

Układ immunologiczny w chorobie nowotworowej jajnika – sojusznik czy wróg?

Aldona Nowicka, Ewelina Rogala, Iwona Wertel, Rafał Tarkowski, Grzegorz Polak, Józef Kotarski, Jan Kotarski

Wprowadzenie

Rola komórek układu odpornościowego w patogenezie raka jajnika nie jest do końca wyjaśniona. Liczne badania eksperymentalne i obserwacje kliniczne z jednej strony wskazują na aktywny udział komórek immunologicznych w zwalczaniu nowotworów, z drugiej zaś przypisują leukocytom istotną rolę we wspomaganie rozwoju choroby.¹ Zmiana w rozumieniu patogenyzy nowotworów polega na uwzględnieniu roli, jaką przewlekła odpowiedź zapalna może odgrywać w pośrednich etapach rozwoju choroby nowotworowej. Celem niniejszej pracy jest omówienie roli wybranych komórek układu immunologicznego w patogenezie chorób nowotworowych, szczególnie raka jajnika.

Immunologiczne pole bitwy

Pierwszym etapem nowotworzenia jest inicjacja, podczas której dochodzi do serii zmian w materiale genetycznym jednej lub kilku komórek.² Zmiany te zapewniają zmutowanym komórkom nieśmiertelność, umożliwiają intensywne dzielenie się, a następnie inwazję na sąsiednie tkanki. Komórki, które w drodze wtórnych mutacji nabyły zdolność ruchu, odry-

wają się od guza pierwotnego i z prądem krwi wędrują do odległych narządów, tworząc przerzuty.³ Wieloletnie badania dowiodły, że przekształceniu rozwijającego się nowotworu – *carcinoma in situ* – w raka tworzącego przerzuty towarzyszy występujący lokalnie przewlekły stan zapalny.^{4,5} Związki wydzielane przez komórki podścieliska i komórki nowotworowe działają chemotaktycznie na leukocyty, które licznie napływają w okolice guza.⁶ O ile w przypadku chorób infekcyjnych nagromadzenie komórek układu immunologicznego jest konieczne do efektywnej eliminacji patogenów i regeneracji uszkodzonych tkanek, o tyle występujący w okolicach nowotworu stan zapalny może stać się zjawiskiem niekorzystnym.⁷ Najnowsze badania dowodzą, że wśród komórek immunologicznych, izolowanych z guza lub obszarów przyległych, oprócz prawidłowych, aktywowanych leukocytów występują komórki o zredukowanych zdolnościach obronnych.⁸ Funkcja cytotoksyczna tych komórek jest zwykle upośledzona, a aktywność wydzielnicza przesunięta w kierunku związków o działaniu immunosupresyjnym i wspomagającym wzrost guza.^{9,10} Uważane dotąd za komórki obronne, leukocyty odpowiedzialne są najprawdopodobniej za inicjowanie tolerancji immunologicznej na antygeny nowotworowe. Podejrzewa się ponadto, że niektóre z nich, wydzielając prozapalne cytokiny, np. czynnik martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor α , TNF α), biorą aktywny udział w hamowaniu apoptozy komórek nowotworowych.^{11,12}

Rola makrofagów

Jedną z najliczniej reprezentowanych populacji wśród komórek immunologicznych, infiltrujących zmienioną nowotworowo tkankę jajnika, stanowią makrofagi – jednojądrzaste komórki żerne, posiadające na powierzchni błony komórkowej glikoproteinę CD68+.¹³ W warunkach fizjologicznych makrofagi fagocytują antygeny egzogenne, przetwarzają je w endosomach, a następnie prezentują limfocytom T w formie sprzężonej z białkami układu zgodności tkankowej MHC klasy II. Jako komórki prezentujące antygen (antigen presenting cell, APC) makrofagi indukują proliferację i aktywację limfocytów pomocniczych Th.¹⁴

W raku jajnika makrofagi pojawiają się we wczesnym stadium rozwoju choroby. W postaci komórek prekursorowych, monocytów, werbowane są do guza przez szereg wydzielanych przez guz i jego podścielisko związków, m.in. przez chemokinę CCL-2 (CCL-2, MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1, białko chemotaktyczne dla monocytów).⁵ Szczególne znaczenie w rekrutacji ma wytwarzana przez tkankę nowotworową interleukina 10 (IL-10). Podejrzewa się, że indukuje ona przekształcanie się napływających monocytów w charakterystyczne dla guza makrofagi TAM (tumor-associated macrophage). TAM cechuje zmniejszona zdolność indukcji odpowiedzi komórkowej, aktywacji limfocytów T i B oraz wytwarzania cytokin prozapalnych i reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species, ROS). TAM wytwarzają natomiast dużą ilość

