

文章编号: 1004-0374(2010)04-0362-05

CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞与肿瘤免疫研究进展

张妍¹, 迟晓燕², 崔保霞^{1*}

(1 山东大学齐鲁医院妇产科, 济南 250012; 2 青岛市立医院妇产科, 青岛 266011)

摘要: 调节性 T 细胞(Treg)是一类具有免疫调节功能的细胞群, 在机体的免疫耐受中起着关键性作用。它们主要通过细胞-细胞直接接触的方式抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ 效应性 T 细胞的活化和增殖, 来调节获得性免疫系统, 阻止自身免疫疾病的发生。Treg 中以自然产生的 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(固有 Treg 细胞)研究最多。在人类, 调控效能主要限于 CD4⁺CD25^{high} 亚型。由于 Treg 独特的生物学功能, 它在自身免疫性疾病的发生、移植耐受和肿瘤的发生和转归上越来越受到重视。该文就该类细胞的特点及其与肿瘤关系的研究进展作一综述。

关键词: CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞; 肿瘤; 免疫治疗; 化疗

中图分类号: Q28; R73-36 **文献标识码:** A

The research progress of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and the anti-tumor immune

ZHANG Yan¹, CHI Xiao-yan², CUI Bao-xia^{1*}

(1 Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan 250012, China;

2 Department of Obstetrics and Gynecology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266071, China)

Abstract: Treg(Regulatory T cell) is a kind of cells with immune regulation function, which plays a key role in the immunotolerance. They mainly through cells - cells indirect contacting way inhibit the activation and proliferation of CD4⁺ and CD8⁺ effect T cells, and to regulate the acquired immune systems and prevent the occurrence of autoimmune diseases. The most studied Treg cell type is the naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells (natural Treg cells). In humans, regulation efficiency mainly is confined to CD4⁺CD25^{high} subtype. Due to its unique biological function, Treg in autoimmune disease, transplanted tolerance and cancer's incidence and prognosis cause more and more attention. In this paper, the characteristics of such cells, and its relationship with tumor research are reviewed.

Key words: CD4⁺CD25⁺ Treg; tumor; immunotherapy; chemotherapy

机体的免疫状态与肿瘤的发生和发展有着密切的关系, 当机体免疫功能低下或受抑时, 肿瘤的发病率升高, 肿瘤进行性生长时, 机体的免疫功能受抑, 两者此消彼长, 共同影响着肿瘤的发展。CD4⁺CD25⁺ Treg 是一类具有免疫抑制功能的细胞群, 是机体内调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tr)的主要类型, 于 1995 年首次由 Sakaguchi 等^[1]提出。CD4⁺CD25⁺ Treg 具有低反应性和免疫抑制性两大特点, 并主要通过细胞-细胞直接接触的方式下调机

体免疫应答, 维持外周免疫耐受, 防止自身免疫性疾病的发生。近年来研究发现, Treg 在肿瘤患者的外周血及肿瘤组织中均有增多, 以其独特的免疫抑制作用, 影响机体的抗肿瘤免疫应答, 在肿瘤的免疫逃逸、肿瘤的发生发展及转归中扮演着重要的角色。本文主要对 Treg 的特点及其与肿瘤关系的研

收稿日期: 2009-09-29; 修回日期:

*通讯作者 E-mail: baociacui@hotmail.com

究进展做一综述。

1 Treg细胞概述

在人和鼠中,CD4⁺CD25⁺ Treg 占总CD4⁺T淋巴细胞总数的5%~10%,但在人类,调控效能的发挥主要限于CD4⁺CD25^{high}亚型^[2]。CD4⁺CD25⁺ Treg细胞分为固有Treg细胞(natural T regulatory cells, nTreg)和适应性Treg细胞(induced T regulatory cells, iTreg)。前者来源于胸腺;后者由外周CD25⁻ T细胞经抗原刺激诱导而来。两者除表型略有不同外,作用方式亦有区别。nTreg的抑制效能强,从胸腺移行至外周血后,通过细胞-细胞直接接触的方式发挥抑制作用。而iTreg细胞的抑制效能弱,但却对TCR(T细胞抗原识别受体)的刺激高度敏感,主要通过分泌抑制性细胞因子,如转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)和IL-10发挥作用。

