach i chorobach nowotworowych

Podwyższony odsetek limfocytów Treg jest związany z rozwojem tolerancji obwodowej zarówno wobec antygenów własnych, obcych jak i nowotworowych. Podwyższone odsetki limfocytów Treg opisano w guzach litych, takich jak: nowotwór jelita grubego, płuc czy

piersi oraz w nowotworach hematologicznych w tym w szpiczaku plazmocytowym czy PBL jednak nie w każdym przypadku wiązały się z gorszym rokowaniem (tabela 3).

Funkcja limfocytów Treg w rozwoju chorób nowotworowych jest związana z ułatwieniem komórkom nowotworowym wyłamania się spod nadzoru immunologicznego [27]. Badania przeprowadzone przez nasz zespół wykazały, że podwyższone odsetki limfocytów Treg mogą się łączyć z gorszym rokowaniem. U chorych na szpiczaka plazmocytowego badania wykazały zależność między zwiększonym odsetkiem Treg a krótszym całkowitym przeżyciem chorych [37]. Niedawno opisano zwiększony odsetek limfocytów Treg w chorobach zapalnych (w miejscu toczącego się procesu zapalnego). Limfocyty Treg pojawiają się w mikrośrodowisku zapalnym w związku z pobudzeniem mechanizmów kompensacyjnych. Podczas reakcji zapalnej wydzielają się mediatory zapalenia i aktywacji komórek immunokompetentnych, a naciekające to miejsce limfocyty Treg dążą do przywrócenia homeostazy [82]. Cytokiny wydzielane przez komórki zrębu i inne komórki z wyjątkiem limfocytów T wpływają na funkcję limfocytów Treg. Przykładem może być IL-33, która jest wydzielana przez komórki nabłonkowe i śródbłonkowe oraz nekrotyczne stymuluje proliferację limfocytów Treg i wydaje się główną ścieżką aktywacji tych komórek w stanach zapalnych. Pobudzone limfocyty Treg charakteryzują się wysoką ekspresją receptora IL-33. Ponadto IL-33 zwiększa ekspresję cząsteczek, takich jak PD-1 i CTLA-4, które również mają właściwości supresyjne [100]. Badania przeprowadzone na modelach mysich wykazały przewrotnie, że limfocyty Treg mogą hamować rozwój nowotworów powstających na podłożu przewlekłych chorób zapalnych [33].

Występujące w śluzówce jelit limfocyty Treg, współpracując z komórkami efektorowymi, hamują rozwój stanów zapalnych jelit. W badaniach na modelu mysim wykazano, że usunięcie limfocytów Treg z tkanki jelit zwiększa wydzielanie IFN- γ oraz IL-17, co nie jest zaskakujące, zwłaszcza w jelicie ponieważ obserwuje się tam stałą ekspozycję na antygeny drobnoustrojów komensalnych, czyli żyjących w symbiozie z organizmem gospodarza. Po wprowadzeniu limfocytów Treg do jelita obserwowano zahamowanie reakcji zapalnej. Zmniejszony odsetek limfocytów Treg sprzyja rozwojowi stanów zapalnych jelit, które są główną przyczyną rozwoju raka jelita grubego [33].

Limfocyty Treg w chorobach autoimmunologicznych

Choroby rozwijające się na podłożu zjawisk autoimmunizacyjnych są coraz większym problemem klinicznym. Podstawowa rola limfocytów Treg w utrzymaniu centralnej tolerancji immunologicznej powoduje, że komórki te odgrywają zasadniczą rolę w patogenezie chorób o podłożu autoimmunologicznym. Chorobą o podłożu autoimmunologicznym bezpośrednio związaną z upośledzeniem wytwarzania limfocytów Treg jest sprzężony z chromosomem X zespół dysregulacji immunologicznej, poliendokrynopatii i enteropatii (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome, IPEX), w którym skutek mutacji w genie *FOXP3* obserwuje się brak limfocytów Treg [79]. Obniżony odsetek

i nieprawidłowa funkcja limfocytów Treg w porównaniu z osobami zdrowymi zaobserwowano także u chorych na RA [40]. Podobnie w przypadku toczenia rumieniowatego układowego, odsetki limfocytów Treg były niższe u chorych, u których obserwowano objawy choroby niż w grupie osób zdrowych [85].

