

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Klára Hrabánková

Úloha indolamin 2,3–dioxygenázy v progresi nádorů a její ovlivnění při terapii
The role of indoleamine 2,3–dioxygenase in tumor progression and it's therapeutic targeting

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Milada Šírová, Ph.D.

Praha, 2018

Poděkování

Ráda bych poděkovala svojí školitelce RNDr. Miladě Šírové, Ph.D. za její rady, ochotu a pozitivní přístup při vedení bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat rodině, příteli a kamarádům, kteří mě podporovali po celou dobu mého studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 7. 5. 2018,

Klára Hrabánková

Abstrakt

Indolamin 2,3–dioxygenáza (IDO) je enzym fyziologicky exprimovaný u řady tkání a buněk, mezi které patří například tenké střevo, plíce, ženský pohlavní trakt či placenta. Jedná se o enzym účastnící se metabolismu tryptofanu, který katalyzuje limitující krok při jeho přeměně na kynurenin. IDO je důležitou součástí imunitního systému a přirozené obrany proti patogenům. Buňkami je produkován jako odpověď na zánět a má imunosupresivní funkci. Jednou z fyziologických rolí IDO je regulovat zánětlivý proces a mírnit jeho případné nežádoucí účinky. Deplece tryptofanu a přítomnost kynureninů vede k anergii efektorových T lymfocytů, aktivaci T regulačních buněk a může stimulovat dendritické buňky k diferenciaci na imunosupresivní fenotyp. Exprese IDO byla prokázána také u různých typů nádorových buněk, jako jsou akutní myeloidní leukémie, rakovina vaječníků či kolorektální karcinom. IDO je součástí procesu maligní transformace a hraje klíčovou roli při potlačení protinádorové imunitní odpovědi v těle, takže jeho inhibice může zvýšit efekt chemoterapie a také imunoterapeutických protokolů. Některé z inhibitorů již dospěly do fáze klinických testů a předběžné výsledky se zdají být povzbudivé, čímž se otevírají nové možnosti na poli terapie nádorů.

Klíčová slova

indolamin 2,3–dioxygenáza (IDO), nádorová onemocnění, suprese imunitní odpovědi, maligní transformace, inhibice IDO, léčba nádorů

Abstract

Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) is an enzyme that is physiologically expressed in many tissues including small intestine, lung, female genital tract and placenta. It is a key enzyme in metabolism of tryptophan and catalyses the first rate-limiting step in the conversion of tryptophan to kynurenine. IDO plays an important role in immune system in fighting against various pathogens. Its expression is actively induced by inflammatory mediators and it has also an immunosuppressive function. Inducible counter-regulation of inflammation is very important for controlling its potential harmful effects. Depletion of tryptophan and production of kynurenines causes local suppression of effector T lymphocytes and activation of regulatory T cells. It can also support differentiation of dendritic cells toward an immunosuppressive phenotype. IDO expression has been observed in several cancer cell types including acute myeloid leukaemia, ovarian cancer or colorectal carcinoma and plays a major role in suppression of anti-tumour immunity. Thus, the inhibition of IDO may improve the efficacy of chemotherapy and immunotherapeutical protocols. Some IDO inhibitors are currently being tested in clinical trials and preliminary results seem promising so that it may become a new anticancer strategy.

Key words

indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), cancer, suppression of immune response, malignant transformation, IDO inhibition, cancer therapy

Seznam zkratek

<i>1MT</i>	<i>1-methyltryptofan</i>
<i>AhR</i>	<i>aryl hydrocarbon receptor; receptor pro aromatické uhlovodíky</i>
<i>APC</i>	<i>antigen presenting cell; antigen prezentující buňka</i>
<i>ARG1</i>	<i>argináza 1</i>
<i>ATF4</i>	<i>activating transcription factor 4; aktivační transkripční faktor 4</i>
<i>CD</i>	<i>cluster of differentiation</i>
<i>CTLA4</i>	<i>cytotoxic T lymphocyte antigen 4; cytotoxický T lymfocytární antigen 4</i>
<i>CTLA4-Ig</i>	<i>fúzní protein cytotoxického T lymfocytárního antigenu 4 a imunoglobulinu</i>
<i>DAMPs</i>	<i>damage associated molecular patterns</i>
<i>DC</i>	<i>dendritic cell; dendritická buňka</i>
<i>EC</i>	<i>endothelial cell; endoteliální buňka</i>
<i>eIF2</i>	<i>eukaryotic initiation factor 2; eukaryotický iniciační faktor 2</i>
<i>FB</i>	<i>fibroblast</i>
<i>Foxp3</i>	<i>forkhead box P3</i>
<i>GCN2 dráha</i>	<i>general control nonderepressible 2 kinázová dráha</i>
<i>HLA</i>	<i>human leucocyte antigen</i>
<i>IDO, IDO1, INDO</i>	<i>indolamin 2,3-dioxygenáza</i>
<i>IDO2</i>	<i>indolamin 2,3-dioxygenáza 2</i>
<i>IFN-γ</i>	<i>interferon γ</i>
<i>IL-1</i>	<i>interleukin 1</i>
<i>IL-6</i>	<i>interleukin 6</i>
<i>ITIM</i>	<i>immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motive</i>
<i>Krn</i>	<i>kynurenin</i>
<i>LPS</i>	<i>lipopolysacharid</i>
<i>MDSC</i>	<i>myeloid-derived suppressor cell; supresorová buňka odvozená od myeloidní linie</i>
<i>MF</i>	<i>makrofág</i>
<i>MHC</i>	<i>major histocompatibility complex; hlavní histokompatibilní komplex</i>
<i>mRNA</i>	<i>messenger ribonucleic acid; mediátorová ribonukleová kyselina</i>
<i>mTOR dráha</i>	<i>mammalian target of rapamycin kinázová dráha</i>
<i>mTORC1</i>	<i>mammalian target of rapamycin complex 1</i>

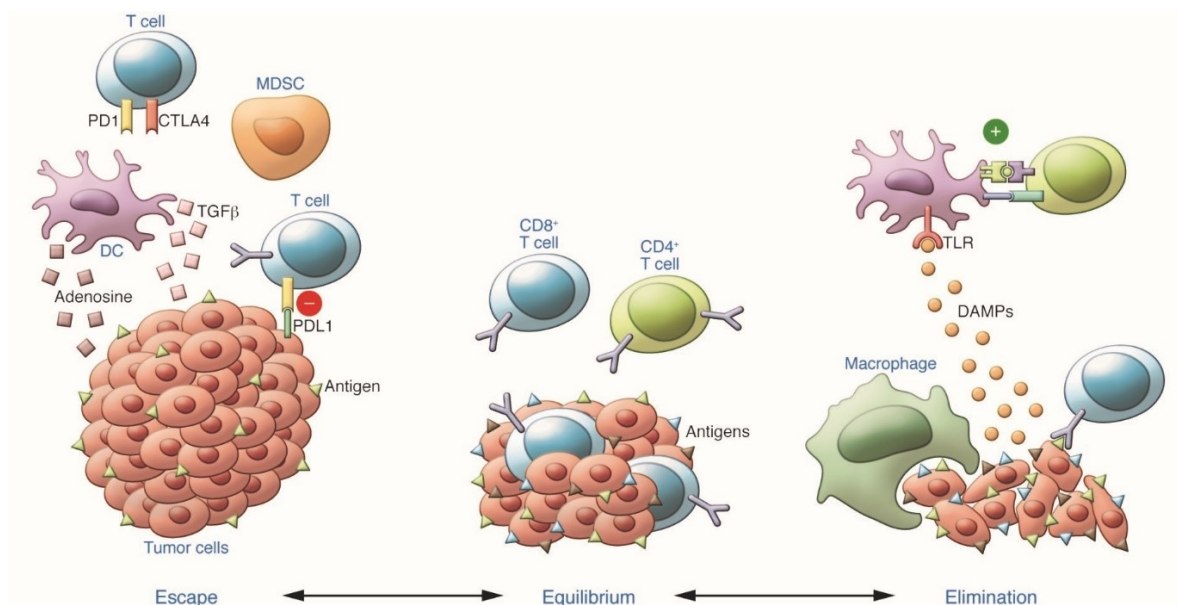
<i>mTORC2</i>	<i>mammalian target of rapamycin complex 2</i>
<i>NAD⁺</i>	<i>nikotinamidadeninukleotid</i>
<i>NK</i>	<i>natural killer; přirozený zabijed</i>
<i>OIR</i>	<i>oxygen induced retinopathy; kyslíkem indukovaná retinopatie</i>
<i>PD-1</i>	<i>programmed cell death protein 1</i>
<i>PD-L1</i>	<i>programmed death-ligand 1</i>
<i>SHP-1</i>	<i>src homology 2 domain phosphotyrosine phosphatase 1</i>
<i>SHP-2</i>	<i>src homology 2 domain phosphotyrosine phosphatase 2</i>
<i>shRNA</i>	<i>small hairpin ribonucleic acid</i>
<i>SOCS3</i>	<i>suppressor of cytokine signalling 3</i>
<i>TC</i>	<i>tumor cell; nádorová buňka</i>
<i>TDO</i>	<i>tryptofan 2,3-dioxygenáza</i>
<i>TGF-β</i>	<i>transforming growth factor β; transformující růstový faktor β</i>
<i>Th</i>	<i>helper T cell; pomocný T lymfocyt</i>
<i>TLR</i>	<i>toll-like receptor</i>
<i>Treg</i>	<i>regulatory T cell; regulační T lymfocyt</i>
<i>tRNA</i>	<i>transfer ribonucleic acid; transferová ribonukleová kyselina</i>
<i>Trp</i>	<i>tryptofan</i>

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Indolamin 2,3–dioxygenáza a další enzymy metabolismu tryptofanu.....	3
3. Fyziologické funkce IDO.....	5
4. Exprese IDO u antigen prezentujících buněk	7
5. Způsoby potlačení imunitního systému enzymem IDO.....	9
5.1. Deplece tryptofanu.....	9
5.2. Metabolity kynureninové dráhy	11
5.3. Útlum okolních antigen prezentujících buněk	12
6. Úloha IDO při onkogenezi.....	13
6.1. Exprese IDO ve spádových lymfatických uzlinách nádoru	14
6.2. Imunosuprese v nádorovém mikroprostředí	15
6.3. Význam IDO pro neovaskularizaci v místě nádoru	16
6.4. IDO a supresorové buňky odvozené z myeloidní linie	17
6.5. IDO a komplementový systém.....	17
7. Inhibice IDO jako nový způsob imunoterapie?	18
7.1. Výsledky preklinických studií některých zvířecích modelů nádorů.....	19
7.2. Klinické zkoušky inhibitorů u člověka	20
7.2.1. Epacadostat	20
7.2.2. Indoximod.....	21
7.2.3. Další testované inhibitory	21
7.2.4. IDO peptidová vakcína	22
8. Závěr	23
9. Použitá literatura	24

1. Úvod

Základní myšlenkou biologie nádoru je teorie imunní editace (obr.1). Představuje komplexní proces, kdy spolu nádor a imunitní systém interagují a navzájem se ovlivňují. Nejen, že imunitní systém brání hostitele před vznikem nádorového bujení, ale zároveň mění imunogenicitu nádoru, čímž se nádor stává odolnějším. Celý proces je složen ze tří odlišných fází: eliminace, rovnováha a únik (*elimination, equilibrium, escape*; „3E“). V prvním kroku probíhá eliminace maligních buněk, kdy složky vrozené i adaptivní imunity spolupracují na jejich rozpoznání a likvidaci. Možná i značná část nádorů je v této fázi opravdu zničena, ale některé nádorové buňky mohou změnit své vlastnosti tak, že je imunitní systém nedokáže dostatečně rychle eliminovat. Imunitní systém a nádor přejdou do stavu rovnováhy. Jedná se zřejmě o nejdelší fázi imunní editace, kdy imunitní systém sice dokáže kontrolovat růst nádoru, ale není schopen jej úplně zničit. Tento stav může trvat dlouhou dobu, někdy i po celý život jedince. Pokud se ovšem nahromadí mnoho genetických změn nebo dojde k oslabení imunity, nádorové buňky se nadobro vymknou kontrole. Ve fázi úniku se buňky začnou nekontrolovaně množit, nádor viditelně roste a dochází ke klinickým projevům nemoci (shrnutí v Schreiber, Old a Smyth 2011). Součástí tohoto dynamického procesu je i enzym indolamin 2,3–dioxygenáza (IDO), jehož úlohou v tumorigenezi se zabývá tato práce.