1.1 Treg细胞的表面标志

除CD25(IL-2受体的α链)外,Treg细胞表面还高表达GITR(糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体)、CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞抗原-4)、CD103(Integrin αE, E7)、CD223(LAG-3)、CD134(OX-40)、CD122(IL-2受体β链)以及Toll样受体(toll-like receptor, TLR)等;但像CD25一样,它们在Treg细胞的表达并不是特异性的。目前已知的惟一特异性表达于小鼠Treg细胞的是Foxp3^[3],而且Wolf等^[4]证实,人体内CD4⁺CD25⁺ Treg细胞的发生、表型、功能等方面均与小鼠体内的CD4⁺CD25⁺ T细胞很相似。

1.2 Foxp3

FOX(forkhead box)是脊椎动物叉头样转录因子的总称,是一个具有多种功能的转录因子大家族,通常和细胞生长发育的调控有关。Foxp3是转录因子forkhead/winged helix家族的新成员。该基因家族编码的蛋白具有相似的保守结构,均通过其C端高度保守的FKH结构域(forkhead box)进行核定位并与DNA的特定位置结合,参与对目的基因的调控。胸腺中未成熟T细胞及外周调节性T细胞,在其受体被结合后以及在TGF-β^[5]和雌激素^[6]刺激作用下,Foxp3的表达均增高,Foxp3可以通过下调IL-2、TNF、GM-CSF等细胞因子,并上调IL-10、血红素加氧酶-1的表达而发挥免疫抑制功能。

绝大多数自身免疫疾病是受多基因控制和环境因素双重影响的复杂的病理过程,而*foxp3*是目前所知单基因突变就导致自身免疫性疾病的极少数基

因之一。*foxp3*基因突变,在小鼠会导致致命性的淋巴细胞增殖性疾病和各种自身免疫性疾病,表现为严重皮炎、多器官淋巴细胞浸润及自身免疫溶血性贫血,约在出生后3周死亡。研究发现,敲除*foxp3*基因的小鼠由于缺乏功能性Foxp3表达,其自身免疫症状较去除TR细胞(调节性T细胞)更为严重。在人类,*foxp3*基因突变表现为IPEX(immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome)综合征^[7],即人类免疫失调、多发内分泌腺病、肠病、X连锁综合征,是一种致命性X连锁隐性遗传病,通常在出生后2年内死亡。

通过*foxp3*基因转染^[8,9]和*foxp3*基因敲除研究^[10]显示,Foxp3特征性表达于活化的Treg细胞的细胞核,在Treg细胞抑制表型的决定上扮演中枢的角色,是Treg分化发育和发挥免疫调节功能所必需的,可作为CD4⁺CD25⁺ Treg细胞的特征性标志,其异位表达还会抑制外周CD4⁺CD25⁻ T细胞的功能。在小鼠,Foxp3仅特异性表达于CD4⁺CD25⁺ T细胞,而在人类,Foxp3不仅可表达于CD4⁺CD25⁺ T细胞,也表达于其他有抑制功能的细胞,如CD4⁺CD25^{-/low} Treg细胞^[10,11]以及有免疫抑制功能的CD8⁺ T细胞亚型^[12]。表达Foxp3的T细胞均具有免疫抑制作用,因此在活体内,在消除免疫抑制细胞上,针对Foxp3比CD25具有更精准的优势。

研究发现,CD127分子(IL-7受体)在CD4⁺CD25⁺ Treg细胞的表达很低,并且与Foxp3的表达呈负相关^[14]。因此,同时检测CD4⁺、CD25⁺、Foxp3和CD127^{low}这4个指标,可以更精确地定义CD4⁺CD25⁺ Treg细胞群体。

2 CD4⁺CD25⁺ Treg与肿瘤免疫

CD4⁺CD25⁺ Treg细胞能抑制CD4⁺ T和CD8⁺ T淋巴细胞、NKT细胞、B淋巴细胞、树突状细胞以及单核细胞/巨噬细胞的分化和效应功能。近年来研究发现,Treg对NK细胞也有抑制作用^[15,16]。这表明,Treg可参与固有性免疫和获得性免疫这两方面的免疫调节。

2.1 CD4⁺CD25⁺ Treg调节肿瘤免疫

肿瘤的发生和发展与机体的免疫状态有着密切的关系。在细胞癌变过程中出现的新抗原以及过度表达的抗原物质称为肿瘤抗原。已经证实,机体可以针对肿瘤抗原产生特异性的体液和细胞免疫应答。其中,细胞免疫是抗肿瘤免疫的主力,体液免疫通常仅在某些情况下起协同作用。

CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞主要通过抑制性调节 CD8⁺ T 细胞和 CD4⁺ T 细胞的辅助性作用,包括抗原提呈细胞(antigen-presenting cells,APC)和B细胞在内的整个免疫系统的应答;但是,其抑制作用只限于活化后的效应细胞,初始T细胞活化成效应性T细胞的过程不直接受限于 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞^[17]。如前所述,CD4⁺CD25⁺ Treg 以其独特的抑制作用,影响着T淋巴细胞亚群的数量和功能。而T淋巴细胞亚群的数量和功能异常,将直接影响肿瘤的发生、发展及预后。陈忠等^[18]在对原发性肝癌的研究中发现,肿瘤局部Treg细胞数量增多,并与CD4⁺T细胞数量以及CD4⁺/CD8⁺细胞比值呈显著负相关,而且Treg的分布也具有异质性,在癌旁组织中大部分以散在方式分布,而在肿瘤组织中则呈簇丛状分布,并与效应性T淋巴细胞紧密相伴。推测Treg细胞通过抑制CD4⁺T细胞的增殖,破坏了T淋巴细胞亚群之间的平衡。CD4⁺CD25⁺Treg细胞还分泌白细胞介素,如IL-10和IL-4,而非IL-2和 γ 干扰素(IFN- γ)。Th2型细胞因子,如IL-10增高可促进肿瘤细胞逃避免疫监视。IL-10为IL-12的抑制因子,具有抑制细胞免疫的功能。这都提示CD4⁺CD25⁺T细胞的增加及其分泌的细胞因子IL-10、IL-4与免疫抑制和预后有关。

Treg在多种实体肿瘤和血液系统恶性肿瘤患者体内都有数目增多的证据,并且能够抑制宿主的抗肿瘤免疫应答,显示出与疾病进程明显的相关性。胃癌、肺癌、卵巢癌、肝癌、胰腺癌和乳腺癌等肿瘤患者的外周血、肿瘤局部、肿瘤浸润淋巴结和引流淋巴结中都可以检测到CD4⁺CD25⁺Treg细胞^[18,19],且数量与疾病进程和预后呈负相关。Kono等^[20]调查57名接受根治性切除的胃癌患者发现,2个月后外周血中Treg细胞数量较术前明显下降,与健康志愿者相仿。以后6个月的随访中,有6例复发,其外周血中Treg细胞数再次升高。提示Treg细胞水平可作为随访及判断预后的指标。也有研究表明CD8⁺/Treg细胞比值可能是更好的判断预后的指标。但由于缺乏对健康成人外周血Treg细胞水平的大规模普查,没有形成统一的参考值,目前还无法在临床上推广应用。

肿瘤患者体内CD4⁺CD25⁺Treg增多的机制尚不明确,目前推测有以下几种可能:(1)肿瘤分泌的某些因子,如IL-2、IL-10和TGF- β ,直接或间接地吸引和诱导CD4⁺CD25⁺Treg扩增,以及CD4⁺CD25⁻T细胞向CD4⁺CD25⁺Treg转化;(2)抗原

提呈细胞提呈的肿瘤相关抗原诱导Treg的扩增;(3)机体对由肿瘤抗原刺激所产生的一种生理性防御;(4)大多数肿瘤细胞能分泌趋化因子CCL22,而CD4⁺CD25⁺Treg细胞表面高表达CCL22受体CCR4,从而使CD4⁺CD25⁺Treg在肿瘤局部得以募集和扩增;(5)在针对特异性抗原的克隆删除或由Fas-FasL介导的凋亡中,CD4⁺CD25⁺Treg和CD4⁺CD25⁻T细胞在敏感性上存在差异,肿瘤分泌的细胞因子选择性地诱导CD4⁺CD25⁻T细胞凋亡。

2.2 CD4⁺CD25⁺Treg与肿瘤免疫治疗

免疫是机体最重要的抗癌机制,肿瘤发生是宿主本身所具有的抗癌机制失败的结果。这是20世纪肿瘤研究最伟大的成就之一。在肿瘤的发生与发展中,CD4⁺CD25⁺Treg起了很重要的作用。目前,CD4⁺CD25⁺Treg细胞在临床上的应用主要有两方面:一是通过增强其活性,用于自身免疫性疾病和移植排斥的治疗;二是通过降低其活性,用于肿瘤的免疫治疗和特异性疫苗的接种。