PODSUMOWANIE

Właściwości hamujące cząsteczek PD-1 oraz HLA-G, a także limfocytów Treg, których nadekspresję i zwiększone odsetki obserwuje się w wielu nawracających infekcjach czy chorobach nowotworowych, powodują osłabienie funkcji efektorowych układu odpornościowego sprzyjając rozwojowi i progresji choroby. Przeprowadzono wiele badań klinicznych dotyczących wykorzystania przeciwciał monoklonalnych anti-HLA-G, anti-PD-1 oraz terapii polegających na hamowaniu funkcji limfocytów Treg. Wyniki wielu z tych badań są obiecujące, a pierwsze preparaty zostały już dopuszczone do zastosowania w leczeniu. Tego typu leczenie pozwala, przynajmniej na częściowe, odzyskanie funkcji efektorowych układu immunologicznego, może jednak doprowadzić do rozwoju zjawisk autoimmunologicznych. Wydaje się zasadne, aby leczenie przez blokowanie cząsteczek i komórek o właściwościach supresyjnych łączyć z innymi postaciami terapii stymulującymi swoiście układ odporności, w tym immunoterapii.

PIŚMIENICTWO

- [1] Agata Y., Kawasaki A., Nishimura H., Ishida Y., Tsubata T., Yagita H., Honjo T.: Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int. Immunol.*, 1996; 8: 765-772
- [2] Amiot L., Vu N., Samson M.: Immunomodulatory properties of HLA-G in infectious diseases. *J. Immunol. Res.*, 2014; 2014: 1-14
- [3] Amodio G., Comi M., Tomasoni D., Gianolini M.E., Rizzo R., LeMaoult J., Roncarolo M.G., Gregori S.: HLA-G expression levels influence the tolerogenic activity of human DC-10. *Haematologica*, 2015; 100: 548-557
- [4] Amodio G., Sales de Albuquerque R., Gregori S.: New insights into HLA-G mediated tolerance. *Tissue Antig.*, 2014; 84: 255-263
- [5] Baecher-Allan C., Brown J.A., Freeman G.J., Hafler D.A.: CD4⁺CD25^{high} regulatory cells in human peripheral blood. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1245-1253
- [6] Balkhi M.Y., Ma Q., Ahmad S., Junghans R.P.: T cell exhaustion and Interleukin 2 downregulation. *Cytokine*, 2015; 71: 339-347
- [7] Barth S.D., Schulze J.J., Kühn T., Raschke E., Hüsing A., Johnson T., Kaaks R., Olek S.: Treg-mediated immune tolerance and the risk of solid cancers: findings from EPIC-Heidelberg. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2015; 107: djv224
- [8] Bennett C.L., Christie J., Ramsdell F., Brunkow M.E., Ferguson P.J., Whitesell L., Kelly T.E., Saulsbury F.T., Chance P.F., Ochs H.D.: The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of *FOXP3*. *Nat. Genet.*, 2001; 27: 20-21
- [9] Bertias G.K., Nakou M., Choulaki C., Raptopoulou A., Papadimitrakaki E., Goulielmos G., Kritikos H., Sidiropoulos P., Tzardi M., Kardassis D., Mamalaki C., Boumpas D.T.: Genetic, immunologic, and immunohistochemical analysis of the programmed death 1/programmed death ligand 1 pathway in human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 207-218
- [10] Borghaei H., Paz-Ares L., Horn L., Spigel D.R., Steins M., Ready N.E., Chow L.Q., Vokes E.E., Felip E., Holgado E., Barlesi F., Kohlhäuf M., Arrieta O., Burgio M.A., Fayette J. i wsp.: Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 373: 1627-1639
- [11] Bortolotti D., Gentili V., Rotola A., Cassai E., Rizzo R., Di Luca D.: Impact of HLA-G analysis in prevention, diagnosis and treatment of pathological conditions. *World J. Methodol.*, 2014; 4: 11-25
- [12] Carosella E.D., Gregori S., LeMaoult J.: The tolerogenic interplay(s) among HLA-G, myeloid APCs, and regulatory cells. *Blood*, 2011; 118: 6499-6505
- [13] Carosella E.D., Moreau P., LeMaoult J., LeDiscorde M., Dausset J., Rouas-Freiss N.: HLA-G molecules: from maternal-fetal tolerance to tissue acceptance. *Adv. Immunol.*, 2003; 81: 199-252
- [14] Carosella E.D., Moreau P., LeMaoult J., Rouas-Freiss N.: HLA-G: from biology to clinical benefits. *Trends Immunol.*, 2008; 29: 125-132
- [15] Carosella E.D., Rouas-Freiss N., Roux D.T., Moreau P., LeMaoult J.: HLA-G: an immune checkpoint molecule. *Adv. Immunol.*, 2015; 157: 33-144
- [16] Caumartin J., Favier B., Daouya M., Guillard C., Moreau P., Carosella E.D., Goulielmos G., Kritikos H., Sidiropoulos P., Tzardi M., Kardassis D., Mamalaki C., Boumpas D.T.: Genetic, immunologic, and immunohistochemical analysis of the programmed death 1/programmed death ligand 1 pathway in human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 207-218

sella E.D., Le Maoult J.: Trogocytosis-based generation of suppressive NK cells. *EMBO J.*, 2007; 26: 1423-1433