Adres do korespondencji:
mgr Aldona Nowicka, I Katedra i Klinika Ginekologii
Onkologicznej i Ginekologii, Uniwersytet Medyczny,
Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1,
20-081 Lublin, ul. Staszica 16, tel. 81 53-278-47,
faks 81 53-206-08, e-mail: aldona.nowicka@gmail.com

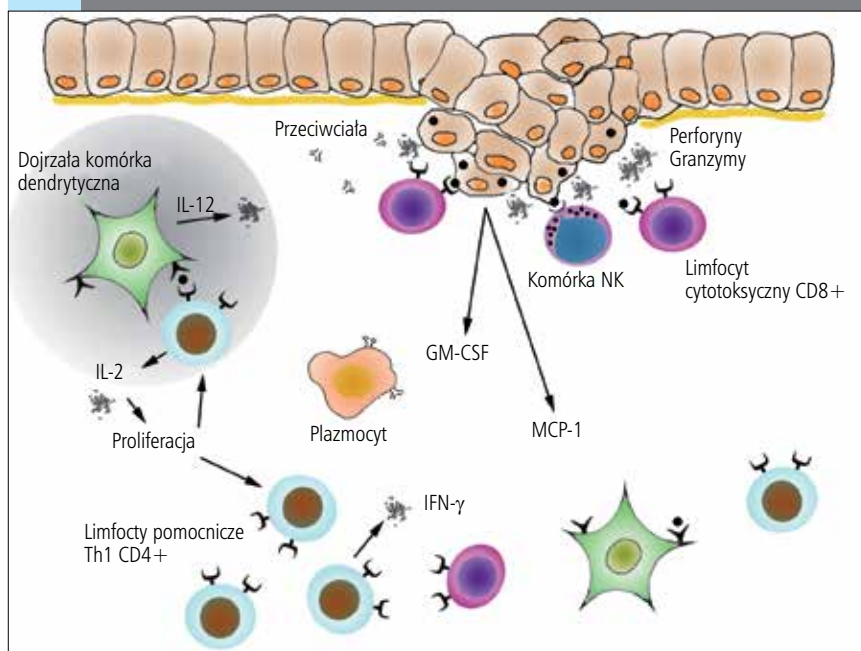
mediatorów hamujących, takich jak: PGE2 α (prostaglandyna E2 α) IL-10, TGF β (transforming growth factor β , transformujący czynnik wzrostu) oraz substratów dla enzymu 2,3 dioksygenazy indolaminy, IDO (2,3 indoleaminy dioxygenase).¹⁶

Makrofagi akumulowane są głównie w rejonach silnej hipoksji guza, gdzie wydzielając VEGF (vascular endothelial growth factor, czynnik wzrostu śródbłonna), wspomagają proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych – neoangiogenezy.^{12,16} Istnieją doniesienia, że wydzielany najprawdopodobniej przez makrofagi guzowe TNF α może przyczyniać się do proliferacji komórek nowotworowych.¹⁷ Według najnowszych badań te charakterystyczne dla tkanki nowotworowej fagocyty nie są zdolne do wyzwolenia prawidłowej aktywacji limfocytów T. Przekazując sygnał, zamiast pobudzenia limfocytów pomocniczych indukują powstawanie regulatorowych limfocytów Treg. Badania Kryczek i wsp. potwierdziły immunosupresyjne działanie TAM w środowisku raka jajnika. Opisana przez nią populacja TAM, wykazująca ekspresję powierzchniowej glikoproteiny B7-H4+, silnie hamuje proliferację limfocytów T, ich aktywację, wytwarzanie cytokin prozapalnych i cytotoxyczność.¹⁸

Komórki dendrytyczne

Obok makrofagów komórki dendrytyczne są kluczowymi komórkami prezentującymi antygeny limfocytom T.¹⁹ Nie są one fenotypowo jednorodny. Ze względu na obecność charakterystycznych markerów powierzchniowych wyodrębniono dwie główne subpopulacje DC (dendritic cell): mieloidalne komórki dendrytyczne o fenotypie BDCA-1 (CD1c)+/CD19- oraz limfoidalne komórki dendrytyczne o fenotypie BDCA-2 (CD303)+/CD123+.^{20,21} Sugeruje się, że w warunkach fizjologicznych mieloidalne komórki dendrytyczne odgrywają zasadniczą rolę w pochłanianiu antygenów i przekazywaniu sygnału kostymulującego limfocytom T, natomiast limfoidalne DC odpowiedzial-