肿瘤抗原是一种重要的自身抗原,被CD4⁺CD25⁺Treg细胞识别后,Treg活化而发挥免疫抑制作用,影响着肿瘤患者的预后。因此,去除CD4⁺CD25⁺Treg细胞或阻断其免疫抑制作用可增强机体的抗肿瘤作用以及肿瘤疫苗引发的免疫应答。目前可采用的方法有:(1)用特异性抗体,如抗CD25、抗CD4抗体,减少CD4⁺CD25⁺Treg的数量或用抗CTLA-4抗体阻断其信号传导^[19,21,22]。有研究发现,在应用黑色素瘤疫苗时,将清除CD4⁺CD25⁺Treg细胞和封闭CTLA-4的方法相结合,抗癌效果要比单独应用好。(2)应用地尼白介素-毒素连接物ONTAK(由IL-2与白喉毒素经基因工程产生的融合蛋白),可以清除CD25⁺Treg。(3)Foxp3疫苗。前两种方法,都是以抗体或配体制剂为基础的,由于Foxp3是细胞核产物,不在细胞表面表达,因此在体内不能用抗体来消除Foxp3表达的细胞;而Foxp3疫苗能刺激Foxp3特异性的CTL反应,清除Foxp3表达的细胞,从而特异性地消除了包括CD4⁺CD25⁺Treg在内的,有抑制活性的效应细胞,增强了疫苗诱导的抗肿瘤免疫^[13]。值得注意的是,Foxp3疫苗优先导致瘤体内,而不是外周的Treg枯竭,从而降低了发生自身免疫性疾病的风险。(4)Chen等^[27]研究发现,肿瘤局部增多的CD4⁺CD25⁺Treg对FasL介导的细胞凋亡很敏感,瘤内输注FasL蛋白,可促进Treg细胞凋亡。(5)通过TLR8(Toll-like receptor 8)信号途径,逆转Treg的抑制作用。

CD4⁺CD25⁺ Treg可不断地在胸腺产生,而使其损失的部分得以补充。因此,在肿瘤治疗时,暂时去除CD4⁺CD25⁺ Treg细胞,并不会影响长期的免疫调节功能。待CD4⁺CD25⁺ Treg细胞数量和功能恢复后,机体仍然能够阻止各种自身免疫疾病的发生^[23]。Aarts等^[24]研究发现,将粒细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)或IL-2与重组体肿瘤疫苗同时使用,可以进一步加强抗肿瘤免疫反应。

3 化疗对CD4⁺CD25⁺ Treg的影响

化疗药物可以通过抑制肿瘤微环境中的血管生成,促进CD4⁺CD25⁺ Treg凋亡,使Treg数目减少,从而起到有效控制肿瘤的作用。

3.1 环磷酰胺(CTX)的免疫增强作用

环磷酰胺除做为细胞毒化疗药用于肿瘤的治疗外,还作为免疫抑制剂用于自身免疫性疾病的治疗。近来研究发现,CTX还可以通过干预免疫系统的功能而发挥抗肿瘤作用。低剂量的CTX可以通过降低体内CD4⁺CD25⁺ Treg的数量和功能,抑制肿瘤细胞增殖,促进凋亡,而增强机体免疫应答^[18, 25]。尤其在过继性或主动性抗肿瘤免疫治疗中单次应用疗效显著,即CTX还可作为免疫增强剂来使用^[26]。

但是,有研究在对正常小鼠单次小剂量注射CTX 10 d后,发现CD4⁺CD25⁺ Treg细胞数量又回复,并具有完整的免疫抑制功能。这表明CTX对CD4⁺CD25⁺ Treg细胞的作用除有剂量依赖性外,还有时间依赖性。因此,在这个有效时间窗内,可以考虑联合应用其他化疗药物或使用肿瘤疫苗。Beyer等^[28]研究显示,CTX与免疫疗法结合甚至可使小鼠肿瘤治愈,但单一使用效果均不好。

4 展望

Treg的发现大大推进了肿瘤免疫治疗的进程。在肿瘤免疫治疗中的一个关键问题是清除或逆转Treg细胞的抑制作用。使用抗CD25单抗、抗GITR单抗、抗CTLA-4单抗减少或阻断CD4⁺CD25⁺ Treg细胞的免疫抑制作用,可以打破免疫耐受,提高宿主T细胞反应,增加CTL及NK细胞数量,增强抗肿瘤免疫应答;但由于CD25抗体介导的Treg细胞的耗竭不是特异性的,因此,在提高肿瘤抗原引起的免疫应答的同时会诱发或加剧自身病理免疫的发生,并有潜在的干扰T细胞对亚临床感染的控制的可能,从而造成不可预测的严重后果^[13],限制了