[17] Chen J., Shen B., Jiang Y., Jun L., Zhu M., Chen B., Liu C.: Analysis of immunoglobulin-like transcripts (ILTs) in lymphocytes with sHLA-G and IL10 from SLE patients. *Clin. Exp. Med.*, 2013; 13: 135-142

[18] Contini P., Ghio M., Poggi A., Filaci G., Indiveri F., Ferrone S., Puppo F.: Soluble HLA-A,-B,-C and -G molecules induce apoptosis in T and NK CD8+ cells and inhibit cytotoxic T cell activity through CD8 ligation. *Eur. J. Immunol.*, 2003; 33: 125-134

[19] Cooper G.S., Bynum M.L., Somers E.C.: Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. *J. Autoimmun.*, 2009; 33: 197-207

[20] Cosmi L., Liotta F., Lazzeri E., Francalanci M., Angeli R., Mazzinghi B., Santarlasci V., Manetti R., Vanini V., Romagnani P., Maggi E., Romagnani S., Annunziato F.: Human CD8 + CD25 + thymocytes share phenotypic and functional features with CD4 + CD25 + regulatory thymocytes. *Blood*, 2003; 102: 4107-4114

[21] Cottrez F., Groux H.: Specialization in tolerance: innate CD(4+) CD(25+) versus acquired TR1 and TH3 regulatory T cells. *Transplantation*, 2004; 77: 12-15

[22] Crusz S.M., Balkwill F.R.: Inflammation and cancer: advances and new agents. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2015; 12: 584-596

[23] Danke N.A., Koelle D.M., Yee C., Beheray S., Kwok W.W.: Autoreactive T cells in healthy individuals. *J. Immunol.*, 2004; 172: 5967-5972

[24] Dong H., Strome S.E., Salomao D.R., Tamura H., Hirano F., Flies D.B., Roche P.C., Lu J., Zhu G., Tamada K., Lennon V.A., Celis E., Chen L.: Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat. Med.*, 2002; 8: 793-800

[25] Dorfman D.M., Brown J.A., Shahsafaei A., Freeman G.J.: Programmed Death-1 (PD-1) is a marker of germinal center-associated T cells and angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2006; 30: 802-810

[26] Elkord E.: Role of regulatory T cells in allergy: implications for therapeutic strategy. *Inflamm. Allergy Drug Targets*, 2006; 5: 211-217

[27] Facciabene A., Motz G.T., Coukos G.: T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis. *Cancer Res.*, 2012; 72: 2162-2171

[28] Fehervari Z., Sakaguchi S.: CD4+ Tregs and immune control. *J. Clin. Invest.* 2004; 114: 1209-1217

[29] Freeman G.J., Long A.J., Iwai Y., Bourque K., Chernova T., Nishimura H., Fitz L.J., Malenkovich N., Okazaki T., Byrne M.C., Horton H.F., Fouser L., Carter L., Ling V., Bowmen M.R. i wsp.: Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 1027-1034

[30] Freeman G.J., Wherry E.J., Ahmed R., Sharpe A.H.: Reinvigorating exhausted HIV-specific T cells via PD-1-PD-1 ligand blockade. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 2223-2227

[31] Gallimore A., Glithero A., Godkin A., Tissot A.C., Plückthun A., Elliott T., Hengartner H., Zinkernagel R.: Induction and exhaustion of lymphocytic choriomeningitis virus-specific cytotoxic T lymphocytes visualized using soluble tetrameric major histocompatibility complex class I-peptide complexes. *J. Exp. Med.*, 1998; 187: 1383-1393

[32] Gao Q., Qiu S.J., Fan J., Zhou J., Wang X.Y., Xiao Y.S., Xu Y., Li Y.W., Tang Z.Y.: Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J. Clin. Oncol.*, 2007; 25: 2586-2593

[33] Geis A.L., Fan H., Wu X., Wu S., Huso D.L., Wolfe J.L., Sears C.L.,

Pardoll D.M., Housseau F.: Regulatory T cell response to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* colonization triggers IL-17-dependent colon carcinogenesis. *Cancer Discov.*, 2015; 5: 1098-1109

