АНАЛИЗ ДИНАМИКИ СУБПОПУЛЯЦИИ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК CD4+CD25+ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОМ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОМ РАКЕ

М.С. Саяпина[1], А.А. Борунова[1], Т.Н. Заботина[1], Д.А. Носов[2]

[1]ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 23;
[2]ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента РФ;
Россия, 121359 Москва, ул. Маршала Тимошенко, 15

Контакты: *Мария Сергеевна Саяпина maria.sayapina@mail.ru*

Введение. *Терапия интерфероном альфа (ИФН-α) остается возможной лечебной опцией у больных метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР) с благоприятным и промежуточным прогнозом. Однако у ряда больных отмечается отсутствие клинического эффекта, несмотря на активацию клеточного звена противоопухолевого иммунитета. Представляет интерес изучение роли популяции супрессорных клеток с фенотипом CD4+CD25+, которые, по данным различных авторов, могут подавлять противоопухолевый иммунный ответ. Повышение количества этих клеток в периферической крови обнаруживается при различных злокачественных новообразованиях.*

Цель исследования *– определить эффективность и переносимость ИФН-α у больных мПКР и изучить динамику субпопуляции CD4+CD25+ Т-лимфоцитов и ее связь с эффективностью терапии ИНФ.*

Материалы и методы. *В период с 2011 по 2016 гг. 41 пациент с мПКР получал терапию ИФН-α. У 32 пациентов терапия проводилась в 1 линии, у 9 – в 2 и более. Оценка иммунологических параметров осуществлялась в течение 1 нед до начала иммунотерапии, через 2 нед после начала и через 8 нед в период контрольного обследования. Иммунофенотип лимфоцитов оценивали методом многоцветной проточной цитометрии с использованием антител, в том числе к CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25 и перфорину. Статистический анализ и обработка данных выполнялись с помощью программы STATISTICA версии 13.*

Результаты. *Полный эффект достигнут у 2 (4,8 %) пациентов, частичный – у 9 (21,9 %) пациентов; объективный эффект (полная + частичная ремиссии) составил 26,8 %. Длительная стабилизация болезни (≥6 мес) отмечена у 19 (46,3 %) пациентов. Общая частота контроля над заболеванием (полная + частичная ремиссии + длительная стабилизация) составила 73,1 %. Медиана времени до прогрессирования составила 8 мес (p = 0,03). У пациентов с объективным ответом исходное содержание CD4+CD25+-популяции Т-лимфоцитов было практически в пределах донорских показателей (3,5 ± 2,1 %) и составляло 4,4 ± 3,0 % (p <0,05), в то время как у пациентов с прогрессированием заболевания исходное содержание этой субпопуляции Т-лимфоцитов было в 3 раза выше: 12,1 ± 8,0 %. При этом следует отметить тенденцию к снижению содержания данной субпопуляции на фоне лечения в группе с клиническим эффектом.*

Заключение. *Исходно повышенное содержание субпопуляции CD4+CD25+-Т-лимфоцитов в периферической крови больных может являться отрицательным прогностическим фактором при иммунотерапии ИФН-α, вероятнее всего за счет иммунорегуляторной субпопуляции CD4+CD25+FOXP3+CD127low-Т-клеток (Treg). Целесообразно дальнейшее исследование данной субпопуляции Т-клеток как потенциального маркера эффективности иммунотерапевтического подхода.*

Ключевые слова: *Т-регуляторные клетки, интерферон альфа, метастатический почечно-клеточный рак*

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-91-96

ANALYSIS OF CHANGES IN SUBPOPULATION OF T-REGULATORY CELLS CD4+CD25+ IN METASTATIC RENAL CELL CARCINOMA

M.S. Sayapina[1], A.A. Borunova[1], T.N. Zabotina[1], D.A. Nosov[2]

[1]N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 23 Kashyrskoe shosse, Moscow 115478, Russia;
[2]Central Clinical Hospital, Administration of President of Russia; 15 Marshala Timoshenko Str., Moscow 121359, Russia

Introduction. *Treatment with interferon alpha (IFN-α) is a possible therapeutic option in patients with metastatic renal cell carcinoma (mRCC) with favorable and intermediate prognosis. However, in some patients there is a lack of clinical effect despite the activation of the cellular component of anti-tumor immunity. According to various authors the CD4+CD25+ suppressor cells may suppress anti-tumor immune response, and their study is of scientific interest. Increasing the number of these cells in the peripheral blood was found at various malignancies.*