Obrázek 1 - Hypotéza nádorové imunní editace, kdy nádor a imunitní systém balancují mezi únikem, rovnováhou a eliminací. DC, dendritická buňka; PD-1, programmed cell death protein 1; CTLA4, cytotoxický T lymfocytární antigen; MDSC, supresorová buňka odvozená od myeloidní řady; TGF-β, transformující růstový faktor β; DAMPs, damage associated molecular patterns; TLR, toll-like receptor (převzato z Kalbasi et al. 2013)

Jak již bylo řečeno, nádory jsou i přes přítomnost specifických efektorových T lymfocytů schopné uniknout imunitnímu dohledu hostitele, takže imunitní systém není schopen účinně odpovídat na antigeny asociované s nádorem a zprostředkovat jeho likvidaci. Většinou nádorových antigenů imunitní systém rozpoznává, ale zároveň je určitým způsobem nucen k tomu je tolerovat. Experimenty, ve kterých nádorové buňky exprimují silně imunogenní cizorodé antigeny znázorňují, že si k těmto antigenům imunitní systém rychle vyvine toleranci (Sotomayor et al. 2001). Bohužel, jakmile je takto získaná tolerance jednou ustanovena, imunizace antigeny asociovanými s nádorem už může jen posílit antigenně specifickou imunosupresi (Zhou et al. 2006), což představuje obrovskou překážku účinnosti imunoterapeutických přístupů k léčbě nádorových onemocnění.

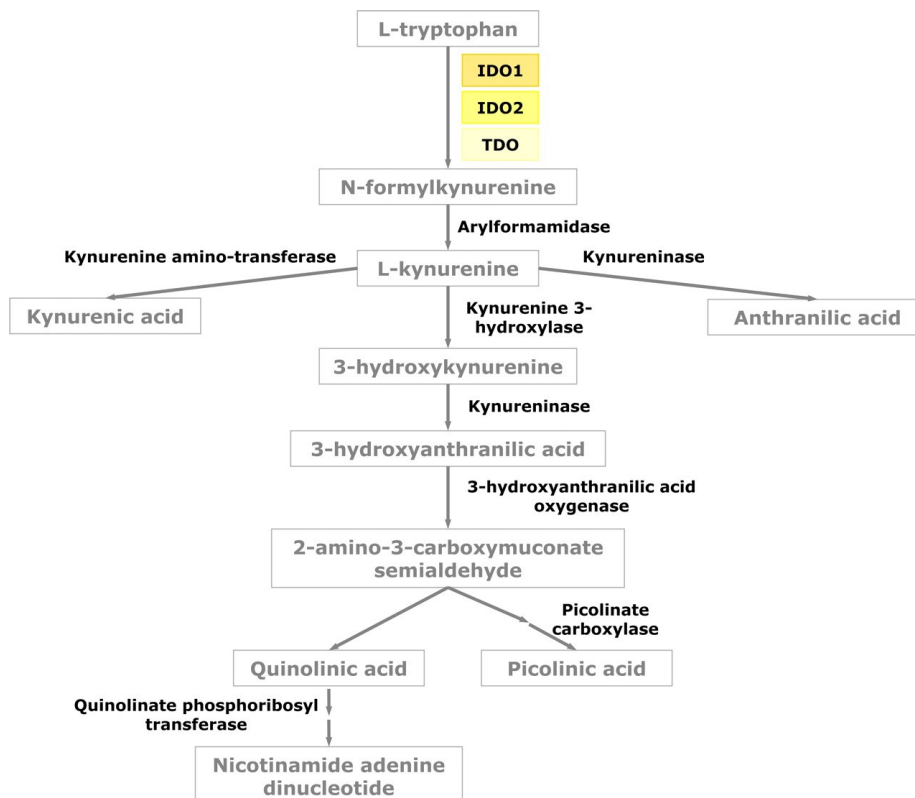
Molekulární mechanismy přispívající k toleranci nádoru imunitním systémem jsou v současnosti předmětem aktivního studia a řada z nich byla již podrobněji popsána (shrnutí v Munn a Bronte 2016). Tato bakalářská práce je zaměřena na významIDO jako imunosupresivního mechanismu přispívajícího ke vzniku nádorového onemocnění.IDO katalyzuje první krok kynureninové dráhy metabolismu tryptofanu a jak lokální deplece tryptofanu (Munn et al. 1999), tak produkce jeho imunologicky aktivních metabolitů (Frumento et al. 2002) vytváří tolerogenní prostředí podporující růst nádoru. Většina lidských nádorových liniíIDO exprimuje (Uyttenhove et al. 2003), což je často spojeno se zhoršenými projevy nemoci (Okamoto et al. 2005). Tato zjištění vedla k hypotéze, že inhibiceIDO by mohla vést ke zvýšení účinnosti nádorové terapie a zlepšení prognózy pacientů.

V dnešní době si imunoterapie získává čím dál větší pozornost při léčbě různých nádorových onemocnění a pomalu se v kombinaci s klasickou chemoterapií či radioterapií stává efektivní strategií, jak proti nádorovému bujení bojovat. V posledních letech bylo vyzkoušeno mnoho imunoterapeutických protokolů, od podávání imunomodulačních interleukinů, přes peptidové vakcíny až k moderním inhibitorům kontrolních bodů imunitní reakce (*checkpoint inhibitors*) (shrnutí v Makkouk a Weiner 2015). Zacielení terapie naIDO se zdá být ideální taktikou, jak zvýšit účinnost imuno-onkoterapie i klasických léčebných přístupů. Dalším z cílů této práce je rámcově shrnout předběžné výsledky z klinických studií inhibitorůIDO, které nasvědčují tomu, že má tato inhibice do budoucna léčebný potenciál.

2. Indolamin 2,3–dioxygenáza a další enzymy metabolismu tryptofanu

IDO je stejně jako tryptofan 2,3–dioxygenáza (TDO) hemoprotein zapojený do kynureninové dráhy katabolismu tryptofanu (obr.2). Existují i další minoritní cesty degradace tryptofanu, ale kynureninová dráha je zodpovědná za rozklad až 95 % tryptofanu v těle. Odehrává se zejména v játrech, ale probíhá i extrahepatálně. Kynureninová dráha kontroluje hladinu tryptofanu v plasmě, syntézu jaterního hemu, dostupnost tryptofanu pro syntézu cerebrálního serotoninu a produkuje imunoregulační a neuroaktivní metabolity, kyselinu nikotinovou a oxidovaný nikotinamidadenindinukleotid (NAD⁺) (shrnutí v Badawy 2017).

TDO byl popsán v krysích játrech již v 50. letech 20. století jako první z enzymů katalyzujících limitující krok při přeměně tryptofanu na kynurenin (Knox a Mehler 1950). Později, v roce 1967, byl z tenkého střeva králíka izolován enzym IDO, u kterého byla prokázána stejná aktivita (Yamamoto a Hayaishi 1967). Úvodním limitujícím krokem kynureninové dráhy, který se ukázal být katalyzován oběma enzymy, je oxidativní štěpení pyrrolového jádra a porušení indolové struktury tryptofanu vložím molekulárního kyslíku mezi druhý a třetí uhlík této aminokyseliny (Hayaishi et al. 1957).



Obrázek 2 - Kynureninová dráha metabolismu tryptofanu, její enzymy a vznikající metabolity; IDO, indolamin 2,3–dioxygenáza; TDO, tryptofan 2,3–dioxygenáza; IDO2, indolamin 2,3–dioxygenáza 2 (převzato z Curti et al. 2009)

Rozdíl mezi IDO a TDO spočívá především v různé tkáňové expresi a odlišné substrátové specifitě, přestože jsou oba enzymy lokalizovány v buněčné cytoplasmě. TDO se vyznačuje vysokou specifitou pro L formu tryptofanu a nachází se zejména v játrech (Knox a Mehler 1950); později byl objeven například v kůži (Ishiguro et al. 1993) či mozku (Haber et al. 1993). Naopak IDO není úzce specifický a dokáže štěpit D i L izomery tryptofanu, 5-hydroxytryptofan, tryptamin či serotonin (Shimizu et al. 1978). U lidí je exprimován v různých tkáních kromě jater. Mohou to být plíce, tenké střevo, placenta a ženský pohlavní trakt či sekundární lymfatické orgány (Yamazaki et al. 1985). IDO se od TDO liší i svou proteinovou strukturou; IDO je samostatným monomermem (Sugimoto et al. 2006), zatímco TDO se vyskytuje ve formě tetrameru (Zhang et al. 2007).

Novým hráčem v metabolismu tryptofanu se ukázal být nedávno popsán indolamin 2,3-dioxygenáza-like protein neboli indolamin 2,3-dioxygenáza 2 (IDO2). U člověka je kódován genem *IDO2* strukturně podobným a sousedícím s genem *IDO1*, který kóduje enzym IDO, v literatuře někdy označovaný jako IDO1 či INDO. Oba geny leží na osmém chromozomu jak u myši, tak u člověka. Enzym TDO je kódován genem *TDO2*. Geny *IDO1* a *TDO2* jsou si fylogeneticky nepříbuzné, což však neplatí v případě *IDO2*, který vznikl pravděpodobně duplikací genu pro IDO ještě před vznikem čtyřnožců. Protein IDO2 je exprimován v myších ledvinách, nadvarlatech a také játrech. Má stejnou enzymatickou aktivitu a dokáže metabolizovat podobnou škálu substrátů jako IDO; jsou si navíc strukturně velmi podobné (Ball et al. 2007). Lidské IDO a IDO2 mají ale rozdílnou enzymovou kinetiku a také různé specifické inhibitory, což vede k závěru, že IDO a IDO2 mohou mít *in vivo* odlišnou roli a nejsou tedy funkčně redundantní (Meininger et al. 2011).

3. Fyziologické funkce IDO

Ačkoliv IDO a TDO katalyzují stejnou reakci, rozdílná tkáňová exprese odráží jejich odlišnou fyziologickou funkci. TDO je hlavním enzymem kontrolujícím homeostázu tryptofanu a rozkládá většinu tryptofanu přijatého v potravě (shrnuto v Badawy 2017). IDO hraje důležitou roli v imunitním systému, ale zároveň je jedním z mechanismů maligní transformace buněk přispívajícím ke vzniku rakovinného bujení a nádory jej běžně exprimují (Uyttenhove et al. 2003). V současnosti přibývají důkazy, že v progresi nádorových onemocnění mohou hrát roli i další dva enzymy katabolizující tryptofan. Exprese TDO byla prokázána u různých typů lidských nádorů, kterým pomáhá v růstu, podobně jako IDO (Pilotte et al. 2012). IDO2 byl detekován u některých nádorových linií (Witkiewicz et al. 2009), avšak jeho aktivita a zapojení do protinádorové imunity zatím nejsou objasněny.