[34] Ghebeh H., Mohammed S., Al-Omar A., Qattan A., Lehe C., Al-Qudaihi G., Elkum N., Alshabanah M., Bin Amer S., Tulbah A., Ajarim D., Al-Tweigeri T., Dermime S.: The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia*, 2006; 8: 190-198

[35] Giancchetti E., Delfino D.V., Fierabracci A.: Recent insights into the role of the PD-1/PD-L1 pathway in immunological tolerance and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.*, 2013; 12: 1091-1100

[36] Giannopoulos K., Dmoszyńska A., Bojarska-Junak A., Schmitt M., Roliński J.: Expression of HLA-G in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Folia Histochem. Cytobiol.*, 2008; 46: 457-460

[37] Giannopoulos K., Kaminska W., Hus I., Dmoszyńska A.: The frequency of T regulatory cells modulates the survival of multiple myeloma patients: detailed characterisation of immune status in multiple myeloma. *Br. J. Cancer*, 2012; 106: 546-552

[38] Giannopoulos K., Schmitt M., Kowal M., Własiuk P., Bojarska-Junak A., Chen J., Rolinski J., Dmoszynska A.: Characterization of regulatory T cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Oncol. Rep.*, 2008; 20: 677-682

[39] Giannopoulos K., Schmitt M., Kowal M., Własiuk P., Bojarska-Junak A., Roliński J., Dmoszyńska A.: The significance of soluble HLA-G plasma levels as well as messenger HLA-G for B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Leuk. Res.*, 2008; 32: 1815-1819

[40] Gizinski A.M., Fox D.A.: T cell subsets and their role in the pathogenesis of rheumatic disease. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2014; 26: 204-210

[41] Good-Jacobson K.L., Szumilas C.G., Chen L., Sharpe A.H., Tomayko M.M., Shlomchik M.J.: PD-1 regulates germinal center B cell survival and the formation and affinity of long-lived plasma cells. *Nat. Immunol.*, 2010; 11: 535-542

[42] Gregg R., Smith C.M., Clark F.J., Dunnion D., Khan N., Chakraborty R., Nayak L., Moss P.A.: The number of human peripheral blood CD4+ CD25high regulatory T cells increases with age. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005; 140: 540-546

[43] Grzywnowicz M., Karabon L., Karczmarczyk A., Zajac M., Skorka K., Zaleska J., Własiuk P., Chocholska S., Tomczak W., Bojarska-Junak A., Dmoszynska A., Frydecka I., Giannopoulos K.: The function of a novel immunophenotype candidate molecule PD-1 in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymph.*, 2015; 56: 2908-2913

[44] Grzywnowicz M., Zaleska J., Mertens D., Tomczak W., Własiuk P., Kosior K., Piechnik A., Bojarska-Junak A., Dmoszynska A., Giannopoulos K.: Programmed death-1 and its ligand are novel immunotolerant molecules expressed on leukemic B cells in chronic lymphocytic leukemia. *PLoS One*, 2012; 7: e35178

[45] Guo Q.Y., Chen B.G., Ruan Y.Y., Lin A., Yan W.H.: HLA-G expression is irrelevant to prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.*, 2011; 35: 1350-1354

[46] Guo Z.Y., Lv Y.G., Wang L., Shi S.J., Yang F., Zheng G.X., Wen W.H., Yang A.G.: Predictive value of HLA-G and HLA-E in the prognosis of colorectal cancer patients. *Cell Immunol.*, 2015; 293: 10-16

[47] Hamanishi J., Mandai M., Iwasaki M., Okazaki T., Tanaka Y., Yamaguchi K., Higuchi T., Yagi H., Takakura K., Minato N., Honjo T., Fujii S.: Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 3360-3365

[48] Hamanishi J., Mandai M., Matsumura N., Abiko K., Baba T., Konishi I.: PD - 1/PD - L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues. *Int. J. Clin. Oncol.*, 2016; 21: 462-473