Objective. *To study the efficiency and tolerance of IFN-α in patients with mRCC and to examine changes in subpopulation of CD4+CD25+ T-lymphocytes and their association with the efficiency of the therapy.*

Materials and methods. *Forty-one patients with mRCC received IFN-α in 2011 to 2016. Therapy was performed in the 1st line in 32 patients and in the 2nd line in 9 patients. Evaluation of immunological parameters was carried out within 1 week prior to immunotherapy, 2 weeks after the beginning and after 8 weeks in the control examination period. The immunophenotype of lymphocytes was assessed by multi-color flow cytometry using antibodies, including CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25 and perforin. Statistical analysis and data processing was performed using STATISTICA program (version 13).*

Results. *The complete effect was achieved in 2 (4.8 %) patients, partial regressions were recorded in 9 (21.9 %) patients, and long (>6 months) stabilizations of a tumor process were observed in other 19 (46.3 %) patients. The overall rate of disease control (complete + partial regressions + long stabilizations) was 73.1 %. The median time to progression was 8 months (p = 0.03). The baseline count of $CD4^+CD25^+$ T-lymphocytes in patients with an objective response was almost within the donor group (3.5 ± 2.1 %) and amounted to 4.4 ± 3.0 % (p <0.05). The baseline count of this subpopulation of cells was thrice greater in patients with the progressive disease: 12.1 ± 8.0 %. It should be noted a tendency to reduce this count during therapy in the group with clinical effect.*

Conclusion. *The baseline count of subpopulations of $CD4^+CD25+$ T-lymphocytes in the peripheral blood of patients can be a negative prognostic factor in immunotherapy IFN-α, most likely due to immunoregulatory subpopulations of $CD4^+CD25^+FOXP3^+CD127^{low}$-T-cells (Treg). It is advisable to further study this subpopulation of T-cells as a potential marker of the effectiveness of immunotherapeutic approaches.*

Key words: *T-regulatory cells CD4+CD25+, interferon alpha, metastatic renal cell carcinoma*

Введение

В настоящее время установлено, что важную роль в индукции не только аутотолерантности, но и толерантности к опухолевым клеткам играет немногочисленная популяция регуляторных (супрессорных) $CD4^+CD25^+$-Т-клеток (Treg), которые предупреждают развитие различных аутоиммунных поражений, а также способны эффективно подавлять противоопухолевый иммунитет [1–3].

Характеристики Treg: роль $FOXP3^+$

Treg-клетки впервые выявлены по экспрессии CD25, который представляет собой α-цепь высокоаффинного рецептора к интерлейкину-2 (interleukin-2, IL-2). В крови человека определяется примерно 4–6 % $CD4^+CD25^+$-Т-клеток с высоким уровнем экспрессии CD25, обладающих супрессорной функцией. Однако CD25 может кратковременно экспрессироваться и на активированных $CD4^+CD25^+$-эффекторных Т-клетках, что осложняет точное определение Treg-клеток. Позднее была выявлена субпопуляция $CD4^+CD25^{high}$-Т-клеток, которые и осуществляют супрессорные функции, тогда как клетки с низкой экспрессией α-цепи рецептора IL-2 – $CD4^+CD25^{low}$ – регуляторной функцией не обладают и, очевидно, представляют собой эффекторные $CD4^+$-Т-клетки в стадии активации [4, 5]. В последующем был описан ген, локализованный в хромосоме X, *FOXP3* (forkhead box P3), который контролирует развитие и функционирование Treg-клеток и выявляется главным образом в ядре Treg [1, 6]. Связываясь с ДНК, *FOXP3* действует как репрессор транскрипции, выступая антагонистом функций NFAT (nuclear factor of activated T-cells), играющего основную роль в экспрессии генов ряда цитокинов, продуцируемых периферическими Т-клетками. В результате *FOXP3* ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов. Дефект Treg-клеток вследствие мутации гена *FOXP3* вызывает развитие тяжелого аутоиммунного синдрома IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome – синдром Х-сцепленной иммунной дизрегуляции, полиэндокринопатии и энтеропатии) – наследственного заболевания у детей [7]. Однако *FOXP3* также может временно выявляться у эффекторных Т-клеток в ходе их активации. В последние годы выявлен негативный маркер Treg-клеток, CD127, α-цепь рецептора IL-7 (IL-7Rα) [8], который экспрессируется на эффекторных, но не на регуляторных Т-клетках. Фенотип Treg при использовании этого маркера можно представить как $CD4^+CD25^+FOXP3^+CD127^{low}$, таким образом появилась возможность дифференцировать Treg и эффекторные $CD4^+CD25^+$-Т-клетки.