RYCINA 1. Wczesne stadium choroby nowotworowej i/lub włączona immunoterapia mobilizująca układ odpornościowy chorego



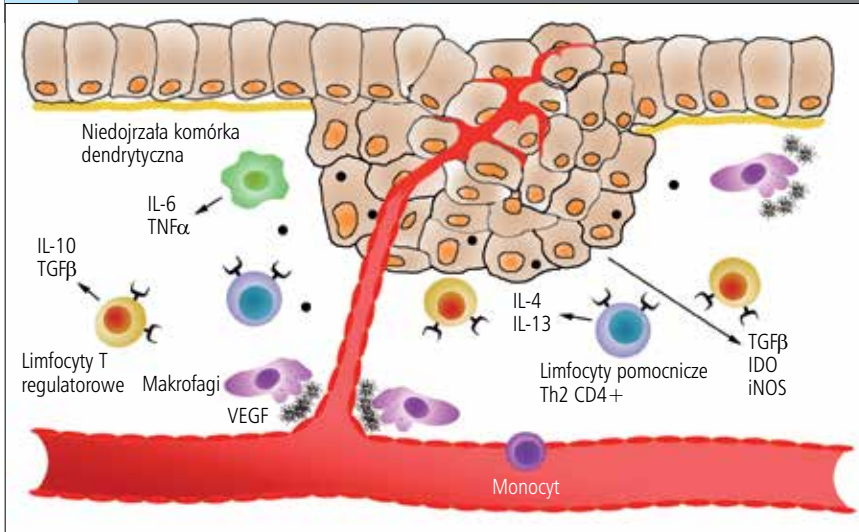
Rozwijający się nowotwór generuje sygnały przyciągające komórki układu immunologicznego: komórki dendrytyczne, komórki NK, limfocyty pomocnicze Th i cytotoksyczne Tc. Infiltrujące okolice guza komórki dendrytyczne pochłaniają rozpuszczalne antygeny nowotworowe, przechodzą proces dojrzewania i wędrują do lokalnych węzłów chłonnych, gdzie prezentują antygeny nowotworowe limfocytom pomocniczym Th1 CD4+. Limfocyty pomocnicze Th CD4+ stymulują proliferację i aktywację limfocytów cytotoksycznych Tc CD8+, które wydzielając perforinę i granzymy, skutecznie niszczą komórki nowotworowe.

ne są najprawdopodobniej za indukcję tolerancji immunologicznej.^{19,20} W ostatnich latach dużo uwagi poświęca się badaniu funkcji komórek dendrytycznych. Ostatnie doniesienia sugerują, że prawidłowa fagocytoza i krzyżowy priming limfocytów zależą w dużej mierze od stopnia dojrzałości komórek dendrytycznych. U pacjentów cierpiących na chorobę nowotworową stwierdza się często obecność niedojrzałych DC.²² Komórki takie wykazują zredukowaną ekspresję lub brak cząstek kostymulujących, a co za tym idzie, nie są zdolne do przekazania sygnału kostymulującego limfocytom T. Brak sygnału kostymulacji powoduje zahamowanie proliferacji i aktywacji komórek T, a w konsekwencji prowadzi do anergii limfocytów. Sugeruje się, że niedojrzałe DC mogą indukować powstawanie limfocytów T supresorywnych, które bezpośrednio wygasza-

ją przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną.

Obecność komórek dendrytycznych wykazano we krwi²³, płynie otrzewnowym²⁴ oraz w tkance nowotworowej pacjentek z rakiem jajnika.²⁵ Zostało dowiedzione, że w płynie otrzewnowym chorych kobiet znaczącą większość stanowiły niedojrzałe limfoidalne komórki dendrytyczne, stymulujące rozwój odpowiedzi humoralnej i tolerancję na antygeny guza.²⁴ Wyniki badania Curiela i wsp. dowiodły, że obecne w mikrośrodkowisku guza niedojrzałe limfoidalne DC wytwarzają cytokiny proangiogenne, takie jak TNF α czy IL-8, przez co mogą pośrednio wspierać proces neoangiogenezy.²⁶ Wyniki doświadczenia Wertel i wsp. wykazały obecność znacznie większego odsetka mieloidalnych komórek dendrytycznych MDC w płynie otrzewnowym chorych cierpiących na łagodne nowotwory jajnika.²⁷