- [49] He X., Dong D.D., Yie S.M., Yang H., Cao M., Ye S.R., Li K., Liu J., Chen J.: HLA-G expression in human breast cancer: implications for diagnosis and prognosis, and effect on alloctotoxic lymphocyte response after hormone treatment in vitro. *Ann. Surg. Oncol.*, 2010; 17: 1459-1469
- [50] Hviid T.V., Rizzo R., Melchiorri L., Stignani M., Baricordi O.R.: Polymorphism in the 5' upstream regulatory and 3' untranslated regions of the HLA-G gene in relation to soluble HLA-G and IL-10 expression. *Hum. Immunol.*, 2006; 67: 53-62
- [51] Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo T.: Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.* 1992; 11: 3887-3895
- [52] Jiao Q., Liu C., Yang Z., Ding Q., Wang M., Li M., Zhu T., Qian H., Li W., Tu N., Fang F., Ye L., Zhao Z., Qian Q.: Upregulated PD-1 expression is associated with the development of systemic lupus erythematosus, but not the PD-1.1 Allele of the PDCD1 gene. *Int. J. Genomics.* 2014; 2014: 950903
- [53] Josefowicz S.Z., Lu L.F., Rudensky A.Y.: Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu. Rev. Immunol.*, 2012; 30: 531-564
- [54] Jung Y.W., Kim Y.T., Kim S.W., Kim S., Kim J.H., Cho N.H., Kim J.W.: Correlation of human leukocyte antigen-G (HLA-G) expression and disease progression in epithelial ovarian cancer. *Reprod. Sci.*, 2009; 16: 1103-1111
- [55] Kasagi S., Kawano S., Kumagai S.: PD-1 and autoimmunity. *Crit. Rev. Immunol.*, 2011; 31: 265-295
- [56] Keir M.E., Butte M.J., Freeman G.J., Sharpe A.H.: PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2008; 26: 677-704
- [57] Keir M.E., Liang S.C., Guleria I., Latchman Y.E., Qipo A., Albaccker L.A., Koulmanda M., Freeman G.J., Sayegh M.H., Sharpe A.H.: Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J. Exp. Med.*, 2006; 203: 883-895
- [58] Kinter A.L., Godbout E.J., McNally J.P., Sereti I., Roby G.A., O'Shea M.A., Fauci A.S.: The common g-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J. Immunol.*, 2008; 181: 6738-6746
- [59] Kiyasu J., Miyoshi H., Hirata A., Arakawa F., Ichikawa A., Niino D., Sugita Y., Yufu Y., Choi I., Abe Y., Uike N., Nagafuji K., Okamura T., Akashi K., Takayanagi R. i wsp.: Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*, 2015; 126: 2193-2201
- [60] Konishi J., Yamazaki K., Azuma M., Kinoshita I., Dosaka-Akita H., Nishimura M.: B7-H1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their PD-1 expression. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 5094-5100
- [61] Kristjansdottir H., Steinsson K., Gunnarsson I., Gröndal G., Erlendsson K., Alarcón-Riquelme M.E.: Lower expression levels of the programmed death 1 receptor on CD4+CD25+ T cells and correlation with the PD-1.3A genotype in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis. Rheum.*, 2010; 62: 1702-1711
- [62] Ladoire S., Arnould L., Mignot G., Coudert B., Rébé C., Chalmrin F., Vincent J., Bruchard M., Chauffert B., Martin F., Fumoleau P., Ghiringhelli F.: Presence of Foxp3 expression in tumor cells predicts better survival in HER2-overexpressing breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2011; 125: 65-72
- [63] Le Bouteiller P., Mallet V.: HLA-G and pregnancy. *Rev. Reprod.*, 1997; 2: 7-13
- [64] Leleu X., Le Friec G., Facon T., Amiot L., Fauchet R., Hennache B., Coiteux V., Yakoub-Agha I., Dubucquoi S., Avet-Loiseau H., Mathiot C., Bataille R., Mary J.Y.: Total soluble HLA class I and soluble HLA-G in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 7297-7303