Популяция $CD4^+CD25^+FOXP3^+$-Т-клеток считается минорной, и содержание Treg-клеток в периферической крови составляет около 5–10 % от $CD4^+$-Т-клеток у мышей и человека [9].

Известно несколько субпопуляций регуляторных Т-клеток: *натуральные,* возникающие в тимусе регуляторные Т-клетки $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ (Treg); *индуцируемые* регуляторные Т-клетки 1-го типа (Treg-1), образованные на периферии, продуцирующие IL-10 и трансформирующий ростовой фактор бета (transforming growth factor beta, TGF-β), которые подавляют пролиферацию Т-лимфоцитов; Т-лимфоциты *хелперы 3-го типа* (Th^3), которые возникают на периферии и опосредуют супрессию через секрецию TGF-β. Поскольку Treg-1 и Th^3 не имеют своего уникального Т-клеточного маркера, они могут быть идентифицированы только по функциональной активности в экспериментальных условиях [10].

Основной субпопуляцией $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ регуляторных Т-клеток считаются естественные,

или натуральные, регуляторные Т-клетки (nTreg). Эти клетки формируются в процессе нормальной дифференцировки в тимусе, а не под действием антигенной стимуляции. На мышиных моделях установлено, что тимические стромальные клетки, включая кортикальные и медуллярные тимические эпителиальные клетки и дендритные клетки, способствуют дифференциации и селекции Treg-клеток. Также в тимическом микроокружении необходимо присутствие IL-2 и IL-7 для развития Treg-клеток у мышей [6, 11].

Среди $CD4^+CD25^+FOXP3^+$Treg-клеток встречаются индуцированные на периферии адаптивные Treg-клетки (iTreg). Показано, что $FOXP3^+$Treg-клетки могут индуцироваться *in vitro* у человека из наивных $CD4^+$-Т-клеток стимуляцией Т-клеточного рецептора (T-cell receptor, TCR) в присутствии TGF-β. Такие $FOXP3^+$iTreg-клетки экспрессируют маркеры, ассоциированные с регуляторным фенотипом (CD25, CTLA4 и $CD127^{low}$), имеют способность к супрессии, но не проявляют характерного для $CD4^+CD25^+FOXP3^+$nTreg профиля генной транскрипции. Таким образом, обе эти субпопуляции – индуцированные на периферии iTreg-клетки и тимус-производные nTreg-клетки – экспрессируют *FOXP3* и подавляют иммунный ответ через контактзависимый механизм и продукцию растворимых факторов, включая цитокины TGF-β, IL-10 и IL-35. Однако естественные $CD4^+CD25^+FOXP3^+$Treg-клетки отличаются устойчивостью в отношении поддержания регуляторной функции и экспрессии *FOXP3* на периферии [6, 12].

На данный момент существует несколько способов отличить натуральные Treg-клетки от индуцируемых на периферии. Так, для Treg-клеток характерна экспрессия CD45RO – маркера клеток памяти, однако было показано, что существует субпопуляция Treg, на мембране которых выявляется CD45RA, маркер наивных Т-клеток, что указывает на их тимусное происхождение и позволяет отличить их от натуральных Treg-клеток [5]. Также был выявлен полностью деметилированный промоторный регион гена *FOXP3*, который уникален для натуральных Treg-клеток тимусного происхождения [13]. P.C. Janson и соавт., а также U. Baron и соавт. предполагают, что это является причиной нестабильной экспрессии *FOXP3* в Т-клетках [14, 15]. A. Thornton и соавт. описали транскрипционный фактор Helios, член семейства Ikaros, который четко разделяет популяцию $FOXP3^+$Treg-клеток на 2 группы: $FOXP3^+Helios^+$nTreg и $FOXP3^+$Helios-iTreg-клетки. Было продемонстрировано, что абсолютно все $CD4^+CD8^-FOXP3^+$-тимоциты экспрессировали этот транскрипционный фактор. Ни мышиные, ни человеческие натуральные Т-клетки, *in vitro* индуцированные к экспрессии *FOXP3* TCR-стимуляцией в присутствии TGF-β, не экспрессировали Helios [13]. Поэтому транскрипционный фактор Helios был предложен в качестве маркера nTreg-клеток тимусного происхождения. Наконец, установлено, что для $CD25^+FOXP3^+$iTreg-клеток, индуцированных *in vivo*, отмечается высокий уровень экспрессии транскрипционного кофактора HOPX (homeobox only protein homeobox). HOPX экспрессируется в nTreg-клетках в 3 раза меньше, чем в iTreg-клетках. HOPX-дефицитные iTreg-клетки теряли способность к супрессии, в то время как для функционирования nTreg-клеток HOPX не требовался [16].

