

COMPROMISO DEL SISTEMA INMUNE EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA

María del Carmen Arango Prado¹, María Elena Faxas García¹, Irene Álvarez Goyanez¹, Rolando Camacho Rodríguez¹, Cristina Rodríguez Padilla²

¹ Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, Ciudad de la Habana, Cuba

² Universidad Autónoma de Nuevo León, México

RESUMEN •

LA RELACIÓN SISTEMA INMUNE-CÁNCER DE MAMA ha sido evidente desde hace más de 50 años. En esta neoplasia numerosos estudios realizados en los ganglios linfáticos y en sangre periférica, revelan modificaciones de las células y elementos solubles del sistema inmune en relación con el desarrollo tumoral. Tanto los componentes de la inmunidad innata como los de la adquirida participan en los mecanismos efectores que pudieran favorecer la lisis de la célula neoplásica o promover las vías para que el tumor continúe su ciclo de proliferación. En la actualidad, la identificación de múltiples antígenos en la célula tumoral mamaria y el arsenal de bioterapia disponible hacen necesarios que se definan las características de la respuesta inmune en cada paciente en particular por la diversidad de sistemas que están implicados en la respuesta contra los tumores. El objetivo de esta fue resumir algunos aspectos relevantes de los estudios del sistema inmune realizados en pacientes con cáncer de mama.

Palabras Clave: Cáncer de mama, Inmunidad.

ABSTRACT •

The relationship between the immune system and breast cancer has been patent for more than 50 years. In this neoplasia, numerous studies carried out in the lymph nodes and in peripheral blood, reveal modifications of the cells as well as of soluble factors of the immune system in relation with tumor development. Components of the innate and acquired immunity participate in the effector mechanisms that could favor the lysis of the neoplastic cell or promote that the tumor continues its proliferation cycle. At the present time, the identification of multiple antigens in the mammary tumor cell and the available biotherapy makes necessary to define the properties of the immune response in each patient due to the diversity of systems involved in the response against the tumors. It is objective of this revision, to summarize some outstanding aspects of the studies of the immune system carried out in breast cancer patients.

Key words: Breast cancer, Immunity



Correspondencia:
Dra. María del Carmen Arango Prado
Especialista en Inmunología Clínica. Investigadora. Departamento de Inmunología Clínica
Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. 29 y E, Vedado. C.P. 10400. Ciudad de la Habana, Cuba
e-Mail: carmenap@infomed.sld.cu

ALTERACIONES EN LA RESPUESTA INMUNE DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA •

A partir de la segunda mitad del siglo XX los cirujanos comenzaron a reportar la presencia de infiltración linfoide en los tumores mamarios, suceso que sugería una participación efectiva del sistema inmune (1). Posteriormente, el estudio de los ganglios linfáticos axilares y la definición de “ganglio centinela” (GC) (2,3) permitieron precisar, que a pesar de la importancia de estas estructuras como sitios del primer encuentro entre tumor y sistema inmune, no deben ser considerados barreras absolutas contra la diseminación de células malignas, porque no siempre los mecanismos propios del sistema inmune participan eficientemente contra el tumor (4,5).

El cáncer de mama es una enfermedad que se mantiene latente por un período largo. En esa etapa, el sistema inmune puede inhibir el desarrollo de las células neoplásicas o hacer lo contrario y aceptarlas como “propias”. Por otra parte, esas células durante su crecimiento exhiben gran variabilidad antigénica, característica que no favorece una respuesta determinada y muchos tumores escapan frente a las acciones del sistema inmune (2,4,6). Mutaciones secuenciales ocurridas en el DNA de la célula tumoral inducen cambios en las concentraciones hormonales, en la producción de enzimas y citocinas, así como en la expresión de nuevos antígenos lo que posibilita que estas células transformadas escapen del control homeostático y se tornen resistentes a la destrucción mediada por los mecanismos de la respuesta inmune (4-6).