RYCINA 2. Zaawansowane stadium choroby nowotworowej, bez immunoterapii



Komórki nowotworowe wydzielają liczne związki immunosupresyjne, m.in. TGFβ, IDO, iNOS, IL-10. Infiltrujące okolice guza niedojrzałe komórki dendrytyczne fagocytują antygeny nowotworowe, ale nie są w stanie przekazać limfocytom Th prawidłowego sygnału aktywującego. Powstałe przy ich udziale limfocyty pomocnicze typu Th2, wydzielające IL-4 i IL-13, są nieskuteczne w odrzuceniu guza. Napływające monocyty pod wpływem wydzielanych przez guz biologicznie czynnych związków IL-10 i TGFβ przekształcają się w makrofagi TAM. Komórki TAM, wydzielając czynnik wzrostu śródbłonnka (VEGF) stymulują proces neoangiogenezy w okolicach guza. Immunosupresyjne środowisko sprzyja powstawaniu limfocytów regulatorowych Treg hamujących przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną.

GM-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów, MCP-1 – białko chemotaktyczne dla monocytów, IFNγ – interferon γ, TNFα – czynnik martwicy nowotworu α, TGFβ – transformujący czynnik wzrostu β, VEGF – czynnik wzrostu śródbłonnka naczyń, IDO – 2,3 dioksygenaza indolaminy, iNOS – indukowana syntaza tlenu azotu

Granulocyty obojętnochłonne

Neutrofile należą do granulocytów obojętnochłonnych, a ich zasadniczą funkcją jest fagocytoza. Jako element odpowiedzi nieswoistej do aktywacji nie wymagają uprzedniego kontaktu z antygenem. Charakterystyczną cechą tych komórek jest duże, wielopłatowe jądro oraz obecność w cytoplazmie ziaren azurofilnych. Mechanizm zabijania neutrofilów związany jest z wytwarzaniem kwaśnych hydrolaz, defensyn, mieloperoksydazy oraz reaktywnych form tlenu.²⁸

W chorobie nowotworowej neutrofile mogą przyczyniać się do wzrostu agresywności nowotworu.²⁹ Werbowane do guza dzięki wydzielanej przez niego IL-8, wytwarzają szereg związków wspomagających wzrost i rozwój guza. Przypuszcza się, że charakterystyczny dla neutrofilów wybuch tlenowy i powstanie licznych

reaktywnych form tlenu w sąsiedztwie nowotworu może zwiększać liczbę wtórnych mutacji komórek guza.³⁰ Zostało dowiedzione, że wydzielane przez granulocyty obojętnochłonne enzymy przyczyniają się do degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, a tym samym ułatwiają rozsiew w organizmie komórek nowotworowych – tworzenie przerzutów.³¹ We krwi kobiet z rakiem jajnika wykazano obecność neutrofilów wytwarzających znacznie większe ilości reaktywnych form tlenu w porównaniu z neutrofilami pochodzącymi z krwi zdrowych kobiet. W badaniach *in vitro* udowodniono, że neutrofile będące w bezpośrednim kontakcie z komórkami nowotworowymi raka jajnika mogą zwiększać potencjał przerzutowy nowotworu.³² Doświadczenia Quena i wsp. dowiodły ponadto, że w raku piersi komórki nowotworowe mogą indukować w granulocytach

obojętnochłonnych syntezę onkostatyny M. Sugeruje się, że białko to może zwiększać agresywność nowotworu.³³

Pierwsza linia obrony – komórki NK

Komórki NK (natural killer) są komórkami efektorowymi, wykazującymi naturalną, spontaniczną cytotoksyczność komórkową. Zaliczane są do komórek odpowiedzi nieswoistej. Stanowią podstawowy element obrony przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej i przeciwnowotworowej.³⁴ Wytwarzają perforyny i granzymy – związki o kluczowym znaczeniu w cytolizie komórek zakażonych. Ponieważ komórki NK wykazują niezależną od przeciwciał cytotoksyczność, mogą niszczyć komórki nowotworowe we wczesnym etapie ich rozwoju.³⁵