До настоящего времени специфический поверхностный маркер для Treg-клеток не определен. Регуляторные Т-клетки экспрессируют целый ряд функциональных молекул. Среди них в качестве клеточных маркеров Treg-клеток используют CD25 (α-цепь рецептора IL-2, IL-2Rα), CTLA-4 (CD152, cytotoxic T-lymphocyte antigen 4), GITR (glucocorticoidinduced TNF-receptor-related protein), CD95 (FAS), $CD127^{low}$ (IL-7Rα), PD-1 (programmed cell death protein 1), TIM-3 (T-cell membrane protein 3), A2aR (adenosine A2a receptor), *LAG-3* (lymphocyte activation gene 3) и другие, поскольку они конститутивно экспрессируются регуляторными Т-клетками. Однако следует иметь в виду, что эти молекулы могут экспрессироваться и другими Т-клетками на определенных этапах дифференцировки. Так, молекулы CD25, CD69, CD127, CD45RO обнаруживаются и на Т-эффекторах. Также показано, что экспрессия таких маркеров, как CD39, CD73, CD101, GITR, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD278 (ICOS) и CD120b (TNF RII), не находится в постоянной корреляции с экспрессией ключевого транскрипционного фактора Treg-клеток *FOXP3* [11, 17]. Таким образом, пул регуляторных Т-клеток крайне гетерогенен и одной из основных задач является определение специфического поверхностного маркера для более точного понимания свойств Т-регуляторных клеток, механизмов супрессорного воздействия, а также возможности их клинического применения.

Экспрессия регуляторными Т-клетками хемокиновых рецепторов имеет большое значение в привлечении и накоплении этих клеток в места локализации опухоли [9]. У онкологических больных отмечается увеличенное количество $CD4^+CD25^{high}$Treg-клеток в периферической крови, опухолевом микроокружении, регионарных лимфатических узлах, опухолевой ткани, асцитной жидкости. Причем опухолевые клетки могут способствовать экспансии nTreg-клеток в опухолевое микроокружение [18]. В исследовании S.A. Siddiqui и соавт. было продемонстрировано, что у больных почечно-клеточным раком инфильтрация опухоли $CD4^+CD25^+FOXP3$-клетками ассоциирована с высоким уровнем смертности, распространен-

Клиническая эффективность терапии интерфероном альфа в зависимости от количества предшествующих линий у пациентов с метастатическим почечно-клеточным раком, n (%)

Эффект	1 линия терапии (n = 32)	2 линии терапии и более (n = 9)	Во всей группе (n = 41)
Полный эффект	1 (2,4)	1 (2,4)	2 (4,8)
Частичный эффект	6 (14,6)	3 (7,3)	9 (21,9)
Стабилизация (≥6 мес)	18 (43,9)	1 (2,4)	19 (46,3)
Прогрессирование	7 (17)	4 (9,8)	11 (26,8)

ными стадиями TNM (TNM Classification of Malignant Tumours), большим размером опухоли и развитием внутри нее коагуляционного некроза, тогда как все эти признаки имеют независимое прогностическое значение для показателей смертности [19]. Также отмечено, что уровень $CD4^+CD25^+FOXP3^+$Treg-клеток в периферической крови этих больных превышает донорские показатели, что может являться причиной подавления противоопухолевого иммунного ответа [20]. Более того, у больных метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР) с повышенной экспансией $CD4^+CD25^+FOXP3^+$Treg-клеток в периферической крови ответ на вакцинотерапию и цитокинотерапию значительно хуже [21].