IDO je součástí přirozené obrany těla proti mikroorganismům. V 70. letech 20. století Yoshida a Hayaishi prokázali zvýšenou expresi tohoto enzymu v plicích myši po aplikaci bakteriálního endotoxinu (Yoshida a Hayaishi 1978) a infekci virem chřipky (Yoshida et al. 1979). V roce 1984 byla deplece tryptofanu popsána jako jeden z mechanismů, kterým imunitní systém bojuje proti namnožení protozoárního parazita *Toxoplasma gondii* v lidských fibroblastech (Pfefferkorn 1984). Infekce bakteriemi, parazity a viry způsobuje silnou zánětlivou odpověď, jejíž součástí je produkce interferonu γ (IFN- γ), kterým jsou buňky stimulovány k expresi IDO (Takikawa et al. 1988). Jelikož je tryptofan pro přežití patogenů v těle nezbytný, antimikrobiální efekt IFN- γ je výsledkem indukce enzymu IDO. Mezi lidské patogeny citlivé na IDO-dependentní nedostatek tryptofanu patří například bakterie rodu *Streptococcus* (MacKenzie et al. 1998) či *Chlamydia* (Byrne et al. 1986) a viry jako herpes simplex (Adams et al. 2004) nebo virus spalniček (Obojes et al. 2005). Výsledky četných studií jsou jasným potvrzením, že jedním z fyziologických úkolů IDO je likvidace škodlivých patogenů cestou deplece esenciální aminokyseliny tryptofanu.

Jedním z orgánů s vysokou expresí IDO je placenta. V 90. letech 20. století byla u myši poprvé popsána imunosupresivní funkce tohoto enzymu, a to právě díky studiu metabolismu placentálního tryptofanu. Enzym IDO je vysoce exprimován v myším trofoblastu a pokud byl myši nesoucí semialogenní plod podán inhibitor IDO, vyvolalo to prudkou T buněčnou odpověď a rychlou rejekci plodu (Munn et al. 1998). Savčí placenta má tedy díky katabolismu tryptofanu možnost potlačit aktivitu T lymfocytů, čímž přispívá ke svému postavení imunologicky privilegované tkáně.

Supresivní účinky IDO jsou velmi důležité v procesu kontroly zánětu imunitním systémem. IDO je běžně exprimován antigen prezentujícími buňkami (*antigen presenting cell*; APC), makrofágy (Munn et al. 1999) a dendritickými buňkami (*dendritic cell*; DC) (Hwu et al. 2000), ale v případě zánětu může být indukován například u střevních epitelálních buněk (Barceló-Batllori et al. 2002) nebo kožních fibroblastů (Varga et al. 1995). Katabolismem tryptofanu dokáží buňky produkující IDO mírnit lokální projevy zánětu a zablokování či odstranění kynureninové dráhy se projeví výrazným zhoršením zánětlivé reakce jak u myších modelů s chronickou infekcí (Romani et al. 2008), tak při reakci štetu proti hostiteli (Jaspersen et al. 2008). Produkce IDO je podpořena prozánětlivými cytokiny, například interleukinem 1 (IL-1), a také toll-like receptorovými (TLR) ligandy, například lipopolysacharidem (LPS), které synergizují s účinkem IFN- γ , silného induktoru exprese IDO (Hissong et al. 1995). Mohlo by se zdát paradoxní, že prozánětlivé signály vyvolávají imunosupresivní odpověď, ale je to pravděpodobně způsob, jakým se předchází nežádoucí nadměrné aktivaci T lymfocytů v místě lokálního zánětu. Konečně, v nedávné době bylo popsáno, že kynureninová dráha a její metabolity selektivně potlačují prozánětlivou Th17 odpověď (de Araújo et al. 2017), čímž se posunuje poměr pomocných Th17 a regulačních T lymfocytů (Treg) ve prospěch Treg, které mohou mírnit zánět a zabránit případným patologickým důsledkům. V tomto kontextu přibývá důkazů, že IDO je také důležitým negativním regulátorem autoimunitních onemocnění. V experimentálních modelech lidské roztroušené sklerózy (Yan et al. 2010), revmatoidní artritidy (Szántó et al. 2007) či diabetu 1. typu (Fallarino et al. 2009) hraje IDO klíčovou roli při navození tolerance a rozvinutí nemoci, s čímž je třeba počítat při vývoji léčiv pro prevenci a terapii těchto onemocnění.

Nedávno se objevil nový pohled na biologii IDO. Mimo to, že rozkládá tryptofan a produkuje kynureniny, funguje jako signální molekula. Neenzymatická aktivita IDO je u DC vyvolána imunosupresivním transformujícím růstovým faktorem β (*transforming growth factor* β ; TGF- β), který indukuje fosforylaci ITIMs (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs*) na regulační doméně molekuly IDO, na které se váží fosfatázy SHP-1 a SHP-2 (*Src homology 2 domain phosphotyrosine phosphatase 1/2*), čímž je pozitivně ovlivněna dlouhodobá exprese IDO (Grohmann et al. 2011). Na druhou stranu, přítomnost prozánětlivého interleukinu 6 (IL-6) stimuluje interakci proteinů SOCS3 (*suppressor of cytokine signalling 3*) s těmi stejnými fosforylovanými ITIMs, což vede k degradaci IDO v proteazomu (Orabona et al. 2008). V závislosti na okolnostech tedy IDO kooperuje s molekulami, které vyvolají buď dlouhodobou supresivní nebo naopak zánětlivou odpověď.

4. Exprese IDO u antigen prezentujících buněk

IDO může být exprimován jako odpověď na zánět různými buněčnými typy, například střevním epitelem nebo fibroblasty, avšak z hlediska nádorové imunity je nejvýznamnější exprese IDO u profesionálních APC. U člověka byla IDO-zprostředkovaná suprese T buněčné proliferace prokázána nejprve ve studii za použití makrofágů diferencovaných z monocytů (Munn et al. 1999) a ta byla posléze následována experimenty, které se zaměřily na fyziologicky významnější, od monocytů odvozené DC (Hwu et al. 2000).

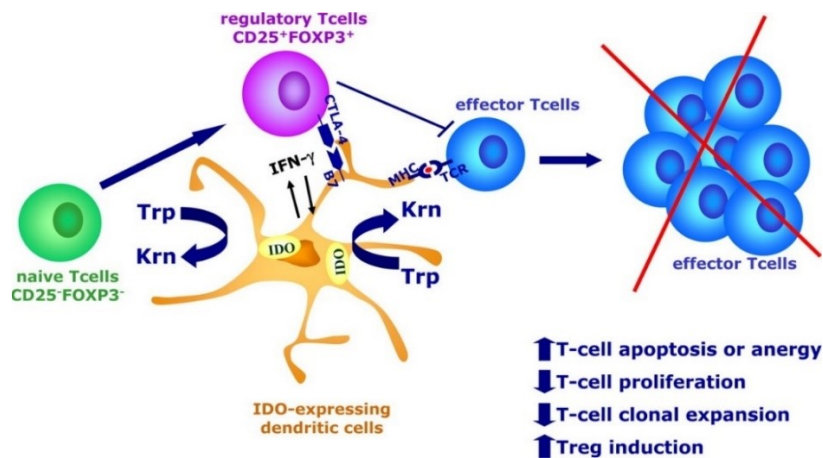
Grohmann a kolegové přišli s hypotézou, že *in vivo* jsou pouze určité skupiny DC schopné exprimovat IDO. Teorie byla založena na myších experimentálních modelech, které ukázaly, že aktivita enzymu je po ošetření buněk IFN- γ *in vitro* vyvolána přednostně u CD8 α^+ podtypu DC (Grohmann et al. 2000). Při imunohistochemické detekci proteinu IDO *in vivo* bylo zjištěno, že ošetření fúzním proteinem, tvořeným cytotoxickým T lymfocytárním antigenem 4 a imunoglobulinem (CTLA4-Ig), zvyšuje hladinu funkčního IDO pouze u určitých subtypů myších APC ve slezině. Taková odezva byla pozorována primárně u plasmacytoidní B220 $^+$ a CD8 α^+ populace slezinných DC (Mellor et al. 2003), což následně potvrdily i experimenty se slezinnými DC, které byly izolovány z myši vystavených CTLA4-Ig a nesly právě tyto markery (Mellor et al. 2004). Autoři došli k závěru, že mezi IDO-kompetentní APC myši patří podmnožina DC nesoucí B220 a CD8 α , ale možná i další subtypy DC a makrofágů, které je třeba dále specifikovat.

Je důležité říci, že i v případě, že je APC schopná exprese IDO, skutečná přítomnost či absence funkčního enzymu závisí na specifických signálech přijímaných z okolí. Některé imunogenní podněty mohou snižovat produkci IDO u buněk, které by jej normálně exprimovaly. Na druhou stranu, tolerogenní stimuly mohou způsobit expresi IDO u buněk, které jej běžně neprodukují. Při vazbě rozpustného CTLA4-Ig na B7-1/B7-2 receptor na povrchu CD8 $^-$ DC, se jinak imunogenní DC stanou tolerogenními, protože se v nich iniciuje imunosupresivní katabolismus tryptofanu. Naproti tomu aktivace CD40 u tolerogenních CD8 $^+$ DC blokuje jejich supresivní aktivitu a dělá z nich buňky schopné imunogenní antigenní prezentace. To znamená, že povaha T buněčných ligandů může měnit původní funkci DC tak, aby vyhovovala konkrétním potřebám imunitního systému v dané situaci (Grohmann et al. 2003).

IDO tedy funguje jako mediátor tolerogenních účinků fúzního proteinu CTLA4-Ig (Grohmann et al. 2002). Pokud bychom k němu chtěli hledat analogii v biologických systémech, našli bychom ji u Treg lymfocytů, které na svém povrchu exprimují

CTLA4 protein (obr.3). Důkazem je pozorování myších $CD4^+$ Treg lymfocytů nesoucích povrchový CTLA4, které vazbou na B7-1 (CD80) nebo B7-2 (CD86) receptor IDO-kompetentních DC stimuluji expresi tohoto enzymu (Mellor et al. 2004). Obdobně je tomu i u lidí, kde je pro iniciaci exprese funkčního IDO opět nutná vazba B7-1/B7-2 molekul na povrchu IDO^+ DC s CTLA4 na povrchu $CD4^+$ Treg lymfocytů (Munn et al. 2004).

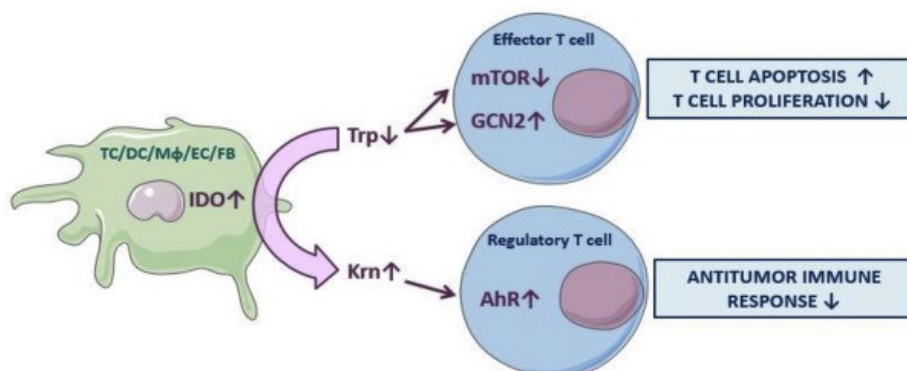
V některých případech je schopnost Treg lymfocytů potlačit odpověď $CD8^+$ T buněk zcela závislá na jejich schopnosti indukovat katabolismus tryptofanu v DC (Mellor et al. 2004). Takové výsledky naznačují, že Treg lymfocyty pravděpodobně vysílají signál ve prospěch exprese IDO a ten se naopak stává jedním z efektorových mechanismů, jakým mohou Treg uplatnit svou imunosupresivní funkci. A navíc, IDO-dependentní degradace tryptofanu je nutná pro plazmacytoidními DC indukovanou diferenciaci nových Treg lymfocytů z naivních $CD4^+$ T buněk (Chen et al. 2008) a stimulaci již aktivních Treg lymfocytů k supresorové aktivitě (Sharma et al. 2007). Všechna pozorování dohromady podporují hypotézu, že může existovat zpětnovazebná smyčka zahrnující interakce mezi IDO-kompetentními DC a Treg lymfocyty, které se navzájem kontrolují.