W chorobie nowotworowej jajnika komórki NK pełnią rolę w nadzorze immunologicznym oraz w hamowaniu tworzenia przerzutów.³⁶ Znalaziono je we krwi obwodowej, w płynie otrzewnowym oraz w tkance nowotworowej pacjentek z guzem złośliwym jajnika.³⁷ U pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika obserwowano zmniejszoną zdolność cytotoksyczną komórek NK w porównaniu z komórkami NK pochodzącymi od zdrowych kobiet.^{38,39} Ponadto u pacjentek z progresją choroby nowotworowej stwierdzono znacznie niższy odsetek komórek NK w czasie wznowy choroby w porównaniu z jej początkowym stadium. Dowiedzono, że w przypadku zaawansowanego stadium raka jajnika zmienia się ekspresja molekuł sygnałowych oraz postępują uszkodzenia ogólnej odpowiedzi komórkowej.^{40,41} Wyniki badania Lutgendorf i wsp. wykazały, że dużą rolę w kształtowaniu odpowiedzi immunologicznej, a szczególnie odpowiedzi cytotoksycznej komórek NK, odgrywa psychiczne podejście chorej. Jak dowiedziono, u kobiet w dobrej kondycji psychicznej poziom aktywności cytotoksycznej komórek NK był wyższy w porównaniu z kobietami pogrążonymi w depresji spowodowanej chorobą nowotworową.⁴²

Odpowiedź immunologiczna limfocytów pomocniczych (Th) i cytotoksycznych (Tc)

Większość nowotworów złośliwych jajnika wykazuje obecność limfocytów T CD3+ infiltrujących zmienioną nowotworowo tkankę TIL (T-cell infiltrating lymphocyte).⁴² Największy odsetek TIL stanowią limfocyty pomocnicze Th (T helper) o fenotypie CD3+CD4+ oraz limfocyty cytotoksyczne CTL (cytotoxic T lymphocyte) CD3+CD8+.⁴³ Najmniej liczne, a zarazem najslabiej poznane, są supresorowe limfocyty Treg CD4+CD25+FoxP3+,⁴⁴ limfocyty Th17⁴⁵ oraz komórki pamięci immunologicznej CD3+CD45+RO+.⁴⁶

W chorobie nowotworowej limfocyty Th wykazują zdolność do rozpoznawania antygenów nowotworowych oraz przekazywania sygnału aktywującego wytwarzającym specyficzne przeciwciała limfocytom B oraz CTL. Ponadto wytwarzają one niezbędną do proliferacji i różnicowania limfocytów interleukinę 2 (IL-2) oraz inne cytokiny prozapalne: IL-12, IFN γ i TNF α .⁴⁷ Obecność tych związków w mikrośrodku guza sprzyja rozwojowi odpowiedzi typu komórkowego, której elementami efektorowymi są cytotoksyczne limfocyty CD3+CD8+. Obecne w rejonie guza CTL cechuje zdolność odróżniania i niszczenia komórek nowotworowych. Za pomocą swoistego receptora TCR (T cell receptor) CTL rozpoznają antygeny nowotworowe związane z białkami głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy I, po czym niszczą strukturę komórki nowotworowej w drodze lizy bezpośredniej (przez wydzielanie perforyn i granzymów) lub pośredniej (przez wydzielane cytokiny IFN γ , TNF α , GM-CSF [granulocyte macrophage colony-stimulating factor, czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów]).^{48,49} Należy zaznaczyć, że w warunkach fizjologicznych populacje limfocytów pomocniczych i cytotoksycznych ściśle ze sobą współpracują w wykrywaniu i eliminacji komórek nowotworowych, a wydzielane przez nie cytokiny mogą modyfikować odpowiedź immunologiczną.⁴⁹

W raku jajnika wykazano zaburzoną aktywność limfocytów T. Dowiedziono, że składniki mikrośrodowiska guza, głównie cytokiny immunosupresyjne, mogą upośledzać przeciwnowotworowe funkcje TIL przez wpływ na ekspresję markerów powierzchniowych, aktywność cytolityczną i profil wydzielanych przez leukocyty cytokin. Do najczęściej opisywanych uszkodzeń prawidłowych limfocytów należą: zredukowana ekspresja łańcucha ciężkiego CD3, zaburzona synteza kinazy tyrozynowej,^{8,41} zachwiane wytwarzanie cytokin IL-2, IFN γ , IL-4,^{41,43} zaburzenia proliferacji oraz zwiększony poziom syntezy IL-10. Jak dowiodły badania Engela i wsp.,⁵⁰ niewielki odsetek TIL wykazuje aberracje genetyczne: monosomie lub trisomie chromosomów 7 i 12.