- [65] Le Maoult J., Le Discorde M., Rouas-Freiss N., Moreau P., Menier C., McCluskey J., Carosella E.D.: Biology and functions of human leukocyte antigen-G in health and sickness. *Tiss. Antig.* 2003; 62: 273-284
- [66] Li B.L., Lin A., Zhang X.J., Zhang X., Zhang J.G., Wang Q., Zhou W.J., Chen H.X., Wang T.J., Yan W.H.: Characterization of HLA-G expression in renal cell carcinoma. *Tiss. Antig.* 2009; 74: 213-221
- [67] Li S., Liao W., Chen M., Shan S., Song Y., Zhang S., Song H., Yuan Z.: Expression of programmed death-1 (PD-1) on CD4+ and CD8+ T cells in rheumatoid arthritis. *Inflammation*, 2014; 37: 116-121
- [68] Liang S.C., Latchman Y.E., Buhlmann J.E., Tomczak M.F., Horwitz B.H., Freeman G.J., Sharpe A.H.: Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. *Eur. J. Immunol.*, 2003; 33: 2706-2716
- [69] Lim H.W., Hillsamer P., Banham A.H., Kim C.H.: Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2005; 175: 4180-4183
- [70] Lin A., Chen H.X., Zhu C.C., Zhang X., Xu H.H., Zhang J.G., Wang Q., Zhou W.J., Yan W.H.: Aberrant human leukocyte antigen-G expression and its clinical relevance in hepatocellular carcinoma. *J. Cell Mol. Med.*, 2010; 14: 2162-2171
- [71] Lin A., Zhu C.C., Chen H.X., Chen B.F., Zhang X., Zhang J.G., Wang Q., Zhou W.J., Hu W., Yang H.H., Xu H.H., Yan W.H.: Clinical relevance and functional implications for human leukocyte antigen-g expression in non-small-cell lung cancer. *J. Cell Mol. Med.*, 2010; 14: 2318-2329
- [72] Lin H., Mosmann T.R., Guilbert L., Tuntipipat S., Wegmann T.G.: Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J. Immunol.*, 1993; 151: 4562-4573
- [73] Liu J., Hamrouni A., Wolowicz D., Coiteux V., Kuliczowski K., Hetuin D., Saudemont A., Quesnel B.: Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood*, 2007; 110: 296-304
- [74] Locafaro G., Amodio G., Tomasoni D., Tresoldi C., Ciceri F., Gregori S.: HLA-G expression on blasts and tolerogenic cells in patients affected by acute myeloid leukemia. *J. Immunol. Res.*, 2014; 2014: 636292
- [75] Miracco C., Mourmouras V., Biagioli M., Rubegni P., Mannucci S., Monciatti I., Cosci E., Tosi P., Luzi P.: Utility of tumour-infiltrating CD25+FOXP3+ regulatory T cell evaluation in predicting local recurrence in vertical growth phase cutaneous melanoma. *Oncol. Rep.*, 2007; 18: 1115-1122
- [76] Myklebust J.H., Irish J.M., Brody J., Czerwinski D.K., Houot R., Kohrt H.E., Timmerman J., Said J., Green M.R., Delabie J., Kolstad A., Alizadeh A.A., Levy R.: High PD-1 expression and suppressed cytokine signaling distinguish T cells infiltrating follicular lymphoma tumors from peripheral T cells. *Blood*, 2013; 121: 1367-1376
- [77] Nagaraj S., Youn J.I., Gabrilovich D.I.: Reciprocal relationship between myeloid-derived suppressor cells and T cells. *J. Immunol.*, 2013; 191: 17-23
- [78] Naji A., Menier C., Maki G., Carosella E.D., Rouas-Freiss N.: Neoplastic B-cell growth is impaired by HLA-G/ILT2 interaction. *Leukemia*, 2012; 26: 1889-1892
- [79] Nie J., Li Y.Y., Zheng S.G., Tsun A., Li B.: FOXP3(+) Treg cells and gender bias in autoimmune diseases. *Front. Immunol.*, 2015; 6: 493
- [80] Nishimura H., Agata Y., Kawasaki A., Sato M., Imamura S., Minato N., Yagita H., Nakano T., Honjo T.: Developmentally regulated expression of the PD-1 protein on the surface of double-negative (CD4⁻CD8⁻) thymocytes. *Int. Immunol.*, 1996; 8: 773-780
- [81] Nishimura H., Honjo T., Minato N.: Facilitation of β selection