Материалы и методы

В период с 2011 по 2016 гг. в отделении клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» (РОНЦ им. Н.Н. Блохина) Минздрава России 41 пациент с мПКР получал лечение интерфероном альфа (ИФН-α) в дозе 6×10^6 МЕ/сут п/к 3 раза в неделю. Оценка иммунологических параметров осуществлялась в лаборатории клинической иммунологии опухолей ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в течение 1 нед до начала иммунотерапии, через 2 нед после начала и через 8 нед в период контрольного обследования. Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови онкологических больных и здоровых доноров (n = 15) оценивали методом многоцветной проточной цитометрии с использованием коммерческих моноклональных антител (Becton Dickinson, США) к CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25 и перфорину, конъюгированных флуоресцеина изотиоцианатом, фикоэритрином и фикоэритрин-цианином. В работе было использовано трехцветное окрашивание поверхностных антигенов лимфоцитов.

Статистический анализ и обработка данных выполнялась с помощью программы STATISTICA версии 13. При сравнении иммунологических показателей использовались неспаренный W-критерий Уилкоксона, Т-критерий Стьюдента и метод дисперсионного анализа (analysis of variance, ANOVA). Различия считались значимыми при p <0,05 (p двусторонний). Время до прогрессирования определялось с помощью метода Каплана – Мейера от даты начала иммунотерапии до даты регистрации прогрессирования или смерти от любой причины.

Результаты и их обсуждение

Эффективность иммунотерапии ИФН-α оценена у 41 пациента с мПКР. Полный эффект достигнут у 2 (4,8 %) пациентов, частичный – у 9 (21,9 %) пациентов; объективный эффект (полная + частичная ремиссии) составил 26,8 %. Длительная стабилизация болезни (≥6 мес) отмечена у 19 (46,3 %) пациентов. Общая частота контроля над заболеванием (полная + частичная ремиссии + длительная стабилизация) составила 73,1 %. У 32 пациентов терапия ИФН-α проводилась в 1 линию, у 9 – в 2 и более. Эффективность терапии в зависимости от количества предшествующих линий представлена в таблице.

На момент иммунотерапии у всех пациентов определялись метастазы различной локализации, среди которых наиболее частой являлись легкие (63,4 %).

Для всей группы из 41 пациента медиана выживаемости от начала иммунотерапии до прогрессирования заболевания составила 8 мес (рис. 1). Медиана времени наблюдения за больными, которые живы и продолжают наблюдаться, достигла 48 мес (от 24 до 60 мес).

Во время проведения иммунотерапии не было отмечено признаков токсичности III–IV ст. выраженности. Чаще всего отмечался гриппоподобный синдром, основным его проявлением было повышение температуры тела, зафиксированное у 92,6 % пациентов, из них I ст. выраженности – у 73 %, с ее пиком через 2–5 ч после введения ИФН-α. Озноб отмечался у 85,3 % пациентов, из них I ст. выраженности – у 60,9 %. Головная боль наблюдалась у 36,5 % пациентов, из них II ст. выраженности – у 12,2 %. Астения была у 20,6 % пациентов, из них II ст. выраженности – у 4,6 %. Снижение аппетита

Рис. 1. *Выживаемость без прогрессирования у пациентов с метастатическим почечно-клеточным раком, получающих интерферон альфа. Медиана 8 мес (n = 41), 95 % доверительный интервал (2,2–24)*

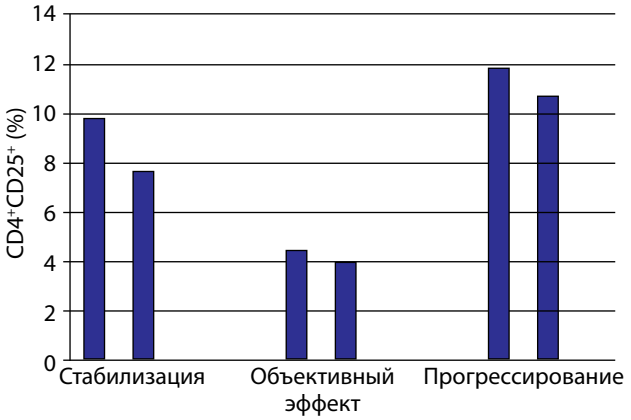

Рис. 2. *Содержание $CD4^+CD25^+$-Т-лимфоцитов в периферической крови больных метастатическим почечно-клеточным раком с наличием объективного эффекта и стабилизацией и больных с прогрессированием заболевания до начала иммунотерапии и через 2 мес*