Limfocyty regulatorowe Treg i inne rzadkie populacje limfocytów

Oprócz komórek wykazujących aktywność przeciwnowotworową w mikrośrodku raka jajnika wykazano obecność limfocytów T regulatorowych (Treg), o fenotypie CD4+CD25+FoxP3+ (forkhead box P3) i silnych właściwościach immunosupresyjnych.^{44,51} W warunkach fizjologicznych komórki te wyciszają odpowiedź immunologiczną, indukują powstanie tolerancji obwodowej i zapobiegają chorobom autoagresywnym. Sugeruje się, że obecne w raku jajnika komórki Treg mogą wyciszać lokalną reakcję immunologiczną zarówno poprzez bezpośredni kontakt komórka-komórka, jak też przez wydzielanie cytokin o działaniu immunosupresyjnym: TGF β i IL-10.⁴⁶ Dowiedziono, że obecność charakterystycznego dla limfocytów regulatorowych markera, czynnika transkrypcyjnego FoxP3, koreluje z krótkim czasem remisji i przeżycia chorych.⁵¹ Przypuszcza się, że wywołujące stan lokalnej immunosupresji limfocyty regulatorowe są w raku jajnika niekorzystnym czynnikiem prognostycznym.⁵²

Slabo zbadaną populacją w raku jajnika są limfocyty T o fenotypie CD45+RO+, zwane komórkami pa-

mieci immunologicznej. Przypuszcza się, że w przypadku nawrotów choroby nowotworowej reagują one wzmożoną proliferacją i stymulują rozwój szybkiej odpowiedzi immunologicznej. Badania Leffers dowiodły, że limfocyty T pamięci CD45+RO+, infiltrujące guzy, mają znaczenie prognostyczne. Obecność komórek T CD45+RO+ w zmienionej nowotworowo tkance warunkowała silną, długotrwałą odpowiedź immunologiczną na antygeny nowotworowe. Ponadto u pacjentek w zaawansowanym stadium choroby wysoki odsetek CD45+RO+ istotnie korelował ze zwiększoną przeżywalnością.⁴⁶

W raku jajnika znikomy odsetek leukocytów stanowią limfocyty Th17. Dotychczasowe badania potwierdzają udział tych komórek w patogenezie chorób nowotworowych.⁵³ Dotychczas niewiele wiadomo o roli komórek Th17 w patogenezie raka jajnika. Przypuszcza się, że ich obecność w tkance nowotworowej może mieć znaczenie prognostyczne.⁵⁴

Podsumowanie

Przez lata powszechnie uważano, że główną rolą układu odpornościowego człowieka jest obrona organizmu przed antygenami wirusowymi, bakteryjnymi i nowotworowymi. Zadaniem komórek immunologicznych było „wytropić i zniszczyć wroga”. O ile w przypadku bakterii i wirusów założenie to okazało się trafne, o tyle w przypadku procesu nowotworowego nie wydaje się do końca słuszne. Wieloletnie badania podłoża kancerogenezy doprowadziły do powstania nowej hipotezy, upatrującej przyczyn progresji choroby nowotworowej w lokalnie występującym, przewlekłym stanie zapalnym. Obecny stan wiedzy nie pozwala jednak jednoznacznie stwierdzić, czy faktycznie częściowo tylko sprawny układ immunologiczny jest przyczyną rozwoju nowotworów u ludzi. Wydaje się jednak zasadne, aby podstawowym elementem postępowania diagnostycznego w przypadku choroby nowotworowej była dokładna ocena statusu układu immunologicznego pacjenta.