Obrázek 3 – IDO-zprostředkovaná degradace tryptofanu pomocí DC. Prozánětlivé signály, například $IFN-\gamma$, stejně jako signalizace pomocí T lymfocytů indukují expresi IDO u DC. CTLA4 na buněčné membráně Treg váže B7-1/B7-2 receptor na povrchu DC a aktivuje u nich IDO-dependentní tolerogenní mechanismy. Expese IDO vede k inhibici funkce i proliferace efektorových T buněk a tvorbě nových $CD25^+$ $Foxp3^+$ Treg buněk z naivních $CD25^-$ $Foxp3^-$ T lymfocytů; Krn, kynurenin; Trp, tryptofan; $IFN-\gamma$, interferon γ ; CTLA4, cytotoxický T lymfocytární antigen; IDO, indolamin 2,3-dioxygenáza; MHC, hlavní histokompatibilní komplex; TCR, T buněčný receptor (převzato z Curti et al. 2009)

5. Způsoby potlačení imunitního systému enzymem IDO

Molekulární mechanismy, kterými IDO dokáže regulovat imunitní reakce, jsou stále předmětem intenzivního studia. Možnosti imunoprese enzymem IDO zahrnují jak přímé ovlivnění T lymfocytů zprostředkované deplecí tryptofanu, tak vliv metabolitů kynureninové dráhy (obr.4).



Obrázek 4 - Mechanismy imunoprese enzymem IDO, který katalyzuje počáteční krok katabolismu tryptofanu kynureninové dráhy. V důsledku toho se buňkám nedostává tryptofanu, takže dojde k inhibici mTOR a aktivaci GCN2 dráhy, což vede k anergii efektorových T buněk. Zároveň se produkuje bioaktivní sloučenina kynurenin, který se váže na AhR, čímž se stimuluje diferenciace Treg lymfocytů; TC, nádorová buňka; DC, dendritická buňka; MF, makrofág; EC, endoteliální buňka; FB, fibroblast; IDO, indolamin 2,3-dioxygenáza; Trp, tryptofan; Krn, kynurenin; mTOR, mammalian target of rapamycin dráha; GCN2, general control nonderepressible kinase 2 dráha; AhR, receptor pro aromatické uhlovodíky (převzato z Brochez et al. 2017)

5.1. Deplece tryptofanu

Historicky prvním popsaným IDO-dependentním mechanismem inhibice T lymfocytů byla deplece tryptofanu. Již dříve bylo pozorováno, že vysoká koncentrace tryptofanu v médiu ruší antimikrobiální účinky IDO (Pfefferkorn 1984). Pozdější studie poskytly důkaz, že nadměrná dávka tryptofanu brání také IDO-dependentní inhibici T buněk (Mellor et al. 2004, Munn et al. 1999). Aktivace myších i lidských T lymfocytů při nedostatku tryptofanu *in vitro* vede k zastavení buněčného cyklu v G1 fázi (Lee et al. 2002, Munn et al. 1999); takto aktivované buňky jsou navíc náchylnější ke smrti apoptózou (Lee et al. 2002).

T lymfocyty mohou detekovat nízkou hladinu tryptofanu v prostředí dvěma signálními drahami citlivými na koncentraci aminokyselin. První z nich začíná aktivací GCN2 (*general control nonderepressible 2*) kinázy, která patří mezi kinázy odpovídající na stresové podmínky, v tomto případě vyvolané nedostatkem tryptofanu (Munn et al. 2005). GCN2 obsahuje kinázovou a regulační doménu, která váže nenabitě, deacetylované molekuly transferové RNA (*transfer RNA*; tRNA). GCN2 dráha slouží jako senzor buněčného hladovění, takže nedostatek jakékoli aminokyseliny způsobí, že regulační doména naváže deacetylovanou tRNA, čímž se aktivuje doména kinázová (Dong et al. 2000) a výsledkem je fosforylace eukaryotického iniciačního faktoru 2 (*eukaryotic initiation factor 2*; eIF2). Fosforylovaný eIF2 blokuje translaci většiny mediátorových RNA (*messenger RNA*; mRNA) na ribozomech, ale selektivně podpoří translaci několika malých transkriptů, kterým je například aktivační transkripční faktor 4 (*activating transcription factor 4*; ATF4) (Harding et al. 2000). Tyto faktory zahajují transkripci řady dalších genů, které u CD8⁺ T lymfocytů vyvolají zastavení buněčného cyklu a funkční anergii. T buňky s cíleným přerušením GCN2 signální dráhy již nejsou citlivé k působení IDO; u buněk nedochází k útlumu proliferace ani nevstupují do stavu anergie (Munn et al. 2005). Tato dráha navíc stimuluje naivní CD4⁺ T lymfocyty k diferenciaci na regulační fenotyp (Fallarino et al. 2006) a aktivuje imunosupresivní funkci Treg buněk (Sharma et al. 2007). GCN2 odpovídá i na nedostatek dalších aminokyselin, nejen tryptofanu. Také nízká koncentrace L-argininu způsobená aktivitou enzymu argináza I (ARG1) aktivuje GCN2 signální dráhu, která má na T lymfocyty podobný antiproliferační efekt a může tak podpořit aktivitu IDO (Rodriguez et al. 2007).

Druhým způsobem signalizace při nedostatku aminokyselin je mTOR (*mammalian target of rapamycin*) kinázová dráha, která je inhibována nízkou koncentrací volného tryptofanu (Metz et al. 2012). Dráha dostala jméno podle svého inhibitoru rapamycinu a v buňce může regulovat celou řadu procesů od buněčného metabolismu, přes proliferaci až k autofágii (shrnuto v Laplante a Sabatini 2009). Signalizace probíhá pomocí dvou odlišných multiproteinových komplexů. Jsou to k rapamycinu citlivý mTORC1 (*mTOR complex 1*) a mTORC2 (*mTOR complex 2*), který je vůči němu netečný (Loewith et al. 2002). Modifikované CD4⁺ T lymfocyty postrádající mTOR signalizaci nejsou schopné diferenciaci v pomocné lymfocyty Th1, Th2 ani Th17, takže tyto naivní mTOR-deficientní CD4⁺ T buňky diferencují ve Foxp3⁺ Treg lymfocyty (Delgoffe et al. 2009). Navíc, pokud dojde k aktivaci CD4⁺ Th1 buněčných klonů za přítomnosti rapamycinu, jsou převedeny do stavu funkční anergie (Powell et al. 1999). Ztráta mTOR signalizace má vliv i na naivní CD8⁺ T lymfocyty.

Postrádají-li buňky mTORC1 signály, nejsou schopné diferenciace v efektorové CD8⁺ T lymfocyty. Na druhou stranu, pokud je inaktivován mTORC2 komplex, přeměnu naivních CD8⁺ v efektorové T buňky to nijak významně neovlivní, ačkoliv mají tendenci k diferenciaci spíše v paměťové CD8⁺ T lymfocyty (Pollizzi et al. 2015).

5.2. *Metabolity kynureninové dráhy*

V některých experimentálních modelech se zdají být nejdůležitějšími prostředky k potlačení imunitního systému toxické metabolity katabolismu tryptofanu. Myší thymocyty a CD4⁺ T buněčné klony jsou *in vitro* citlivé k meziproductům metabolismu tryptofanu, chinolinové a 3-hydroxyantranilové kyselině, které u nich vyvolávají apoptózu. Zajímavé je, že takto indukovaná apoptóza zasahuje pouze Th1 lymfocyty, zatímco aktivita Th2 lymfocytů zůstává nedotčena (Fallarino et al. 2002). Autoři přišli s myšlenkou, že aktivitaIDO by mohla přispívat k udržování poměru Th1 a Th2 lymfocytů v imunitním systému a ovlivňovat imunopatologické stavy zapříčiněné nerovnováhou mezi těmito dvěma populacemi pomocných T buněk. Stejně tak lidské CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocyty podléhají účinkům bioaktivních látek vzniklých z tryptofanu. Sloučeniny kynurenin, 3-hydroxykynurenin, pikolinová kyselina a 3-hydroxyantranilová kyselina mají na aktivované T buňky antiproliferační a cytotoxický efekt, kterým mohou být zasaženy nejen T lymfocyty, ale například i přirození zabíječi (*natural killer*; NK) (Frumento et al. 2002, Terness et al. 2002). Molekulární podstata signálních drah, kterými jsou buňky schopné detekovat a odpovídat na kynureninové metabolity, není zatím dobře prostudována, takže nelze lépe definovat jejich další vliv na různé buněčné populace.

Dnes je známo, že kynurenin produkovaný na základěIDO-dependentní dráhy katabolismu tryptofanu se váže na receptor pro aromatické uhlovodíky (*aryl hydrocarbon receptor*; AhR) (Mezrich et al. 2010). AhR je ligandem aktivovaný transkripční faktor původně identifikovaný jako receptor pro xenotoxiny. Imunologický význam AhR může být různý. Endogenní i exogenní ligandy mohou mít rozmanitý vliv na odlišné populace lymfocytů v závislosti na afinitě k AhR, délce vazby na receptor a dalších faktorech ovlivňujících tuto signalizaci (shrnuto v Esser et al. 2009). Jak se zdá, kynurenin působí v roli ligandu AhR imunosupresivně. Signalizace prostřednictvím AhR stimuluje diferenciaci Foxp3⁺ Treg lymfocytů (Mezrich et al. 2010) a podporuje vznik tolerogenního fenotypu DC (Quintana et al. 2010). A nejen to, aktivace AhR je důležitá pro samotnou expresi funkčního enzymuIDO v DC (Vogel et al. 2008), z čehož vyplývá, že vazba kynureninu na AhR může

představovat mechanismus, jakým DC reagují na hladinu kynureninu v prostředí a osa kynurenin-AhR by mohla fungovat jako autokrinní signál potřebný pro indukci exprese IDO.

S ohledem na výsledky těchto studií se otevírá nová možnost terapeutického využití přirozeného či uměle vyrobeného L-kynureninu, který může přispět k navození tolerance vůči transplantovaným orgánům (Bauer et al. 2005) nebo snížení tkáňového poškození způsobeného infekcí (Romani et al. 2008).

5.3. Útlum okolních antigen prezentujících buněk

Další možností suprese imunitní odpovědi prostřednictvím IDO je ovlivnění blízkých, IDO neexprimujících profesionálních APC. Bylo popsáno, že IDO-kompetentní DC dokáží přímo potlačit odpovědi T buněk na antigeny, které jsou prezentovány sousedícími nesupresivními IDO⁻ APC. Tento efekt suprese okolních buněk (*bystander suppression*) byl pozorován jak *in vitro*, tak *in vivo*, kde malé populace IDO⁺ DC buněk účinně potlačují všechny odpovědi T buněk na určitý antigen, přestože je tento antigen prezentován několika různými IDO⁻ APC. Je důležité zdůraznit, že IDO⁺ DC působí ve specificky definovaném lokálním kontextu, ovlivní pouze blízké buňky a nemají rozsáhlejší systémový efekt. Mechanismy, které umožňují potlačit aktivitu sousedících T lymfocytů je třeba dále objasnit. Útlum okolních buněk může být způsoben lokálním vyčerpáním tryptofanu, produkcí kynureninů nebo imunoregulačními cytokiny. Každá z těchto možností může přispět k potlačení okolních T lymfocytů odpovídajících IDO⁻ APC, které jim prezentují antigeny. Lze předpokládat, že úkolem IDO je udržet supresivní charakter v mikroprostředí dané tkáně a potlačit odpovědi i k antigenům, které by byly za normálních okolností prezentovány jako imunogenní (Munn et al. 2004).