Independientemente de que los resultados varían entre los investigadores, la gran mayoría coincide en que las alteraciones del sistema inmune tienen relación con la etapa clínica de la enfermedad. Numerosos estudios clásicos reportan que en etapas iniciales de la enfermedad se encuentra conservada la respuesta de hipersensibilidad retardada cutánea a antígenos de memoria así

como normalidad en el número total de linfocitos T, y sin alteraciones de la relación CD4:CD8 en sangre periférica. Así mismo, se mantienen los valores normales de células B y de las inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM en periferia. La respuesta proliferativa de linfocitos T para mitógenos como fitohemaglutinina y concanavalina A se encuentra normal o levemente disminuida y las células asesinas naturales NK (*del inglés Natural Killer*) se conservan en número y función. Sin embargo, en los estadios avanzados de la enfermedad los parámetros anteriores se afectan con alteraciones cuantitativas y cualitativas (4,5,7-10)

AFECTACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE INNATA EN CÁNCER DE MAMA •

La inmunidad innata se distingue por utilizar receptores de la línea germinal no reordenados y por tanto carece del reconocimiento específico con restricción del complejo principal de histocompatibilidad MHC (*del inglés major histocompatibility complex*) (11,12). La respuesta innata depende de la interacción con receptores con patrones de reconocimiento y dentro de las células representativas de este tipo de inmunidad se encuentran las células NK CD3-, las células T asesinas naturales (NKT) CD3+, y los macrófagos (11-13).

Las células NK constituyen el 5% de los linfocitos y presentan capacidad efectora citotóxica mediada por exocitosis de gránulos y apoptosis mediada por Fas. Estas células se caracterizan fenotípicamente por ser CD3-CD56+ y algunas pueden expresar CD2, CD8, receptores de complemento y moléculas de adhesión. Además, expresan la molécula CD16, que constituye el receptor de baja afinidad del fragmento cristalizante (Fc) de IgG a través del cual puede mediar la función de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (14,15).

Las células NK producen interleucina (IL)-12, IFN- γ , TNF e IL-2, GM-CSF, y quimioquinas como la IL-8, la proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (MIP-1 α) y la proteína quimioatrayente de

monocitos 1 (MCP-1) entre otras, asociadas a los efectos anti-tumorales (16).

La actividad citotóxica mediada por las células NK está regulada por receptores de inhibición y de activación. Los denominados receptores de inhibición de citotoxicidad KIR (del inglés Killer inhibition receptors) reconocen MHC clase I, por lo que las células NK son capaces de identificar a los tumores mamarios que pierden moléculas MHC clase I durante la carcinogénesis (13,15,17).

Otro receptor importante lo constituye el NKG2D que reconoce células transformadas en cáncer de mama. El daño del DNA celular en lesiones pre-neoplásicas o tumores invasivos es un factor que regula a los ligandos de NKG2D, lo que explicaría que las células tumorales son reconocidas por el sistema inmune innato y como consecuencia activan la respuesta adaptativa. Los ligandos del NKG2D son inducibles debido a la transformación maligna, y se denominan MIC; se expresan como antígenos tumor asociados en tumores de mama, se liberan a la circulación como MIC solubles e inducen modulación negativa de NKG2D (18).

Clásicamente, el aumento de la función citotóxica natural se asoció a respuesta antitumoral (4, 6,8,9) y los estudios recientes reportan el incremento de la actividad NK en pacientes que no progresaron en su enfermedad (19). Otro dato de interés es que la actividad NK está, además, regulada por los estrógenos y la presencia de estos últimos puede deprimir la acción lítica (19). En la asociación cáncer-estrés, coincide menor estrés con mayor intervalo libre de enfermedad y actividad NK normal (20).

Las células NK son reguladas por otras células de la inmunidad innata como las células NKT y por citocinas del microambiente tisular. Algunas citocinas como la IL2, IL12 e IL21 median gran parte de su actividad anti-tumoral a través de la vía NKG2D (14,21). Las células NKT se caracterizan por la rápida producción de cascadas de citocinas como el interferón-gama (IFN γ) y la

IL-4, y modulan a otras células del sistema inmune, fundamentalmente a células T, NK y células dendríticas. Se describen dos poblaciones de células NKT: las NKT dependiente de CD1d y las NKT independientes de CD1d (14). Estas células son dependientes de presentación de Ags tipo glicolípidos α -GalCer a través del CD1d y una vez estimuladas muestran una actividad variable citotóxica similar a la de células NK y generan una elevada actividad LAK (14).