Praca finansowana z grantu KBN # NN407038537

PIŚMIENNICTWO

1. Starska K, Łukomski M. Rola limfocytów Th i Tc w powstawaniu i progresji nowotworów głowy i szyi. *Otolaryngologia*. 2005;4:59-63.
2. Loeb LA, Loeb KR, Anderson JP. Multiple mutations and cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:776-81.
3. *Biologia molekularna w medycynie*. Elementy genetyki klinicznej. Rozdział: XVI Choroby nowotworowe. Autor Janusz A. Siedlecki.
4. Rakoff-Nahoum S. Why Cancer and Inflammation? *J Biol Med*. 2006;79:123-130.
5. Kuper H, Adami HO, Trichopoulos D. Infections as a major preventable cause of human cancer. *J Intern Med*. 2000;248:171-83.
6. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420:860-67.
7. Schottenfeld D, Beebe-Dimmer J. Chronic Inflammation: A Common and Important Factor in the Pathogenesis of Neoplasia. *CA Cancer J Clin*. 2006;56:69-83.
8. Lockhart DC, Chan AK, Mak S, et al. Loss of T-cell receptor CDzeta and T-cell function in tumor infiltrating lymphocytes but not in tumor associated lymphocytes in ovarian carcinoma. *Surgery*. 2001;129:749-56.
9. Hagemann T, Wilson J, Kulbe H, et al. Macrophages Induce Invasiveness of Epithelial Cancer Cells Via NF-κB and JNK. *J Immunol*. 2005;175:1197-205.
10. Lewis CE, Pallard JW. Distinct Role of Macrophages in Different Tumor Microenvironments. *Cancer Res*. 2006;66:605.
11. Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13:135-41.
12. Lamagna C, Aurrand-Lions M, Imhof BA. Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis. *J Leukoc Biol*. 2006;80:705-13.
13. Negus RP, Stamp GW, Hadley J, et al. Quantitative assessment of the leukocyte infiltrate in ovarian cancer and its relationship to the expression of C-C chemokines. *Am J Pathol*. 1997;150:1723-34.
14. Montavani A, Sica A, Locati M. Macrophage polarization comes of age. *Immunity*. 2005;23:344-46.
15. Negus RP, Stamp GW, Relf MG, et al. The detection and localization of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in human ovarian cancer. *J Clin Invest*. 1995;95:2391-6.
16. Sica A, Larghi P, Mancino A, et al. Macrophage polarization in tumour progression. *Semin Cancer Biol*. 2008;18:349-55.
17. Wu S, Rodabaugh K, Martinez-Maza O, et al. Stimulation of ovarian tumor cell proliferation with monocyte products including interleukin-1, interleukin-6, and tumor necrosis factor-α. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;166:997-1007.
18. Kryczek I, Zou L, Rodriguez P, et al. B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma. *J Exp Med*. 2006;203:871-81.
19. Banchemareau J, Briere F, Caux C, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:767-811.
20. Robinson SP, Patterson S, English N, et al. Human peripheral blood contains two distinct lineages of dendritic cells. *Eur J Immunol*. 1999;29:2769-78.
21. Dzionek A, Fuchs A, Szmidi P, et al. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J Immunol*. 2000;165:6037-46.
22. Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:941-52.
23. Smits HH, de Jong EC, Wierenga EA, et al. Different faces of regulatory DCs in homeostasis and immunity. *Trends Immunol*. 2005;26:123-9.
24. Wertel I, Polak G, Roliński J, et al. Myeloid and lymphoid dendritic cells in the peritoneal fluid of women with ovarian cancer. *Adv Med Sci*. 2006;51:174-7.
25. Eiselthel A, Polykyn N, Bramante-Schreiber L, et al. Expression of dendritic cells in ovarian tumors correlates with clinical outcome in patients with ovarian cancer. *Hum Patol*. 2001;32:803-7.
26. Curiel TJ, Cheng P, Mottram P, et al. Dendritic Cell Subsets Differentially Regulate Angiogenesis in Human Ovarian Cancer. *Cancer Res* 2004;64:5535-8.
27. Wertel I, Kotarski J, Roliński J, et al. Evaluation of myeloid and lymphoid dendritic cells in peritoneal fluid in women with non-malignant ovarian tumors. *Am J Reprod Immunol*. 2003;50:238-42.
28. Rosen H, Crowley JR, Heinecke JW. Human neutrophils use the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to chlorinate but not nitrate bacterial proteins during phagocytosis. *J Biol Chem*. 2002;277:30463-8.
29. Haqqani AS, Sandhu JK, Birnboim HC. Expression of interleukin-8 promotes neutrophil infiltration and genetic instability in mutant tumors. *Neoplasia*. 2000;2:561-8.