6. Úloha IDO při onkogenezi

Únik před hostitelským imunitním systémem je rozhodujícím krokem pro vznik nádoru. K poznání jednoho z mnoha mechanismů onkogeneze výrazně přispěli Uyttenhove s kolegy, kteří ukázali, že většina lidských maligních nádorových linií exprimuje IDO. U myšího experimentálního modelu popsali nádory s vysokou mírou exprese IDO, které účinně unikají imunitnímu dohledu hostitele, protože degradace tryptofanu v mikroprostředí vede k inhibici T buněčné odpovědi proti nádorovým antigenům. Na druhou stranu, pokud se jedná o nádor, který exprimuje malé množství či vůbec žádný enzym IDO, imunitní systém nádorové buňky snadno rozpozná a likviduje (Uyttenhove et al. 2003).

Tato zjištění naznačují, že úroveň exprese IDO v nádorových buňkách může být využita pro odhad prognózy nádorových onemocnění. Okamoto a jeho tým takto zkoumali možný vztah mezi mírou exprese IDO u rakoviny vaječníků serózního typu a celkovým přežitím, přičemž zjistili, že množství IDO exprimované v nádorech negativně koreluje s délkou života pacientek (Okamoto et al. 2005). Exprese IDO je obvykle spojena se špatnou prognózou; ať už u pacientek postižených karcinomem vaječníků nebo nádory děložního hrdla (Inaba et al. 2010), tak například u akutní myeloidní leukémie (Chamuleau et al. 2008).

Mechanismů přispívajících k toleranci nádoru imunitním systémem je mnoho. Mohou působit buď v nádorovém mikroprostředí nebo na klíčových místech, kde se buňky imunitního systému setkávají s nádorovými antigeny, což jsou v případě solidních tumorů spádové lymfatické uzliny. V současnosti již máme důkazy, které popisují IDO jako součást tolerogenních mechanismů odehrávajících se ve prospěch nádoru, ať se jedná o znemožnění efektorovým T lymfocytům zabíjet nádorové buňky (Uyttenhove et al. 2003) či podpoření imunosupresivní aktivity Treg lymfocytů (Sharma et al. 2007).

IDO se může účastnit těchto procesů dvěma způsoby, buď je exprimován hostitelskými APC (Hwu et al. 2000, Munn et al. 1999), které pohlcují a na svém povrchu vystavují nádorové antigeny, a nebo je exprimován přímo nádorovými buňkami (Uyttenhove et al. 2003), které potlačují aktivitu efektorových T lymfocytů přímo v nádorovém mikroprostředí. Vystává zde tedy otázka, zda je pro růst nádoru rozhodující exprese IDO vlastními buňkami nádoru či buňkami hostitelovými, jako jsou například IDO-kompetentní DC nacházející se v nádorovém mikroprostředí a lymfatických uzlinách. Dá se ale předpokládat, že nádorové a hostitelské IDO-kompetentní buňky spolupracují na vytvoření imunosupresivního prostředí, které je pro růst nádoru klíčové.

6.1. *Expresse IDO ve spádových lymfatických uzlinách nádoru*

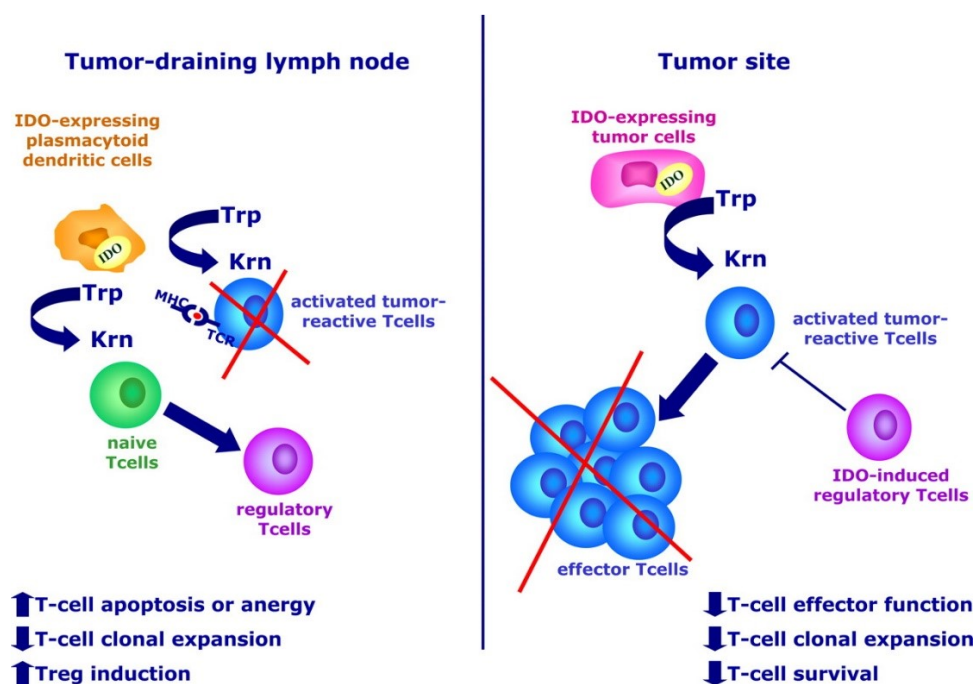
Naivní T buňky rozpoznávají nádorové antigeny primárně prostřednictvím jejich prezentace hostitelskými APC, spíše než přímou prezentací peptidů samotnými nádorovými buňkami (Mierlo et al. 2004). Antigenní prezentace klidovým T lymfocytům se typicky odehrává ve spádových lymfatických uzlinách nádoru a vede k aktivaci nádorově specifických T lymfocytů, u kterých může v některých případech dojít k navození tolerance vůči nádorovým antigenům a potlačení imunitní odpovědi (Sotomayor et al. 2001). Vzhledem k tomu, že většina nádorových antigenů je skutečně nejprve prezentována ve spádových lymfatických uzlinách v okolí nádoru, není pochyb o tom, že zde dochází k významnému ovlivnění protinádorové imunitní odpovědi (Cochran et al. 2006).

IDO je exprimován ve spádových lymfatických uzlinách nádorů lidských (Lee et al. 2003) i myších (Munn et al. 2004). U člověka není specifický IDO-kompetentní buněčný typ působící v lymfatických uzlinách plně charakterizován. Je ale zřejmé, že jde obvykle o hostitelské buňky, které do uzlin migrují a často vykazují morfolonii plazmacytoidních DC (Lee et al. 2003). U myši jsou imunosupresivní buňky exprimující IDO ve spádových lymfatických uzlinách fenotypově podobné plazmacytoidním CD11c⁺ B220⁺ DC a navíc koexprimují CD19 marker typický pro B buněčnou linii (Munn et al. 2004). Podobné CD19⁺ plazmacytoidní DC byly pozorovány také u řady nenádorových modelů, u nichž byla indukována imunosuprese, například ošetřením CpG oligonukleotidem (Mellor et al. 2005). Vše nasvědčuje tomu, že CD11c⁺ B220⁺ CD19⁺ fenotyp je tou hledanou IDO-kompetentní podmnožinou DC působící nejen ve spádových lymfatických uzlinách nádoru.

Bylo prokázáno, že IDO⁺ DC z nádorových spádových lymfatických uzlin *in vitro* potlačují T buněčnou odpověď a po přenosu do naivních myší, které se nikdy nesetkaly s daným antigenem, indukují u T lymfocytů anergii právě vůči antigenu prezentovanému přenesenými DC (Munn et al. 2004). Takový způsob suprese v nádorových lymfatických uzlinách může probíhat buď přímo mezi antigen prezentující IDO⁺ DC a nádorově specifickou T buňkou nebo může jít o útlum odpovědi T lymfocytů na antigeny prezentované sousedícími APC (Munn et al. 2004). IDO-dependentní katabolismus tryptofanu je také důležitý pro aktivaci klidových Treg lymfocytů (Sharma et al. 2007) a diferenciaci nových Treg z naivních CD4⁺ T buněk (Chen et al. 2008). Z výsledků je patrné, že IDO-kompetentní hostitelské DC, které se nachází ve spádových lymfatických uzlinách nádoru, mohou napomáhat lokálnímu potlačení imunitní odpovědi na nádorové antigeny a vytvoření systémové tolerance vůči těmto antigenům (obr.5).

6.2. Imunosuprese v nádorovém mikroprostředí

Dalším potenciálním místem aktivity IDO je samotné nádorové mikroprostředí. Dnes není pochyb o tom, že celá škála lidských maligních linií přímo IDO exprimuje (Uyttenhove et al. 2003). Jak bylo již zmíněno výše, exprese IDO nádorovými buňkami často koreluje se špatnou klinickou prognózou karcinomu vaječníků (Okamoto et al. 2005), melanomů (Weinlich et al. 2007), nádorů tlustého střeva (Brandacher et al. 2006), ale i dalších typů nádorových onemocnění. Není zatím jasné, zda zhoršená prognóza ve srovnání s pacienty, jejichž nádorové buňky IDO neprodukují, odráží imunosupresivní účinky enzymu nebo obecnější změnu v biologii nádoru, která je spojena s expresí IDO. Nicméně, na základě experimentálních modelů je rozumné předpokládat, že přímá produkce IDO nádorovými buňkami dokáže vytvořit účinné imunosupresivní mikroprostředí (obr.5) a nádorové buňky samy tlumí specifickou protinádorovou odpověď (Uyttenhove et al. 2003).



Obrázek 5 - Ve spádových lymfatických uzlinách nádoru IDO⁺ DC anergizují efektorové T buňky reagující na antigeny prezentované přímo IDO⁺ DC i sousedícími APC. IDO-dependentní DC mohou aktivovat Treg a řídit diferenciaci nových Treg z naivních CD4⁺ T lymfocytů. Stejně tak v nádorovém prostředí mohou buňky exprimující IDO tlumit efektorové T lymfocyty a stimulovat Treg k supresorové aktivitě; Trp, tryptofan; Krn, kynurenin; IDO, indolamin 2,3-dioxygenáza; MHC, hlavní histokompatibilní komplex; TCR, T buněčný receptor (převzato z Curti et al. 2009)

IDO může být exprimován konstitutivně nádorovými buňkami jako součást genetických změn spojených s maligní transformací, jakou je například ztráta *Bin1* genu, pod jehož kontrolou se IDO nachází (Muller et al. 2005). Jelikož lze u mnoha nádorových buněčných linií indukovat IDO pomocí prozánětlivých mediátorů jakým je například IFN- γ (Takikawa et al. 1988), exprese IDO může být sekundárně vyvolána v nádorových či hostitelských buňkách stromatu jako odezva na zánětlivé cytokiny produkované v počáteční fázi odpovědi hostitele proti nádoru (shrnutí v Schreiber, Old a Smyth 2011).

6.3. Význam IDO pro neovaskularizaci v místě nádoru

Neoangiogeneze neboli tvorba nových cév z již existující sítě kapilár je pro růst tumoru a tvorbu metastáz zcela zásadní. Angiogenní faktory nejsou ve větší míře produkovány, dokud nejsou potřeba k tvorbě nových cév ve fyziologických procesech jako jsou reprodukce, embryogeneze, orgánová diferenciaci nebo oprava tkání při zranění či zánětu. Během tumorigeneze je nicméně tvorba nových cév stimulovaná, a to především díky produkci angiogenních molekul v rámci nádorového mikroprostředí (shrnutí v Hoff a Machado 2012).

Jednou z angiogenních molekul by mohl být i enzym IDO, jelikož je exprimován jako odpověď na prozánětlivé cytokiny, produkované mimo jiné v prostředí nádoru. Ve prospěch této hypotézy hovoří experimenty provedené na myších s nádory plic, u kterých vyřazení genu pro IDO znamenalo výrazné zmenšení vaskularizace plic a také snížení produkce prozánětlivého cytokinu IL-6 (Smith et al. 2012).