FALLO DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS EN LA INICIACIÓN DE LA RESPUESTA ADAPTATIVA EN CÁNCER DE MAMA •

Las células dendríticas DCs (*del inglés Dendritic cells*) son las células presentadoras más eficientes en la activación de células T en reposo y pueden presentar Ags relacionados con el cáncer de mama por tres vías diferentes: a través de moléculas MHC clase I, clase II (presentación clásica) y a través del CD1 (presentación no clásica) (22,23). Las DCs expresan, además, moléculas que intervienen en la co-estimulación T como CD80/CD86 (B 7.1, B 7.2), ligando del CD28, y la molécula CD40 la cual es el ligando del CD154 y dicha interacción es decisiva en la maduración de DCs con la posterior activación T y dirigir la respuesta específica hacia TH1 (24). Las DCs pueden ser activadas por señales inflamatorias o “de peligro” provenientes de las células tumorales mamarias y éstas a su vez activar a los linfocitos T CD4 y CD8. En cáncer de mama, las moléculas co-estimuladoras pueden estar disminuidas y desencadenar anergia. En esta entidad, se reporta que las DCs tienen disminución de la expresión de CD1a, CD83, CD80, CD86 y CD54 (25). Conjuntamente, las células dendríticas en pacientes con cáncer de mama en etapa temprana de la enfermedad, exhiben morfología de tipo inmadura y las pacientes con cáncer de mama exhiben un alto grado de apoptosis de las DC en circulación (27).

Las DCs en el GC presentan los antígenos que drenan del tumor a las células TH. En los pacientes con metástasis en GC se aprecia una mayor expresión de moléculas co-estimuladoras de

DCs como el CD83 y como consecuencia un aumento del RNAm del IFN- γ , IL-12p40, IL-10. La respuesta inmune celular relacionada con la maduración de DCs hasta TH1 es menos activa en el GC en comparación con los no centinelas en las etapas que transcurren sin metástasis (27).

COMPROMISO FENOTÍPICO Y FUNCIONAL DE LOS LINFOCITOS T Y B EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA •

La inmunidad adaptativa está representada por los anticuerpos y por los linfocitos T. Los linfocitos T pueden dividirse en citotóxicos CTL CD8+ y los linfocitos T cooperadores TH CD4+, productores de citocinas que a su vez influyen en la citotoxicidad y en la respuesta humoral. Los mecanismos efectores humorales son más limitados y radican fundamentalmente en las funciones biológicas que median los anticuerpos como la citotoxicidad dependiente de complemento citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (17).

Los linfocitos T CD4+ y CD8+, células B, macrófagos y células NK pueden formar parte del infiltrado inflamatorio tumoral y, en general, este infiltrado es heterogéneo. Más del 70% de los tumores de mama presentan infiltrado linfocítico moderado y sólo el 24% de los adenocarcinomas contienen gran cantidad de linfocitos B (TIL-B); en ese contexto, los TIL-B pueden constituir el 40% de la población total TIL. Histológicamente, los TIL-B en los tumores de mama se distribuyen en agregados IgG+ a diferencia que en el tejido normal predomina la IgA (28,29).

La mayoría de los linfocitos T citotóxicos CD8+ (CTL) son dependientes de la cooperación de los linfocitos TH CD4+. La célula TH CD4+ es fundamental en el desencadenamiento de una respuesta efectora en presencia de las células presentadoras de antígenos, fundamentalmente DCs. Las células CD4 se caracterizan por la producción de citocinas indispensables para el desarrollo de las células T citotóxicas y la amplificación de la res-

puesta inmunitaria (29). En pacientes con cáncer de mama con nódulos linfáticos metastásicos, se aprecia incremento de células CD4+ pero no de CD8+ y este resultado se relaciona con pronóstico no favorable. Los CD4+ pueden asociarse a la presencia de citocinas inhibitorias como la IL10, que estimulan la angiogénesis y el remodelamiento vascular, favoreciendo la progresión neoplásica y la diseminación. (30).