and modification of positive selection in the thymus of PD-1-deficient mice. *J. Exp. Med.*, 2000; 191: 891-898

[82] O'Connor R.A., Anderton S.M.: Inflammation-associated genes: risks and benefits to Foxp3⁺ Treg function. *Immunology*, 2015; 146: 194-205

[83] Oestreich K.J., Yoon H., Ahmed R., Boss J.M.: NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation. *J. Immunol.*, 2008; 181: 4832-4839

[84] Ohigashi Y., Sho M., Yamada Y., Tsurui Y., Hamada K., Ikeda N., Mizuno T., Yoriki R., Kashizuka H., Yane K., Tsushima F., Otsuki N., Yagita H., Azuma M., Nakajima Y.: Clinical significance of Programmed Death-1Ligand-1 and Programmed Death-1Ligand-2 expression in human esophageal cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 2947-2953

[85] Ohl K., Tenbrock K.: Regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Eur. J. Immunol.*, 2015; 45: 344-355

[86] Okazaki T., Honjo T.: PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int. Immunol.*, 2007; 19: 813-824

[87] Ostapchuk E.O., Perfi L'eva Y.V., Talaeva S.Z., Omarbaeva N.A., Belyaev N.N.: Content of HLA-G⁺ T cells in the peripheral blood from healthy women and breast cancer patients. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2015; 159: 649-651

[88] Pan Y.Q., Ruan Y.Y., Peng J.B., Han Q.Y., Zhang X., Lin A., Yan W.H.: Diagnostic significance of soluble human leukocyte antigen-G for gastric cancer. *Hum. Immunol.*, 2016; 77: 317-324

[89] Pauken K.E., Wherry E.J.: Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol.*, 2015; 36: 265-276

[90] Paul P., Cabestre F.A., Ibrahim E.C., Lefebvre S., Khalil-Daher I., Vazeux G., Quiles R.M., Bermond F., Dausset J., Carosella E.D.: Identification of HLA-G7 as a new splice variant of the HLA-G mRNA and expression of soluble HLA-G5, -G6, and -G7 transcripts in human transfected cells. *Hum. Immunol.*, 2000; 61: 1138-1149

[91] Prokunina L., Castillejo-López C., Oberg F., Gunnarsson I., Berg L., Magnusson V., Brookes A.J., Tentler D., Kristjansdóttir H., Gröndal G., Bolstad A.I., Svenungsson E., Lundberg I., Sturfelt G., Jönsson A. i wsp.: A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. *Nat. Genet.*, 2002; 32: 666-669

[92] Prokunina L., Gunnarsson I., Sturfelt G., Truedsson L., Seligman V.A., Olson J.L., Seldin M.F., Criswell L.A., Alarcón-Riquelme M.E.: The systemic lupus erythematosus-associated PDCD1 polymorphism PD1.3A in lupus nephritis. *Arthritis Rheum.*, 2004; 50: 327-328

[93] Riley J.L.: PD-1 signaling in primary T cells. *Immunol. Rev.*, 2009; 229: 114-125

[94] Rizzo R., Bortolotti D., Bolzani S., Fainardi E.: HLA-G molecules in autoimmune diseases and infections. *Front Immunol.*, 2014; 5: 592

[95] Rizzo R., Hviid T.V., Govoni M., Padovan M., Rubini M., Melchiorri L., Stignani M., Carturan S., Grappa M.T., Fotinidi M., Ferretti S., Voss A., Laustrop H., Junker P., Trotta F. i wsp.: HLA-G genotype and HLA-G expression in systemic lupus erythematosus: HLA-G as a putative susceptibility gene in systemic lupus erythematosus. *Tiss. Antig.*, 2008; 71: 520-529

[96] Robert C., Long G.V., Brady B., Dutriaux C., Maio M., Mortier L., Hassel J.C., Rutkowski P., McNeil C., Kalinka-Warzech A., Savage K.J., Hernberg M.M., Lebbé C., Charles J., Mihalciou C. i wsp.: Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 372: 320-330

[97] Rouas-Freiss N., Goncalves R.M., Menier C., Dausset J., Carosella E.D.: Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 11520-11525

[98] Rouas-Freiss N., Moreau P., LeMaout J., Carosella E.D.: The dual role of HLA-G in cancer. *J. Immunol. Res.*, 2014; 2014: 359748

[99] 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: 1151-1164

[100] Schiering C., Krausgruber T., Chomka A., Fröhlich A., Adelman K., Wohlfert E.A., Pott J., Griseri T., Bollrath J., Hegazy A.N., Harrison O.J., Owens B.M., Löhning M., Belkaid Y., Fallon P.G. i wsp.: The alarmin IL-33 promotes regulatory T-cell function in the intestine. *Nature*, 2014; 513: 564-568

[101] Shimauchi T., Kabashima K., Nakashima D., Sugita K., Yamada Y., Hino R., Tokura Y.: Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and non-neoplastic CD4⁺ T-cells in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Int. J. Cancer*, 2007; 121: 2585-2590

[102] Speiser D.E., Utzschneider D.T., Oberle S.G., Münz C., Romero P., Zehn D.: T cell differentiation in chronic infection and cancer: functional adaptation or exhaustion? *Nat. Rev. Immunol.*, 2014; 14: 768-774

[103] Tao H., Mimura Y., Aoe K., Kobayashi S., Yamamoto H., Matsuda E., Okabe K., Matsumoto T., Sugi K., Ueoka H.: Prognostic potential of FOXP3 expression in non-small cell lung cancer cells combined with tumor-infiltrating regulatory T cells. *Lung Cancer*, 2012; 75: 95-101