Další studie ukázala, že metastázy v plicích IDO-deficientních myši mají sníženou vaskularizaci a jejich vznik je zpomalen v porovnání s *wild-type* fenotypem. Další část studie pracovala s modelem kyslíkem indukované retinopatie (*oxygen induced retinopathy*, OIR), běžně používaným ke studiu vaskularizace, aby bylo možné ohodnotit dopad ztráty IDO na tvorbu nových cév v nenádorovém prostředí. Podle očekávání se v rohovce u myši postrádajících IDO v porovnání s *wild-type* kontrolami projevilo výrazné snížení neovaskularizace (Mondal et al. 2016).

Následovaly experimenty testující hypotézu, že účinky IDO jsou kontrolovány rovnováhou mezi prozánětlivými cytokiny IFN- γ a IL-6. Potvrdilo se, že IDO funguje jako negativní kontrola antiangiogenního účinku IFN- γ . Vyřazení genu pro IFN- γ v IDO-deficientní myši způsobí obnovení neovaskularizace u OIR i metastatických experimentálních modelů. Na druhou stranu, vyřazení genu pro IL-6 se projeví sníženou

tvorbou nových cév v obou zmíněných modelech, podobně jako při defektu IDO. To znamená, že vliv IDO na neovaskularizaci je přímo závislý na IFN- γ , přičemž ztráta IDO se v tomto ohledu podobá ztrátě IL-6. Tyto dva zánět regulující cytokiny kontrolují, respektive jsou kontrolovány IDO, čímž se podtrhuje význam propojení IDO a zánětu v nádorovém mikroprostředí. V každém případě, neovaskularizace úzce souvisí s celkovým přežitím myši s plicními metastázami. V tomto ohledu by tedy léčba inhibitory IDO mohla mít negativní vliv i na nádorovou neovaskularizaci, což je potřeba brát v úvahu při budoucím vývoji takovýchto látek (Mondal et al. 2016).

6.4. IDO a supresorové buňky odvozené z myeloidní linie

Supresorové buňky odvozené od myeloidní buněčné linie (*myeloid-derived suppressor cells*; MDSC) jsou další z významných imunosupresivních buněčných populací přítomných v nádorovém mikroprostředí. V současnosti není vztah mezi IDO a MDSC detailně prostudován. Zdá se, že IDO může významně přispět k aktivaci MDSC a jejich migraci do nádorového mikroprostředí, pravděpodobně prostřednictvím mechanismu závislého na Treg lymfocytech. Ve prospěch této hypotézy hovoří studie, která ukazuje, že je exprese IDO u lidských melanomů spojena s intenzivní infiltrací MDSC do nádoru. Přidání selektivního inhibitoru IDO *in vivo* potlačí imunosupresi udržovanou nádorem tak, že poklesne počet MDSC i Treg infiltrujících nádor, přičemž se potlačí i jejich imunosupresivní funkce (Holmgaard et al. 2015). U člověka byly dokonce popsány buňky fenotypově shodné s MDSC, které *in vitro* exprimují vysoké hladiny funkčního IDO a tím zajišťují útlum efektorových T lymfocytů (Yu et al. 2013).

6.5. IDO a komplementový systém

IDO-dependentní dráha metabolismu tryptofanu byla v nedávné době spojena s kontrolou aktivace komplementového systému v rámci nádoru. Přesný mechanismus tohoto propojení není zatím prozkoumán, ale v případě myších nádorů mozku byla blokáda IDO zásadní pro aktivaci komplementu v důsledku radiochemoterapie. Samotná chemoterapie ani radioterapie nezpůsobí iniciaci komplementové kaskády, ale po zařazení inhibice IDO dojde k její aktivaci, a to má za následek prodloužení celkového přežití léčených myši (Li et al. 2014). V tuto chvíli je nutné provést více studií na to, aby bylo možné objasnit přesnou povahu tohoto propojení.

7. Inhibice IDO jako nový způsob imunoterapie?

Možností, jak zablokovat IDO, je hned několik. Za prvé je možné provést *knockout* neboli inaktivaci genu, jak to ve svém výzkumu IDO provedli například Holmgaard a kolektiv. V tomto případě jsou obě alely genu pro IDO nefunkční, tím pádem nedochází k tvorbě enzymu (Holmgaard et al. 2013). Také je možné využít shRNA (*small hairpin RNA*) k zastavení ribozomální translace mRNA transkriptu pro IDO. Doprava shRNA do buňky se děje pomocí vektoru, například bakterie *Salmonella typhimurium*, nesoucího pro IDO specifický rekombinantní shRNA plazmid. V místě nádoru dojde k uvolnění plazmidu, naštípání mRNA a umlčení exprese IDO (Blache et al. 2012). Nejčastějším způsobem inhibice IDO je ale využití malé molekuly blokující enzymatickou aktivitu IDO. Vývoj takové látky, která by účinně inhibovala IDO bez závažnějších vedlejších účinků, je pro léčbu lidských nádorových onemocnění více než žádoucí.

V průběhu posledních desetiletí bylo mnohokrát dokázáno, že kompetitivní inhibitor 1-methyltryptofan (1MT) nebo genetické modifikace buněk zamezující expresi IDO vedou u experimentálních modelů k zastavení růstu nádorů spolu s vyvoláním protinádorové imunitní odpovědi. Většina preklinických studií využívala k inhibici IDO racemickou směs L i D izomerů 1MT a nebylo příliš jasné, která z izoform je vhodnější imunomodulační agens. Přímé porovnání stereoizomerů *in vivo* v myších experimentálních modelech ukázalo, že D forma 1MT lépe brání T buněčné supresi stimulované IDO-kompetentními DC, takže je vhodnějším prostředkem k posílení protinádorové imunitní odpovědi při kombinované immunochemoterapii (Hou et al. 2007).

Nicméně, inhibice IDO coby samostatný léčebný zásah často nedokáže, stejně jako většina imunoterapeutických protokolů, způsobit úplnou eradikaci nádoru a zabránit progresi onemocnění. Z tohoto důvodu je úloha látek inhibujících IDO směřována spíše k tomu zvýšit účinnost chemoterapeutik či jiných imunomodulátorů, přičemž některé z těchto kombinací měly v preklinických testech slibné výsledky (Holmgaard et al. 2013, Muller et al. 2005).

Ve studiích se nejčastěji vyskytují dvě látky, indoximod (1-methyl-D-tryptofan) a epacadostat (INCB024360), ale objevují se i pokusy o vývoj zcela nových sloučenin blokujících aktivitu IDO. Z předběžných výsledků klinických zkoušek se toxicita inhibitorů jeví jako nízká, dokonce i při trvalém podávání, což je pro terapeutické využití atraktivní. Mezi nejběžnějšími vedlejšími účinky léčby se objevují únava, anémie, hyperglykémie, infekce, dušnost, bolesti břicha a nevolnost. Jde většinou o méně závažné problémy, což je opět z pohledu léčby pozitivní (Beatty et al. 2017, Soliman et al. 2016). Na druhou stranu,

zatím nebyl publikován dostatek výsledků klinických studií na to, abychom mohli provést celkové zhodnocení těchto léčebných strategií.

7.1. Výsledky preklinických studií některých zvířecích modelů nádorů

První pokusy zaměřit se na IDO v rámci imunoterapie byly provedeny na několika zvířecích modelech. Prvním popsáním kompetitivním inhibitorem IDO byl 1MT, který vykazoval protinádorovou aktivitu u myši, kdy byly do podkoží injikovány různé IDO⁺ nádorové linie (Uyttenhove et al. 2003). Muller a kolektiv poprvé zaznamenali, že kombinace cytotoxického agens s malou molekulou inhibitoru IDO může vyvolat regresi nádoru, který je vůči léčbě samotným chemoterapeutikem odolný. Jako experimentální model jim posloužila MMTV-*Neu* myš, obecně ustálený model rakoviny prsu. Na základě experimentů přišli s myšlenkou, že inhibice IDO může v obecném měřítku vést ke zlepšení účinnosti chemoterapie nádoru (Muller et al. 2005).

Inhibice IDO se dá kombinovat nejen s chemoterapií, ale také s imunoterapeutiky. Holmgaard a kolektiv jako první demonstrovali, že *knockout* IDO se u myši ošetřené protilátkou proti CTLA4 projeví výrazným zpomalením růstu melanomu a zvýšením celkového přežití ve srovnání s *wild-type* fenotypem. Stejný efekt byl pozorován také u protilátek zaměřených proti molekulám PD-1 (*programmed cell death protein 1*) a PD-L1 (*programmed death-ligand 1*). Autoři se pokusili určit, zda je kombinace protilátky a inhibice IDO aplikovatelná kromě melanomů také na další nádory, které přirozeně exprimují IDO. Zkoumali, zda je léčba anti-CTLA4 protilátkou ipilimumab a IDO inhibitorem 1MT dostatečná k vyvolání rejekce experimentálních nádorů, které buď přirozeně exprimují vysoké hladiny IDO, nebo jsou k jeho nadměrné produkci uměle stimulovány. V obou případech byla použita kombinace anti-CTLA4 a 1MT výrazně účinnější, než samotná anti-CTLA4 monoterapie. Kombinovaná léčba vedla k pomalejšímu růstu nádorů a lepšímu celkovému přežití než samostatná monoterapie. Na základě výsledků autoři vyvodili, že inhibicí IDO lze podpořit účinek T buněčných imunoterapií (Holmgaard et al. 2013).

Jedna z nedávných studií přichází s novou strategií systémové blokace IDO ve spojení s lokální radioterapií a imunoterapií, kterou je intratumorální aplikace CpG oligonukleotidů. Ta totiž prostřednictvím TLR9 stimuluje vrozenou i adaptivní imunitu, ale může paradoxně vyvolat i expresi imunosupresivního enzymu IDO (Mellor et al. 2005). Z dosavadních výsledků se zařazení inhibice IDO do této léčby ukazuje jako účinný prostředek ke snížení

progrese nádoru a omezení imunosupresivních mechanismů, včetně Treg lymfocytů, v nádorovém mikroprostředí. Trojitá kombinace radiace, CpG imunoterapie a inhibice IDO vyvolá systémovou protinádorovou odpověď, brání tvorbě metastáz a zvyšuje šanci pacientů na přežití. Pilotní studie byly provedeny na myších modelech a později byl tento způsob terapie ověřen v klinických zkouškách na psech. Z experimentů je patrné, že trojitě kombinovaná léčba potlačuje intratumorální imunosupresi, vyvolává silnou imunitní odpověď a navíc má poměrně nízkou nežádoucí toxicitu (Monjazeb et al. 2016).

7.2. *Klinické zkoušky inhibitorů u člověka*

Řada sloučenin používaných k inhibici IDO byly nebo právě jsou testovány v první či druhé fázi klinických zkoušek. Některé látky se dostaly dokonce do třetí fáze klinických testů v kombinaci s moderní imunoterapií či klasickou léčbou. V současnosti probíhá několik desítek klinických studií s účelem vyhodnotit bezpečnost a účinnost zásahů zaměřených proti IDO u pacientů s různými typy nádorových onemocnění (<http://www.clinicaltrials.gov>).

7.2.1. *Epacadostat*

Prvním ze dvou nejpoužívanějších inhibitorů IDO je orálně podávaný epacadostat (známý také jako INCB024360). Studie, u kterých byly zveřejněny předběžné výsledky, poskytly základní informace o bezpečnosti a účinnosti epacadostatu u různých onkologických onemocnění. Prvotní studie (NCT01195311) byla provedena za účelem určení snášenlivosti, farmakokinetiky a farmakodynamiky tohoto přípravku. Do studie bylo zařazeno 52 pacientů s různými pokročilými malignitami, kteří dostávali 50–700 mg epacadostatu perorálně dvakrát denně během doby 28 dní, až do progrese onemocnění či projevů toxicity. U všech pacientů bylo pozorováno výrazné snížení poměru kynureninu vůči tryptofanu v plasmě a 15 pacientů dosáhlo stabilizace nemoci. Epacadostat byl obecně dobře tolerován i ve vysokých dávkách a neprojevila se žádná přímá korelace mezi množstvím léku a toxicitou. Autoři stanovili doporučenou dávku pro monoterapie na 600 mg dvakrát denně (Beatty et al. 2017).