En algunos estudios, la presencia de infiltrado inflamatorio CD4+CD8+ en los nódulos linfáticos regionales se asocia a pronóstico favorable cuando no existe enfermedad metastásica (31). Estudios recientes han revelado que las pacientes con cáncer de mama presentan más células de memoria, con predominio de memoria CD8+ en relación con las efectoras CD4+ (32).

Algunos reportes indican incremento de las células B y NK en pacientes con cáncer de mama, pero después de la quimioterapia, las células CD4, CD19, CD23, CD56, CD16 y CD8 disminuyen; resulta significativo que las pacientes con incremento en el ratio CD4/CD8 tienen mayor probabilidad de responder a la quimioterapia (32).

Los linfocitos B participan en la respuesta contra el cáncer mediante la producción de anticuerpos y la mayor parte de los anticuerpos están dirigidos contra autoantígenos. Los linfocitos B en el infiltrado inflamatorio inducen liberación del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) promoviendo la angiogénesis lo que facilita la diseminación de las células neoplásicas a través de los linfáticos hacia los nódulos linfáticos regionales (33).

EL PAPEL SUPRESOR DE LAS CÉLULAS T REGULATORIAS EN CÁNCER DE MAMA •

Los linfocitos T reguladores expresan las moléculas CD25, CTLA-4, GITR, CD69, CD44, CD127 y el factor de transcripción FOXP3, que se considera el marcador por excelencia de la población

T reguladora natural (34). Las células T reguladoras se agrupan en: las células T reguladoras (Treg) naturales CD4+CD25^{high} FOXP3+, las células Treg inducidas como Tr1 (productoras de Citocinas: TGF b e IL 10) las células TH3, así como las Treg CD4+CD25^{high} desarrolladas en periférica por la conversión de células T CD4+CD25-. Estas poblaciones celulares coexisten y contribuyen a la inmunosupresión (35).

Las células Treg naturales CD4+CD25^{high} FOXP3+ se caracterizan por un estado de anergia, y por inhibir a las células T CD4+CD25-, las T CD8+, las DC, las NK, las NKT, y las B mediante el contacto células-célula (35-37). La mayoría de las T reg expresan constitutivamente la cadena α del receptor de alta afinidad para la IL2 (CD25) (38). Múltiples estudios han evidenciado una elevada infiltración de linfocitos Treg CD4+CD25^{high}, con expresión abundante de FOXP3 en el microambiente tumoral de los carcinomas ductales de mama y, paralelamente, se ha observado este fenotipo en sangre periférica, y se relaciona la acción inmunosupresora de estas células con la progresión tumoral y la resistencia a la quimioterapia (39,40). La presencia de T reguladoras naturales CD4+/CD25+ FOXP3+ se ha observado también en los ganglios linfáticos no metastáticos (38).

EL DESBALANCE Y EL PAPEL SUPRESOR DE LAS CITOCINAS EN LA REPUESTA INMUNE CONTRA TUMORES MAMARIOS •

Las células CD4 producen citocinas que definen dos poblaciones fundamentales: células TH1 (producen IL-2, IFN- γ , IL-12) y células TH2 (producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-10). Los eventos celulares mediados por TH1 en general pueden mediar efectos antitumorales ya que condicionan la proliferación y activación de macrófagos, células NK, linfocitos T, potenciación de la actividad citotóxica de CTL (41). Las células TH2 pueden ejercer efectos supresores en las células TH1 y sobre la respuesta inmune, en su totalidad (42).