отмечали 24,3 % пациентов, из них существенное (II ст. выраженности) – 2 (4,8 %) пациента. Выраженной гематологической токсичности не наблюдалось. Необходимо отметить, что побочные эффекты терапии ИФН-α были незначительными и не ухудшали качество жизни больных.

Исходное содержание $CD4^+CD25^+$-популяции Т-лимфоцитов у пациентов с объективным эффектом было практически в пределах донорских показателей (3,5 ± 2,1 %) и составляло 4,4 ± 3,0 % (p <0,05), в то время как у пациентов с прогрессированием заболевания исходное содержание этой субпопуляции Т-лимфоцитов было в 3 раза выше: 12,1 ± 8,0 %. При этом следует отметить тенденцию к снижению содержания данной субпопуляции на фоне лечения в группе с клиническим эффектом (рис. 2).

Полученные данные в целом соответствуют результатам других клинических исследований, в которых изучалось значение исходного уровня Treg в качестве фактора, прогнозирующего эффективность иммунотерапевтических подходов при мПКР [22, 23].

Заключение

Отсутствие клинического эффекта, несмотря на активацию клеточного звена противоопухолевого иммунитета, может быть связано с исходно повышенным содержанием в периферической крови супрессорной популяции Т-лимфоцитов с фенотипом $CD4^+CD25^+$. У больных мПКР с объективным эффектом исходное содержание $CD4^+CD25^+$-популяции Т-лимфоцитов было практически в пределах донорских показателей (3,5 ± 2,1 %) и составляло 4,4 ± 3,0 % (p <0,05), в то время как у больных с прогрессированием заболевания исходное содержание этой субпопуляции Т-лимфоцитов было в 3 раза выше: 12,1 ± 8,0 %. Таким образом, исходно повышенное содержание субпопуляции $CD4^+CD25^+$-Т-лимфоцитов в периферической крови больных может являться отрицательным прогностическим фактором иммунотерапии ИФН-α, вероятнее всего за счет иммунорегуляторной субпопуляции $CD4^+CD25^+FOXP3^+CD127^{low}$-Т-клеток (Treg). Целесообразно дальнейшее исследование данной субпопуляции Т-клеток как потенциального маркера эффективности иммунотерапевтического подхода.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sakaguchi S. Naturally arising FOXP3-expressing $CD25^+CD4^+$ regulatory T-cells in immunological tolerance to self and non-self. Nat Immunology 2005;6(4):345–52. DOI: 10.1038/ni1178. PMID: 15785760.
2. Wei W.Z., Morris G.P., Kong Y.C. Anti-tumor immunity and autoimmunity: a balancing act of regulatory T-cells. Cancer Immunol Immunother 2004;53(2):73–8. DOI: 10.1007/s00262-003-0444-1. PMID: 14610619.
3. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. Иммунорегуляторные $CD25^+CD4^+$-Т-клетки. Российский биотерапевтический журнал 2006;5(2):13–20.
4. Baecher-Allan C., Brown J., Freeman G. et al. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. J Immunol 2001;167(3):1245–53. PMID: 11466340.
5. Быковская С.Н., Карасев А.В., Лохонина А.В., Клейменова Е.Б. Анализ Т-регуляторных клеток $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ при аутоиммунных заболеваниях. Молекулярная медицина 2013;3:20–8.
6. Sakaguchi S., Miyara M., Costantino C.M., Hafler D.A. $FOXP3^+$ regulatory T-cells