临床的应用。

在小鼠,耗竭CD4⁺CD25⁺ Treg细胞之后3~5周内,Treg就会反弹^[11]。而在应用肿瘤疫苗后再应用CD25单抗,并不利于疫苗诱导的免疫保护作用^[32, 33]。因此,耗竭CD4⁺CD25⁺ Treg的方案必须局限在接种疫苗之前的时期。研究表明,荷瘤小鼠疫苗接种后可以导致重新转换^[34]或Treg数目的预扩增^[35],这可能会加剧肿瘤特异性免疫抑制。因此,耗竭疫苗诱导的Treg细胞也将是有益的,但以CD25为靶向还不能达成目标。鉴于CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞联合MHC I类分子可以识别表达于细胞表面的来自任何细胞腔隙的抗原决定簇这一理论,Nair等^[13]测试了核表达的Foxp3疫苗,成功的引发了强大的Foxp3特异性CTL反应,而且与CD25抗体治疗不同,它不会对疫苗诱导的抗肿瘤免疫产生干扰,并优先导致瘤体内,而不是外周的Treg枯竭。这一发现,为Foxp3疫苗的临床应用提供了实验依据。

临床前阶段和临床中各种肿瘤的免疫治疗的研究广泛开展。尽管还没有非病毒靶向的肿瘤疫苗被食品药品监督管理局所批准,但几个随机的第二阶段的试验已经获得了临床受益的证据,尤其是在提高患者的生存率上^[36]。许多肿瘤疫苗的临床协议已在先前治疗失败的患者中应用,或在某些情况下用于联合治疗。然而迄今为止,很少有人注意到联合使用疫苗与化疗。

5 结语

Treg以其独特的免疫抑制作用,在人类疾病的防治上蕴藏着巨大的价值。目前,对于CD4⁺CD25⁺ Treg和肿瘤免疫之间的关系仍在探索之中。明确荷瘤机体内CD4⁺CD25⁺ Treg增多的机制,以及寻找一条既能降低Treg的免疫抑制作用,又能避免自身免疫性疾病发生的方法,是肿瘤免疫治疗上的一个基本问题。更进一步的研究可能会涉及蛋白质组学的研究,而不仅仅限于基因和细胞表型的分析上。而联合使用疫苗和化疗或许也会为肿瘤的治疗带来新的进展。

[参考文献]

- [1] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. 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(3): 1151-64
- [2] Wing K, Suri-Prayer E, Rudin A. CD4⁺CD25⁺ regulatory T