Další z klinických zkoušek (NCT01604889) testovala ipilimumab a epacadostat u pacientů s metastatickým melanomem. Sedmi pacientům bylo podáváno 300 mg látky epacadostat dvakrát denně plus ipilimumab intravenózně v množství 3 mg/kg každé 3 týdny. Po vysazení léčby dosáhlo šest ze sedmi stabilizace nemoci. Druhá část testů probíhala se skupinou osmi pacientů a po prvním hodnocení bylo u šesti z nich zaznamenáno zmenšení

nádoru. U tří pacientů došlo ke dlouhodobé stabilizaci nemoci. Na základě předběžných výsledků autoři studie soudí, že kombinace epacadostat a ipilimumab má potenciál ke zlepšení efektu léčby protilátkou (Gibney et al. 2014). V současnosti též přibývá dat z klinických testů inhibitoru epacadostat v kombinaci s anti-PD-1 protilátkami pembrolizumab a nivolumab u pacientů s pokročilými stádii různých nádorových onemocnění, jako jsou kolorektální karcinom, rakovina hlavy a krku či nemalobuněčný karcinom plic (Gangadhar et al. 2015, Perez et al. 2017). Ve většině případů je inhibitor spolu s protilátkou pacienty dobře přijímán.

7.2.2. Indoximod

Druhým běžně používaným inhibitorem IDO je orálně podávaná látka indoximod (označovaná jako 1-methyl-D-tryptofan nebo NLG8189). První lidská klinická studie (NCT00567931) zahrnovala pacienty s různými pokročilými malignitami, kterým byla podávána postupně se zvyšující dávka léku až do množství 2000 mg dvakrát denně. Indoximod byl bezpečný ve všech dávkách, až po ty nejvyšší. Nejlepším výsledkem byla dlouhodobá stabilizace nemoci u pěti pacientů z 48 testovaných (Soliman et al. 2016).

Následující studie (NCT01191216) testovala indoximod, jako prostředek k podpoře terapeutického účinku docetaxelu, mikrotubulárního jedu, který je široce využíván pro léčbu různých novotvarů. Tato studie zahrnovala 27 pacientů s metastatickými nádory. Za účelem stanovení maximální tolerované dávky indoximodu v kombinaci s docetaxelem bylo pacientům podáváno 300–2000 mg indoximodu dvakrát denně a 60–75 mg/m² docetaxelu každé 3 týdny. Z dvaadvaceti hodnocených pacientů, čtyři zaznamenali částečnou odezvu na léčbu a u devíti se nemoc stabilizovala. Autoři doporučili dávku 1200 mg indoximodu dvakrát denně v kombinaci s 75 mg/m² docetaxelu každé 3 týdny pro testování ve druhé klinické fázi (Soliman et al. 2014), kterou později zahájili. V nedávné době byly spuštěny klinické testy (NCT02073123) s cílem vyhodnotit bezpečnost a účinnost kombinace látky indoximod s *checkpoint inhibitory* u pacientů s metastatickými melanomy (Kennedy et al. 2014), ale výstupní data zatím nebyla publikována.

7.2.3. Další testované inhibitory

Mezi momentálně testované inhibitory IDO patří látka navoximod (známá také pod označením NLG919 či GDC-0919). V klinické studii testující bezpečnost této sloučeniny

v rámci monoterapie (NCT02048709) se zatím neprojevila závažná toxicita (Nayak et al. 2014). Navíc léčba (NCT02471846), která kombinuje navoximod s anti-PD-L1 protilátkou atezolizumab, je pacienty obecně dobře přijímána (Burris et al. 2017). BMS-986205 je účinný selektivní inhibitor IDO s příznivým farmakokinetickým a farmakodynamickým účinkem, jehož vliv na progresi nádorových onemocnění je v tuto chvíli studován (NCT02658890) (Siu et al. 2017). Několik dalších sloučenin inhibujících aktivitu IDO se nachází v různých fázích vývoje, ale informace o jejich účinnosti dosud nebyly zveřejněny.

7.2.4. IDO peptidová vakcína

Alternativní přístupy k léčbě nádorů exprimujících enzym IDO by mohly vyřešit případnou vrozenou či získanou rezistenci vůči známým inhibitorům IDO, což je do budoucna třeba brát v úvahu. Nedávno byly zveřejněny výsledky první fáze klinické studie, která hodnotí bezpečnostní a terapeutický profil peptidové vakcíny založené na IDO (NCT01219348). Do testování bylo zahrnuto 15 jedinců s metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic, kteří dospěli ke stabilizaci onemocnění při standardní léčbě chemoterapií. Všem byl subkutánně podáván peptid odvozený od IDO v kombinaci s imiquimodem, adjuvantní látkou působící na základě vazby na TLR7. Vakcína byla bezpečná a nebyly pozorovány žádné závažné nežádoucí účinky. Jeden pacient zaznamenal výraznou regresí jaterních metastáz a šest pacientů dosáhlo dlouhodobé stabilizace nemoci. A navíc, celkové přežití očkovaných HLA-A2 pozitivních jedinců bylo výrazně prodlouženo ve srovnání se skupinou pacientů, kteří byli kvůli nesprávnému sérotypu hlavního histokompatibilního komplexu ze studie vyloučeni. Většina pacientů zařazených do studie vyvinula CD8⁺ T lymfocyty specifické pro IDO a ve srovnání s předchozím stavem se u nich snížilo množství cirkulujících Treg v krvi (Iversen et al. 2014). Z čehož plyne, že nejen farmakologické inhibitory, ale i jiné způsoby inhibice IDO, mohou poskytnout pacientům s nádorovým onemocněním určitý klinický přínos.

8. Závěr

Imuno-onkoterapie v posledních letech dospěla do bodu, kdy je možné dosáhnout významných a klinicky přínosných výsledků, byť jen u určitého počtu pacientů. Otázkou stále zůstává, jak léčbu zdokonalit takovým způsobem, aby pacient dosáhl co nejintenzivnější protinádorové odpovědi a dlouhodobé stabilizace nemoci. Úspěšná imunoterapie by měla zahrnout několik různorodých strategií. Mezi klíčové kroky se řadí potlačení tolerance vůči tumoru vytvářené a udržované především Treg buňkami, nalezení správných nádorových antigenů, zajištění jejich prezentace vedoucí k aktivaci T lymfocytů a samozřejmě poskytnutí dostatečných adjuvantních a imunostimulačních signálů k indukci efektivní imunitní odpovědi.

Jak je popsáno v této bakalářské práci,IDO pomáhá nádoru uniknout před imunitním dohledem hostitele hned několika způsoby, což z něj dělá potenciální cíl pro kombinovanou imuno-onkoterapii. IDO v rámci nádorového mikroprostředí ovlivňuje jak zánět, tak antigenní prezentaci a zároveň vytváří tolerogenní prostředí. Navzdory tomu má samotná léčba cílená na snížení aktivity IDO malý význam, výrazně však zvyšuje efekt takzvaných *checkpoint inhibitorů*. Protilátky specifické vůči PD-1/PD-L1 spolu s inhibitory IDO, zejména pak látkou epacadostat, mají u lidských nádorových onemocnění velký terapeutický potenciál. Některé z těchto kombinací již vstoupily do třetí fáze klinických testů. Aktuálním tématem je pak vývoj nových selektivních inhibitorů IDO, stejně jako molekul cílených proti IDO2 nebo TDO, dalším tryptofan katabolizujícím enzymům.

V každém případě, propojení imunosupresivních drah spolupracujících v nádorovém mikroprostředí je velmi komplexní a ovlivněné řadou faktorů. Objasnění role IDO v rámci těchto mechanismů může pomoci k lepšímu pochopení biologie nádoru a poznání efektivního způsobu, jakým ovlivnit aktivitu IDO v rámci protinádorové terapie.

9. Použitá literatura

U publikací označených * se jedná o přehledové články.

Adams, O., Besken, K., Oberdörfer, C., MacKenzie, C.R., Takikawa, O. and Däubener, W. 2004. Role of Indoleamine-2,3-Dioxygenase in Alpha/Beta and Gamma Interferon-Mediated Antiviral Effects against Herpes Simplex Virus Infections. *Journal of Virology*, 78(5), pp.2632–2636.

de Araújo, E.F., Feriotti, C., Galdino, N.A. de L., Preite, N.W., Calich, V.L.G. and Loures, F.V. 2017. The IDO–AhR Axis Controls Th17/Treg Immunity in a Pulmonary Model of Fungal Infection. *Frontiers in Immunology*, 8.

*Badawy, A.A.-B. 2017. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *International Journal of Tryptophan Research : IJTR*, 10.

Ball, H.J., Sanchez-Perez, A., Weiser, S., Austin, C.J.D., Astelbauer, F., Miu, J., McQuillan, J.A., Stocker, R., Jermin, L.S. and Hunt, N.H. 2007. Characterization of an indoleamine 2,3-dioxygenase-like protein found in humans and mice. *Gene*, 396(1), pp.203–213.

Barceló-Batllori, S., André, M., Servis, C., Lévy, N., Takikawa, O., Michetti, P., Reymond, M. and Felley-Bosco, E. 2002. Proteomic analysis of cytokine induced proteins in human intestinal epithelial cells: Implications for inflammatory bowel diseases. *PROTEOMICS*, 2(5), pp.551–560.

Bauer, T.M., Jiga, L.P., Chuang, J.-J., Randazzo, M., Opelz, G. and Terness, P. 2005. Studying the immunosuppressive role of indoleamine 2,3-dioxygenase: tryptophan metabolites suppress rat allogeneic T-cell responses in vitro and in vivo. *Transplant International*, 18(1), pp.95–100.

Beatty, G.L., O'Dwyer, P.J., Clark, J., Shi, J.G., Bowman, K.J., Scherle, P.A., Newton, R.C., Schaub, R., Maleski, J., Leopold, L. and Gajewski, T.F. 2017. First-in-Human Phase I Study of the Oral Inhibitor of Indoleamine 2,3-Dioxygenase-1 Epacadostat (INCB024360) in Patients with Advanced Solid Malignancies. *Clinical Cancer Research*, 23(13), pp.3269–3276.

Blache, C.A., Manuel, E.R., Kaltcheva, T.I., Wong, A.N., Ellenhorn, J.D.I., Blazar, B.R. and Diamond, D.J. 2012. Systemic Delivery of Salmonella Typhimurium Transformed with IDO shRNA Enhances Intratumoral Vector Colonization and Suppresses Tumor Growth. *Cancer research*, 72(24), pp.6447–6456.

Brandacher, G., Perathoner, A., Ladurner, R., Schneeberger, S., Obrist, P., Winkler, C., Werner, E.R., Werner-Felmayer, G., Weiss, H.G., Göbel, G., Margreiter, R., Königsrainer, A., Fuchs, D. and Amberger, A. 2006. Prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in colorectal cancer: effect on tumor-infiltrating T cells. *Clinical Cancer Research*, 12(4), pp.1144–1151.

*Brochez, L., Chevolet, I. and Kruse, V. 2017. The rationale of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition for cancer therapy. *European Journal of Cancer*, 76, pp.167–182.

Burris, H.A., Gordon, M.S., Hellmann, M.D., LoRusso, P., Emens, L.A., Hodi, F.S., Lieu, C.H., Infante, J.R., Tsai, F.Y.-C., Eder, J.P., Cleary, J.M., Jelovac, D., Tshako, A.L., Mueller, L., Lin, R., Morrissey, K., Mahrus, S., Morley, R., Pirkall, A. and Davis, S.L. 2017. A phase Ib dose escalation study of combined inhibition of IDO1 (GDC-0919) and PD-L1 (atezolizumab) in patients (pts) with locally advanced or metastatic solid tumors. *Journal of Clinical Oncology*, 35(15_suppl), pp.105–105.