En pacientes con cáncer de mama, se reportan altos niveles de IL-10 en sangre periférica, correlacionándose con mal pronóstico. En el microambiente tumoral esta citosina está asociada, positivamente, con marcadores tumorales de mal pronóstico como Bcl-2, y Bax y, negativamente, con p53, relacionándose con agresividad tumoral desde las etapas tempranas (31) por lo que la IL10 puede condicionar efectos supresores sobre la inmunidad sistémica, inhibir la respuesta de células T y propiciar la progresión favoreciendo la inducción de factores proinflamatorios y inductores de angiogénesis. (36).

En tumores de mama aparecen múltiples citocinas producidas por monocitos, macrófagos y células del estroma como la IL-6, IL-8, IL-10, INF- γ , MCP-1, MIP-1 β , TNF- α , IL-1 β y IL-13, y están inversamente correlacionadas con los receptores de estrógeno y progesterona y no con otros parámetros como la edad, el tamaño del tumor y la toma de ganglios. Las citocinas IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, MCP-1 y MIP-1 β son las más abundantes en los tumores de alto grado de malignidad y tanto la IL-8 como la MIP-1 β se relacionan con la expresión de HER2, y los tumores IL-8 positivos muestran mayor grado de vascularización; la combinación de IL-8, MCP-1 y MIP-1 β se correlaciona con infiltrado inflamatorio intenso (43).

Además, la familia de la IL-1, IL-6, IL-11, IL-18, los interferones y sus factores reguladores (IRF-1) e (IRF-2) se han encontrado en los tumores mamaros y en sitios metastáticos. Ocasionalmente, los mediadores IFN gamma, IL-6, IL-12 incrementan la actividad hormonal y estimulan la inmunidad celular (44). Las citocinas como IL-6 y TNF tienen importancia en la síntesis de estrógeno y en la carcinogénesis. También se reporta que las altas concentraciones de IL-6 e IL-8 en sangre periférica están asociadas con progresión de la enfermedad (45).

CONCLUSIONES •

En cáncer de mama, aunque no existen conclusiones definitivas sobre el comportamiento de los

mecanismos inmunológicos, numerosos estudios evidencian que en la relación inmunidad–tumor puede prevalecer un estado de supresión condicionado por múltiples factores, lo cual hace que la respuesta inmune no sea competente para poder vencer las estrategias de las células tumorales para evadir los mecanismos efectores. El conocimiento de los factores que favorecen la progresión tumoral y los que benefician al sistema inmune permitirá evaluar las potencialidades y usos de inmunoterapéuticos certeramente, sin olvidar que durante la formación del tumor, la célula neoplásica fue capaz de vencer las barreras inmunológicas, por lo que será necesario hacer énfasis donde radique la debilidad del sistema inmune y resulte en un rival vencedor frente al cáncer.