in the human immune system. Nat Rev Immunol 2010;10(7):490–500. DOI: 10.1038/nri2785. PMID: 20559327.
7. Gambineri E., Torgerson T., Ochs H. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. Curr Opin Rheumatol 2003;15(4):430–5. PMID: 12819471.
8. Liu W., Putnam A., Xu-Yu Z. et al. CD127 expression inversely correlates with FOXP3 and suppressive function of human CD4$^+$Treg cells. J Exp Med 2006;203(7):1701–11. DOI: 10.1084/jem.20060772. PMID: 16818678. PMCID: PMC2118339.
9. Yang Z.Z., Ansell S.M. The role of Treg-cells in the cancer immunological response. Am J Immunol 2009;5(1):17–28.
10. Lyez-Hoyos M., Segundo D., Arias M. Cellular immunotolerance in the transplant. Adv Exp Med Biol 2012;741:44–59. DOI: 10.1007/978-1-4614-2098-9_4. PMID: 22457102.
11. Жулай Г.А., Олейник Е.К. Регуляторные Т-лимфоциты CD4$^+$CD25$^+$FOXP3$^+$. Перспективы применения в иммунотерапии. Труды Карельского научного центра РАН 2012;2:3–17.
12. Workman C., Szymczak-Workman A., Collison L. et al. The development and function of regulatory T-cells. Cell Mol Life Sci 2009;66(16):2603–22. DOI: 10.1007/s00018-009-0026-2. PMID: 19390784. PMCID: PMC2715449.
13. Thornton A., Korty P., Tran D. et al. Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced FOXP3$^+$ T-regulatory cells. J Immunol 2010;184(7):3433–41. DOI: 10.4049/jimmunol.0904028. PMID: 20181882. PMCID: PMC3725574.
14. Baron U., Floess S., Wieczorek G. et al. DNA demethylation in the human FOXP3 locus discriminates regulatory T-cells from activated FOXP3$^+$ conventional T-cells. Eur J Immunol 2007;37(9):2378–89. DOI: 10.1002/eji.200737594. PMID: 17694575.
15. Janson P.C., Winerdal M.E., Marits P. et al. FOXP3 promoter demethylation reveals the committed Treg population in humans. PLoS One 2008;3(2):e1612. DOI: 10.1371/journal.pone.0001612. PMID: 18286169.
16. Hawiger D., Wan Y.Y., Eynon E.E., Flavell R.A. Homeodomain only protein is required for the function of induced regulatory T-cells in dendritic cell-mediated peripheral T-cell unresponsiveness. Nat Immunol 2010;11(10):962–8. DOI: 10.1038/ni.1929. PMID: 20802482.
17. Tran D.Q., Andersson J., Hardwick D. et al. Selective expression of latency-associated peptide (LAP) and IL-1 receptor type I/II (CD121a/CD121b) on activated human FOXP3$^+$ regulatory T-cells allows for their purification from expansion cultures. Blood 2009;113(21):5125–33. DOI: 10.1182/blood-2009-01-199950. PMID: 19299332.
18. Elkorda E., Sharma S., Burt D.J., Hawkins R.E. Expanded subpopulation of FOXP3$^+$ T-regulatory cells in renal cell carcinoma co-express Helios, indicating they could be derived from natural but not induced Tregs. Clin Immonol 2011;140(3):218–22. DOI: 10.1016/j.clim.2011.04.014. PMID: 21570917.
19. Siddiqui S.A., Frigola X., Bonne-Annee S. et al. Tumor-infiltrating FOXP3$^-$ CD4$^+$CD25$^+$ T-cells predict poor survival in renal cell carcinoma. Clin Cancer Res 2007;13(7):2075–81. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2139. PMID: 17404089.
20. Cesana G.C., DeRaffele G., Cohen S. et al. Characterization of CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T-cells in patients treated with high-dose interleukin-2 for metastatic melanoma or renal cell carcinoma. J Clin Oncol 2006;24(7):1169–77. DOI: 10.1200/JCO.2005.03.6830. PMID: 16505437.
21. Schwarzer A., Wolf B., Fisher J.L. et al. Regulatory T-cells and associated pathways in metastatic renal cell carcinoma (mRCC) patients undergoing DC-vaccination and cytokine-therapy. PLoS One. 2012;7(10):e46600. DOI: 10.1371/journal.pone.0046600. PMID: 23118856.
22. Finke J.H., Rini B., Ireland J. et al. Sunitinib reverses type-1 immune suppression and decreases T-regulatory cells in renal cell carcinoma patients. Clin Cancer Res 2008;14(20):6674–82. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5212. PMID: 18927310.
23. Носов Д.А. Метастатический рак почки: новые лекарственные возможности и рациональные лечебные подходы. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2012. 201 с.