30. De Larco JE, Wuertz BRK, Furcht LT. The Potential Role of Neutrophils in Promoting the Metastatic Phenotype of Tumors Releasing Interleukin-8. *Clin Cancer Res*. 2004;10:4895-4900.
31. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971;285:1182-6.
32. Klink M, Jastrzebska K, Nowak M, et al. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro. *Scand J Immunol*. 2008;68:328-36.
33. Queen MM, Ryan RE, Holzer RG, et al. Breast Cancer Cells Stimulate Neutrophils to Produce Oncostatin M: Potential Implications for Tumor Progression. *Cancer Res*. 2005;65:8896-8904.
34. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol*. 1989;47:187-376.
35. Anderson SK. Biology of Natural Killer Cells: What Is the Relationship between Natural Killer Cells and Cancer? Will an Increased Number and/or Function of Natural Killer Cells Result in Lower Cancer Incidence? *J Nutr*. 2005;135:29108.
36. Cerwenka A, Lanier L. Natural killer cells, viruses and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2001;1:41-9.
37. Goedegebuure PS, Douville CC, Doherty JM, et al. Simultaneous production of T helper-1-like cytokines and cytolytic activity by tumorspecific T cells in ovarian and breast cancer. *Cell Immunol*. 1997;175:150-6.
38. Goedegebuure P, Zuber M, Leonard-Vidal D, et al. Reactivation of murine tumour-infiltrating lymphocytes with solid-phase anti-CD3 antibody: In vitro cytokine production is associated with in vitro efficacy. *Surg Oncol*. 1994;3:79-89.
39. Lotzova E, Savary C, Freedman R, et al. Natural immunity against ovarian cancers. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1986;9:269-75.
40. Lai P, Rabinowich H, Crowley-Nowick P, et al. Alteration in expression and function of signal-transducing proteins in tumor-associated T and natural killer cells in patients with ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. 1996;2:161-73.
41. Rabinowich H, Suminami Y, Reichert TE, et al. Expression of cytokine genes or proteins and signaling molecules in lymphocytes associated with human ovarian carcinoma. *Int J Cancer*. 1996;68:276-84.
42. Lutgendorf SK, Sood AK, Anderson B, et al. Social Support, Psychological Distress, and Natural Killer Cell Activity in Ovarian Cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:7105-13.
43. Santin AD, Hermonat PL, Ravaggi A, et al. Phenotypic and Functional Analysis of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Compared with Tumor-Associated Lymphocytes from Ascitic Fluid and Peripheral Blood Lymphocytes in Patients with Advanced Ovarian Cancer. *Gynecol Obstet Invest*. 2001;51:254-61.
44. Barnett B, Kryczek I, Cheng P, et al. Regulatory T Cells in Ovarian Cancer: Biology and Therapeutic Potential. *Am J Reprod Immunol*. 2005;54:369-77.
45. Kryczek I, Banerjee M, Cheng P, et al. Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments. *Blood*. 2009;114:1141-9.
46. Leffers N, Gooden MJM, de Jong RA, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2009;58:449-59.
47. Kowalski M. *Immunologia ogólna*. W: *Immunologia kliniczna*. Kowalski M. (red). Mediton 2002.
48. Hang ZB, Wei YQ, Wang YP, et al. Direct ultrastructural evidence of lymphocyte-mediated cancer cell lysis in microenvironment of chinese nasopharyngeal carcinoma. *Hum Pathol*. 1991;22:320-325.
49. Jakóbsiak M, Lasek W. *Immunologia nowotworów*. W: *Immunologia*. Gołąb J, Jakóbsiak M, Lasek W, Stokłosa T (red.). PWN 2007.
50. Engel H, Friedrich J, Kleespies C. Detection of chromosomal aberrations in tumor cells and tumor-infiltrating lymphocytes by molecular cytogenetics in patients with gynecological cancer. *Cancer Genet Cytogenet*. 1998;106:159-65.
51. Wolf D, Wolf AM, Rumpold H, et al. The Expression of the Regulatory T Cell Specific Forkhead Box Transcription Factor FoxP3 Is Associated with Poor Prognosis in Ovarian Cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11:8326-31.
52. Barnett JC, Bean SM, Whitaker RS, et al. Ovarian cancer tumor infiltrating T-regulatory (Treg) cells are associated with a metastatic phenotype. *Gynecol Oncol*. 2010;116:556-62.
53. Hus I, Maciąg E, Roliński J. Znaczenie limfocytów Th17 w odporności przeciwnowotworowej. *Postepy Hig Med Dośw*. 2010;64:244-50.
54. Kryczek I, Wei S, Zou L, et al. Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *J Immunol*. 2007;178:6730-33.