REFERENCIAS •

1. Moore OS, Foote FW. The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. *Cancer* 1949; 2: 635-642 •
2. Huang RR, Wen DR, Guo J, et al. Selective Modulation of Paracortical Dendritic Cells and T-Lymphocytes in Breast Cancer Sentinel Lymph Nodes. *Breast J* 2000; 6: 225–232 •
3. Mamounas EP, Brown A, Anderson S, et al. Sentinel node biopsy after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2694–2702 •
4. Hadden JW. Review Article The immunology and immunotherapy of breast cancer: an update. *International Journal of Immunopharmacology* 1999; 21 (2): 79-101 •
5. Kim R, Emi M, Tanabe K, Arihiro K. Immunobiology of the sentinel lymph node and its potential role for anti-tumour immunity. *Lancet Oncol* 2006; 7: 1006–1016 •
6. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity* 2004; 21: 137-148 •
7. Goust J.M. T cell marker in breast cancer patients at diagnosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1979; 12: 396-403 •
8. Faxas M.E., Expósito A.M., Vázquez A. Alteraciones de la inmunidad celular en pacientes con enfermedad mamaria benigna y maligna. *Rev Cub. Oncol* 1987; 3: 81-92 •
9. Arango MC, Llanes L., Moreno L., Faxas M.E. Respuesta citotóxica natural en pacientes con cáncer de mama. *Rev Cub. de Oncol* 1999, 15 (3): 186-192 •
10. Arango MC, Faxas ME, Pérez Y, Camacho R. Citotoxicidad Natural inducida por la activación de Linfocitos T en pacientes con Cáncer de mama. *Rev Cub. de Medicina* 2002; 41 (6): 30-37 •
11. Papazahariadou M, Athanasiadis GI, Papadopoulos E, et al. Involvement of NK cells against tumors and parasites. *Int J Biol Markers*. 2007; 22 (2): 144-153 •
12. Sfondrini L, Balsari A and Ménard S. Innate immunity in breast carcinoma. *Endocrine-Related Cancer* 2003; 10: 301–308 •
13. Moretta L., Ciccone E., Mingari M.C. Human Natural Killer Cell: origen, clonality, specificity and receptors. *Advances in Immunology* 1994, 55: 341-381 •
14. Molling JW, Kolgen W, van der Vliet HJ, Boomsma MF, Kruijzenga H, Smorenburg CH, Molenkamp BG, Langendijk JA, Leemans CR, von Blomberg BM, Schepers RJ, van den Eertwegh AJ. Peripheral blood IFN-gamma-secreting Valpha24+Vbeta11+ NKT cell numbers are decreased in cancer patients independent of tumor type or tumor load. *Int J Cancer*. 2005; 116: 87-93 •
15. Moretta L Bottino C, Pende D, Mingari MC, Biassoni R and Moretta A. Human natural killer cells: their origin, receptors and function *Eur. J. Immunol*. 2002; 32: 1205–1211 •
16. Roda JM, Parihar R, Magro C, Nuovo GJ, Tridandapani S, Carson WE 3rd. Natural killer cells produce T cell-recruiting chemokines in response to antibody-coated tumor cells. *Cancer Res*. 2006 ; 66(1):517-526 •
17. Stein MN, Shin J, Gudzowaty O, Bernstein AM, Liu JM. Antibody-dependent cell cytotoxicity to breast cancer targets despite inhibitory KIR signaling. *Anticancer Res*. 2006 ; 26 (3A):1759-1763 •
18. Spies T. Relevance of NKG2D and its ligands in tumor immunity *Cancer Immunity* 2005; 5: 10-12 •
19. Carson WE, Shapiro CL, Crespin TR, Thornton LM, Andersen BL. Cellular Immunity in Breast Cancer Patients Completing Taxane Treatment *Clinical Cancer Research* 2004;10, 3401-3409 •
20. Larson MR, Duberstein PR, Talbot NL, Caldwell C, Moynihan JA. A presurgical psychosocial intervention for breast cancer patients: psychological distress and the immune response. *J Psychosom Res* 2000; 48: 187-194 •
21. Raulet DH. The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D recep-

tor Cancer Immunity 2006, 6: 3 •

22. Cho HJ, Bhardwaj N Against the self: dendritic cells versus cancer. *APMIS*. -17. Review 2003; 111(7-8): 805 •

23. Allison JP. Blockade of T cell inhibitory signals: a new paradigm in tumor immunotherapy? *Cancer Immunity* 2005; supp 1: 1-4 •

24. Khong HT, Restifo NP. Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes. *Nat Immunol* 2002; 3: 999-1005 •

25. Kichler-Lakomy C, Budinsky AC, Wolfram R, Hellan M, Wiltschke C, Brodowicz T, Viernstein H, Zielinski CC. Deficiencies in phenotype expression and function of dendritic cells from patients with early breast cancer. *Eur J Med Res*. 2006; 11(1): 7-12 •

26. Pinzon-Charry A, Maxwell T, McGuckin MA, Schmidt C, Furnival C, Lopez JA: Spontaneous apoptosis of blood dendritic cells in patients with breast cancer. *Breast Cancer Res* 2006; 8: 5-10 •

27. Matura K, Yamaguchi Y, Ueno H, Osaki A, Arihiro K, Toge T. Maturation of dendritic cells and T-cell responses in sentinel lymph nodes from patients with breast carcinoma. *Cancer* 2006; 106: 1277-1286 •