- cells from mouse to man. *Scand J Immunol*, 2005, 62 (1): 1-15
- [3] Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol*, 2005, 6 (4): 331-7
- [4] Wolf AM, Wolf D, Steurer M, et al. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(2): 606-12
- [5] Peng Y, Laouar Y, Li MO, et al. TGF- β regulates *in vivo* expansion of Foxp3-expressing CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells responsible for protection against diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(13): 4572-7
- [6] Polanczyk MJ, Camon BD, Subramanian S, et al. Cutting edge: estrogen drives expansion of the CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell compartment. *J Immunol*, 2004, 173(4): 2227-30
- [7] Ramsdell F, Ziegler SF. Transcription factors in autoimmunity. *Curr Opin Immunol*, 2003, 15(6): 718-24
- [8] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003, 299(5609): 1057-61
- [9] Albert MH, Liu Y, Anasetti C, et al. Antigen-dependent suppression of alloresponses by Foxp3-induced regulatory T cells in transplantation. *Eur J Immunol*, 2005, 35(9): 2598-607
- [10] Fontenot JD, Rasmussen JP, Williams LM, et al. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity*, 2005, 22(3): 329-341
- [11] Zelenay S, Lopes-Carvalho T, Caramalho I, et al. Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ T cells constitute a reservoir of committed regulatory cells that regain CD25 expression upon homeostatic expansion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(11): 4091-6
- [12] Vlad G, Cortesini R, Suciuc-Focan. License to heal: bidirectional interaction of antigen-specific regulatory T cells and tolerogenic APC. *J Immunol*, 2005, 174(10): 5907-14
- [13] Nair S, Boczkowski D, Fassnacht M, et al. Vaccination against the forkhead family transcription factor Foxp3 enhances tumor immunity. *Cancer Res*, 2007, 67(1): 371-80
- [14] Liu W, Putnam AL, 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
- [15] Romagnani C, Della Chiesa M, Kohler S, et al. Activation of human NK cells by plasmacytoid dendritic cells and its modulation by CD4⁺ T helper cells and CD4⁺CD25^{hi} T regulatory cells. *Eur J Immunol*, 2005, 35(8): 2452-8
- [16] Ralainirina N, Poli A, Michel T, et al. Control of NK cell functions by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(1): 144-53
- [17] Scheffold A, Hühn J, Höfer T. Regulation of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell activity: it takes (IL-)two to tango. *Eur J Immunol*, 2005, 35(5): 1336-41
- [18] 陈中, 晏建军, 黄亮, 等. 肝癌微环境中CD4⁺CD25⁺调节性T细胞与T细胞免疫的关系. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2007, 14(6): 582-4
- [19] Baecher-Allan C, Anderson DE. Regulatory cells and human cancer. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16(2): 98-105
- [20] Kono K, Kawaida H, Takahashi A, et al. CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells increase with tumor stage in patients with gastric and esophageal cancers. *Cancer Immunol Immunother*, 2006, 55(9): 1064-71
- [21] Chattopadhyay S, Chakraborty NG, Mukherji B. Regulatory T cells and tumor immunity. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54(12): 1153-61
- [22] Yamaguchi T, Sakaguchi S. Regulatory T cells in immune surveillance and treatment of cancer. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16(2): 115-23
- [23] Nomura T, Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in tumor immunity. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2005, 293: 287-302
- [24] Aarts WM, Schlom J, Hodge JW. Vector-based vaccine/cytokine combination therapy to enhance induction of immune responses to a self-antigen and antitumor activity. *Cancer Res*, 2002, 62(20): 5770-7
- [25] Mihalyo MA, Doody AD, McAleer JP, et al. *In vivo* cyclophosphamide and IL-2 treatment impedes self-antigen-induced effector CD4 cell tolerization: implications for adoptive immunotherapy. *J Immunol*, 2004, 172(9): 5338-45
- [26] Lutsiak ME, Semnani RT, DE Pascalis R, et al. Inhibition of CD4⁺CD25⁺ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide. *Blood*, 2005, 105(7): 2862-8
- [27] Chen A, Liu S, Park D, et al. Depleting intratumoral CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells via FasL protein transfer enhances the therapeutic efficacy of adoptive T cell transfer. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 1291-8
- [28] Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood*, 2006, 108(3): 804-11
- [29] Chu Y, Wang LX, Yang G, et al. Efficacy of GM-CSF-producing tumor vaccine after docetaxel chemotherapy in mice bearing established Lewis lung carcinoma. *J Immunother*, 2006, 29(4): 367-80
- [30] Garnett CT, Schlom J, Hodge JW. Combination of docetaxel and recombinant vaccine enhances T-cell responses and antitumor activity: effects of docetaxel on immune enhancement. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3536-44
- [31] Beyer M, Kochanek M, Darabi K, et al. Reduced frequencies and suppressive function of CD4⁺CD25^{hi} regulatory T cells in patients with chronic lymphocytic leukemia after therapy with fludarabine. *Blood*, 2005, 106(6): 2018-25
- [32] Suttmüller RP, van Duivenvoorde LM, van Elsas A, et al. Synergism of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and depletion of CD25(+) regulatory T cells in antitumor therapy reveals alternative pathways for suppression of autoreactive cytotoxic T lymphocyte responses. *J Exp Med*, 2001, 194(6): 823-32
- [33] Ko K, Yamazaki S, Nakamura K, et al. Treatment of advanced tumors with agonistic anti-GITR mAb and its effects on tumor-infiltrating Foxp3⁺CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells. *J Exp Med*, 2005, 202(7): 885-91
- [34] Valzasina B, Piconese S, Guiducci C, et al. Tumor-induced expansion of regulatory T cells by conversion of CD4⁺CD25⁺ lymphocytes is thymus and proliferation independent. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 4488-95
- [35] Zhou G, Drake CG, Levitsky HI. Amplification of tumor-specific regulatory T cells following therapeutic cancer vaccines. *Blood*, 2006, 107(2): 628-36
- [36] Schlom J, Arlen PM, Gulley JL. Cancer vaccines: moving beyond current paradigms. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(13): 3776-82