[104] Thompson R.H., Gillett M.D., Cheville J.C., Lohse C.M., Dong H., Webster W.S., Krejci K.G., Lobo J.R., Sengupta S., Chen L., Zinke H., Blute M.L., Strome S.E., Leibovich B.C., Kwon E.D.: Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 17174-17179

[105] Tzankov A., Meier C., Hirschmann P., Went P., Pileri S.A., 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

[106] Vigano S., Perreau M., Pantaleo G., Harari A.: Positive and negative regulation of cellular immune responses in physiologic conditions and diseases. *Clin. Dev. Immunol.*, 2012; 2012: 485781

[107] Wastowski I.J., Simões R.T., Yaghi L., Donati E.A., Pancoto J.T., Poras I., Lechapt-Zalcman E., Bernaudin M., Valable S., Carlotti C.G. Jr, Flajollet S., Jensen S.S., Ferrone S., Carosella E.D., Kristensen B.W. i wsp.: Human leukocyte antigen-G is frequently expressed in glioblastoma and may be induced in vitro by combined 5-aza-2'-deoxycytidine and interferon-γ treatments: results from a multicentric study. *Am. J. Pathol.*, 2013; 182: 540-552

[108] Weinstock M., McDermott D.: Targeting PD-1/PD-L1 in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Ther. Adv. Urol.*, 2015; 7: 365-377

[109] Wherry E.J., Kurachi M.: Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat. Rev. Immunol.*, 2015; 15: 486-499

[110] Własiuk P., Niedzielski A., Skorka K., Karczmarczyk A., Zaleska J., Zajac M., Putowski M., Pac-Kozuchowska E., Giannopoulos K.: Accumulation of CD5⁺CD19⁺ B lymphocytes expressing PD-1 and PD-1L in hypertrophied pharyngeal tonsils. *Clin. Exp. Med.*, 2015 (w druku)

[111] Własiuk P., Stec A., Piechnik A., Kaminska W., Dmoszyska A., Książek A., Giannopoulos K.: Expression of soluble HLA-G in multiple myeloma patients and patients with renal failure. *Leuk. Res.*, 2012; 36: 881-883

[112] Własiuk P., Stec A., Świder R., Durlik M., Giannopoulos K., Książek A.: Association between increased levels of regulatory T cells and soluble human leukocyte antigen G with the prevalence of cancer in kidney transplant recipients. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2015; 125: 779-782

- [113] Własiuk P., Tomczak W., Zając M., Dmoszyńska A., Giannopoulos K.: Total expression of HLA-G and TLR-9 in chronic lymphocytic leukemia patients. *Hum. Immunol.*, 2013; 74: 1592-1597
- [114] Xerri L., Chetaille B., Serriari N., Seriari N., Attias C., Guillaume Y., Arnoulet C., Olive D.: Programmed death 1 is a marker of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and B-cell small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia. *Hum. Pathol.*, 2008; 39: 1050-1058
- [115] Yamazaki T., Akiba H., Iwai H., Matsuda H., Aoki M., Tanno Y., Shin T., Tsuchiya H., Pardoll D.M., Okumura K., Azuma M., Yagita H.: Expression of Programmed Death 1 ligands by murine T cells and APC. *J. Immunol.*, 2002; 169: 5538-5545
- [116] Yan M., Jene N., Byrne D., Millar E.K., O'Toole S.A., McNeil C.M., Bates G.J., Harris A.L., Banham A.H., Sutherland R.L., Fox S.B.: Recruitment of regulatory T cells is correlated with hypoxia-induced CXCR4 expression, and is associated with poor prognosis in basal-like breast cancers. *Breast Canc. Res.*, 2011; 13: R47
- [117] Yang Z.Z., Novak A.J., Stenson M.J., Witzig T.E., Ansell S.M.: Intratumoral CD4+CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression of infiltrating CD4+ T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood*, 2006; 107: 3639-3646
- [118] Zajac A.J., Blattman J.N., Murali-Krishna K., Sourdive D.J., Suresh M., Altman J.D., Ahmed R.: Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function. *J. Exp. Med.*, 1998; 188: 2205-2213
- [119] Zhang X., Schwartz J.C., Guo X., Bhatia S., Cao E., Lorenz M., Cammer M., Chen L., Zhang Z.Y., Edidin M.A., Nathenson S.G., Almo S.C.: Structural and functional analysis of the costimulatory receptor programmed death-1. *Immunity*, 2004; 20: 337-347

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.