28. Hussein MR, Hassan HI. Analysis of the mononuclear inflammatory cell infiltrate in the normal breast, benign proliferative breast disease, in situ and infiltrating ductal breast carcinomas: preliminary observations. *J Clin Pathol*. 2006; 59 (9) : 972-977 •

29. Huang AY, Castellino F, Altan-Bonnet G, Stoll S, Scheinecker C, Germain RN. Visualizing inflammatory chemokine-guided recruitment of naive CD8+ T cells to sites of antigen dependent CD4+ T cell-dendritic cell interaction in situ. *Cancer Immunity* 2006; 6 (1): 7 •

30. Llanes-Fernandez L, Alvarez-Goyanes RI, Arango-Prado Mdel C, Alcocer-Gonzalez JM, Mojarrieta JC, Perez XE, Lopez MO, Odio SF, Camacho-Rodriguez R, Guerra-Yi ME, Madrid-Marina V, Tamez-Guerra R, Rodriguez-Padilla C. Relationship between IL-10 and tumor markers in breast cancer patients. *Breast*. 2006 ;15(4):482-489 •

31. Hueman MT, Stojadinovic A, Storrer CE, Dehqanzada ZA, Gurney JM, Shriver CD, Ponniah S, Peoples GE. Analysis of naive and memory CD4 and CD8 T cell populations in breast cancer patients receiving a HER2/neu peptide (E75) and GM-CSF vaccine. *Cancer Immunol Immunother*. 2007; 56 (2):135-146 •

32. Reome JB, Hylind JC, Dutton RW, Dobrzanski MJ. Type 1 and type 2 tumor infiltrating effector cell

subpopulations in progressive breast cancer. : *Clin Immunol*. 2004; 111: 69-81 •

33. Coronella JA, Spier C, Welch M, Trevor KT, Stoepck AT, Villar H and Hersh EM Antigen-Driven Oligoclonal Expansion of Tumor-Infiltrating B Cells in Infiltrating Ductal Carcinoma of the Breast *The Journal of Immunology* 2002; 169: 1829-1836 •

34. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells *Nature Immunology* 2003; 4, 330-336 •

35. Chen W. Dendritic cells and (CD4+) CD25+ T regulatory cells: crosstalk between two professionals in immunity versus tolerance. *Front Biosci*. 2006;11: 1360-1370 •

36. Lim HW, Hillsamer P, Banham AH, Kim CH. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*. 2005;175: 4180-4183 •

37. Shiku H. Regulatory T cells in anti-tumor immune responses *Cancer Immunity* 2003; 3: 5-7 •

38. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol*. 2002; 2: 389-400 •

39. Leong PP, Mohammad R, Ibrahim N, Ithnin H, Abdullah M, Davis WC, and Seow HF. Phenotyping of lymphocytes expressing regulatory and effector markers in infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Immunology Letters*. 2006; 102: 229-236 •

40. Okita R, Saeki T, Takashima S, Yamaguchi Y, Toge T. CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral blood of patients with breast cancer and non-small cell lung cancer. *Oncol Rep*. 2005 ;14(5):1269-1273 •

41. Mosmann T.R. and Sad S. The expanding universe of T cells subsets:Th1,Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-141 •

42. Ansel KM, Djuretic I, Tanasa B, Rao A. Regulation of TH2 differentiation and IL4 locus accessibility. *Annu Rev Immunol*. 2006; 24: 607-656 •

43. Freund A, Jolivel V, Durand S, Kersual N, Chalbos D, Chavey C, Vignon F, Lazennec G: Mechanisms underlying differential expression of interleukin-8 in breast cancer cells. *Oncogene* 2004; 23:6105-6114 •

44. Nicolini A, Carpi A, Rossi G. Cytokines in breast cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006; 17(5): 325-337 •

45. Rao VS, Dyer CE, Jameel JK, Drew PJ, Greenman J. Potential prognostic and therapeutic roles for cytokines in breast cancer (Review). *Oncol Rep*. 2006;15 (1):179-185 •