Byrne, G.I., Lehmann, L.K. and Landry, G.J. 1986. Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma-interferon-mediated inhibition of intracellular Chlamydia psittaci replication in T24 cells. *Infection and Immunity*, 53(2), pp.347–351.

- Chamuleau, M.E.D., Loosdrecht, A.A. van de, Hess, C.J., Janssen, J.J.W.M., Zevenbergen, A., Delwel, R., Valk, P.J.M., Löwenberg, B. and Ossenkoppele, G.J. 2008. High INDO (indoleamine 2,3-dioxygenase) mRNA level in blasts of acute myeloid leukemic patients predicts poor clinical outcome. *Haematologica*, 93(12), pp.1894–1898.
- Chen, W., Liang, X., Peterson, A.J., Munn, D.H. and Blazar, B.R. 2008. The indoleamine 2,3-dioxygenase pathway is essential for human plasmacytoid dendritic cell-induced adaptive T regulatory cell generation. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 181(8), pp.5396–5404.
- *Cochran, A.J., Huang, R.-R., Lee, J., Itakura, E., Leong, S.P.L. and Essner, R. 2006. Tumour-induced immune modulation of sentinel lymph nodes. *Nature Reviews Immunology*, 6(9), pp.659–670.
- *Curti, A., Trabanelli, S., Salvestrini, V., Baccarani, M. and Lemoli, R.M. 2009. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the induction of immune tolerance: focus on hematology. *Blood*, 113(11), pp.2394–2401.
- Delgoffe, G.M., Kole, T.P., Zheng, Y., Zarek, P.E., Matthews, K.L., Xiao, B., Worley, P.F., Kozma, S.C. and Powell, J.D. 2009. The mTOR kinase differentially regulates effector and regulatory T cell lineage commitment. *Immunity*, 30(6), pp.832–844.
- Dong, J., Qiu, H., Garcia-Barrio, M., Anderson, J. and Hinnebusch, A.G. 2000. Uncharged tRNA Activates GCN2 by Displacing the Protein Kinase Moiety from a Bipartite tRNA-Binding Domain. *Molecular Cell*, 6(2), pp.269–279.
- *Esser, C., Rannug, A. and Stockinger, B. 2009. The aryl hydrocarbon receptor in immunity. *Trends in Immunology*, 30(9), pp.447–454.
- Fallarino, F., Grohmann, U., Vacca, C., Bianchi, R., Orabona, C., Spreca, A., Fioretti, M.C. and Puccetti, P. 2002. T cell apoptosis by tryptophan catabolism. *Cell Death and Differentiation*, 9(10), pp.1069–1077.
- Fallarino, F., Grohmann, U., You, S., McGrath, B.C., Cavener, D.R., Vacca, C., Orabona, C., Bianchi, R., Belladonna, M.L., Volpi, C., Santamaria, P., Fioretti, M.C. and Puccetti, P. 2006. The Combined Effects of Tryptophan Starvation and Tryptophan Catabolites Down-Regulate T Cell Receptor ζ -Chain and Induce a Regulatory Phenotype in Naive T Cells. *The Journal of Immunology*, 176(11), pp.6752–6761.
- Fallarino, F., Volpi, C., Zelante, T., Vacca, C., Calvitti, M., Fioretti, M.C., Puccetti, P., Romani, L. and Grohmann, U. 2009. IDO Mediates TLR9-Driven Protection from Experimental Autoimmune Diabetes. *The Journal of Immunology*, 183(10), pp.6303–6312.
- Frumento, G., Rotondo, R., Tonetti, M., Damonte, G., Benatti, U. and Ferrara, G.B. 2002. Tryptophan-derived Catabolites Are Responsible for Inhibition of T and Natural Killer Cell Proliferation Induced by Indoleamine 2,3-Dioxygenase. *Journal of Experimental Medicine*, 196(4), pp.459–468.
- Gangadhar, T.C., Hamid, O., Smith, D.C., Bauer, T.M., Wasser, J.S., Luke, J.J., Balmanoukian, A.S., Kaufman, D.R., Zhao, Y., Maleski, J., Leopold, L. and Gajewski, T.F. 2015. Preliminary results from a Phase I/II study of epacadostat (incb024360) in combination with pembrolizumab in patients with selected advanced cancers. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 3(2), p.07.
- Gibney, G.T., Hamid, O., Gangadhar, T.C., Lutzky, J., Olszanski, A.J., Gajewski, T., Chmielowski, B., Boasberg, P.D., Zhao, Y., Newton, R.C., Scherle, P.A., Bowman, J., Maleski, J., Leopold, L. and Weber, J.S. 2014. Preliminary results from a phase 1/2 study of INCB024360 combined with ipilimumab (ipi) in patients (pts) with melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, 32(15_suppl), pp.3010–3010.

Grohmann, U., Bianchi, R., Belladonna, M.L., Silla, S., Fallarino, F., Fioretti, M.C. and Puccetti, P. 2000. IFN- γ Inhibits Presentation of a Tumor/Self Peptide by CD8 α - Dendritic Cells Via Potentiation of the CD8 α + Subset. *The Journal of Immunology*, 165(3), pp.1357–1363.

Grohmann, U., Bianchi, R., Orabona, C., Fallarino, F., Vacca, C., Micheletti, A., Fioretti, M.C. and Puccetti, P. 2003. Functional Plasticity of Dendritic Cell Subsets as Mediated by CD40 Versus B7 Activation. *The Journal of Immunology*, 171(5), pp.2581–2587.

Grohmann, U., Orabona, C., Fallarino, F., Vacca, C., Calcinaro, F., Falorni, A., Candeloro, P., Belladonna, M.L., Bianchi, R., Fioretti, M.C. and Puccetti, P. 2002. CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism *in vivo*. *Nature Immunology*, 3(11), pp.1097–1101.

Grohmann, U., Pallotta, M.T., Orabona, C., Volpi, C., Belladonna, M.L.L., Bianchi, R., Servillo, G., Brunacci, C., Calvitti, M., Biciato, S., Mazza, E.M., Boon, L., Grassi, F., C, M., Fallarino, F., Puccetti, P. and Vacca, C. 2011. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nature Immunology*.

Haber, R., Bessette, D., Hulihan-Giblin, B., Durcan, M.J. and Goldman, D. 1993. Identification of Tryptophan 2,3-Dioxygenase RNA in Rodent Brain. *Journal of Neurochemistry*, 60(3), pp.1159–1162.

Harding, H.P., Novoa, I., Zhang, Y., Zeng, H., Wek, R., Schapira, M. and Ron, D. 2000. Regulated Translation Initiation Controls Stress-Induced Gene Expression in Mammalian Cells. *Molecular Cell*, 6(5), pp.1099–1108.

Hayaishi, O., Rothberg, S., Mehler, A.H. and Saito, Y. 1957. Studies on Oxygenases Enzymatic Formation of Kynurenine from Tryptophan. *Journal of Biological Chemistry*, 229(2), pp.889–896.

Hissong, B.D., Byrne, G.I., Padilla, M.L. and Carlin, J.M. 1995. Upregulation of interferon-induced indoleamine 2,3-dioxygenase in human macrophage cultures by lipopolysaccharide, muramyl tripeptide, and interleukin-1. *Cellular Immunology*, 160(2), pp.264–269.

*Hoff, P.M. and Machado, K.K. 2012. Role of angiogenesis in the pathogenesis of cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 38(7), pp.825–833.

Holmgaard, R.B., Zamarin, D., Li, Y., Gasmi, B., Munn, D.H., Allison, J.P., Merghoub, T. and Wolchok, J.D. 2015. Tumor-expressed IDO recruits and activates MDSCs in a Treg-dependent manner. *Cell reports*, 13(2), pp.412–424.

Holmgaard, R.B., Zamarin, D., Munn, D.H., Wolchok, J.D. and Allison, J.P. 2013. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *Journal of Experimental Medicine*, 210(7), pp.1389–1402.

Hou, D.-Y., Muller, A.J., Sharma, M.D., DuHadaway, J., Banerjee, T., Johnson, M., Mellor, A.L., Prendergast, G.C. and Munn, D.H. 2007. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells by stereoisomers of 1-methyl-tryptophan correlates with antitumor responses. *Cancer Research*, 67(2), pp.792–801.

Hwu, P., Du, M.X., Lapointe, R., Do, M., Taylor, M.W. and Young, H.A. 2000. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Production by Human Dendritic Cells Results in the Inhibition of T Cell Proliferation. *The Journal of Immunology*, 164(7), pp.3596–3599.

Inaba, T., Ino, K., Kajiyama, H., Shibata, K., Yamamoto, E., Kondo, S., Umezu, T., Nawa, A., Takikawa, O. and Kikkawa, F. 2010. Indoleamine 2,3-dioxygenase expression predicts impaired survival of invasive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy. *Gynecologic Oncology*, 117(3), pp.423–428.

Ishiguro, I., Naito, J., Saito, K. and Nagamura, Y. 1993. Skin l-tryptophan-2,3-dioxygenase and rat hair growth. *FEBS Letters*, 329(1–2), pp.178–182.

Iversen, T.Z., Engell-Noerregaard, L., Ellebaek, E., Andersen, R., Larsen, S.K., Bjoern, J., Zeyher, C., Gouttefangeas, C., Thomsen, B.M., Holm, B., Straten, P. thor, Mellemggaard, A., Andersen, M.H. and Svane, I.M. 2014. Long-lasting Disease Stabilization in the Absence of Toxicity in Metastatic Lung Cancer Patients Vaccinated with an Epitope Derived from Indoleamine 2,3 Dioxygenase. *Clinical Cancer Research*, 20(1), pp.221–232.

Jaspersen, L.K., Bucher, C., Panoskaltis-Mortari, A., Taylor, P.A., Mellor, A.L., Munn, D.H. and Blazar, B.R. 2008. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical regulator of acute graft-versus-host disease lethality. *Blood*, 111(6), pp.3257–3265.

*Kalbasi, A., June, C.H., Haas, N. and Vapiwala, N. 2013. Radiation and immunotherapy: a synergistic combination. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(7), pp.2756–2763.

Kennedy, E., Rossi, G.R., Vahanian, N.N. and Link, C.J. 2014. Phase 1/2 trial of the indoleamine 2,3-dioxygenase pathway (IDO) inhibitor indoximod plus ipilimumab for the treatment of unresectable stage 3 or 4 melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, 32(15_suppl), pp.TPS9117–TPS9117.

Knox, W.E. and Mehler, A.H. 1950. The Conversion of Tryptophan to Kynurenine in Liver I. the Coupled Tryptophan Peroxidase-Oxidase System Forming Formylkynurenine. *Journal of Biological Chemistry*, 187(1), pp.419–430.

*Laplante, M. and Sabatini, D.M. 2009. mTOR signaling at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(20), pp.3589–3594.

Lee, G.K., Park, H.J., Macleod, M., Chandler, P., Munn, D.H. and Mellor, A.L. 2002. Tryptophan deprivation sensitizes activated T cells to apoptosis prior to cell division. *Immunology*, 107(4), pp.452–460.

Lee, J.R., Dalton, R.R., Messina, J.L., Sharma, M.D., Smith, D.M., Burgess, R.E., Mazzella, F., Antonia, S.J., Mellor, A.L. and Munn, D.H. 2003. Pattern of Recruitment of Immunoregulatory Antigen-Presenting Cells in Malignant Melanoma. *Laboratory Investigation*, 83(10), pp.1457–1466.

Li, M., Bolduc, A.R., Hoda, M.N., Gamble, D.N., Dolisca, S.-B., Bolduc, A.K., Hoang, K., Ashley, C., McCall, D., Rojiani, A.M., Maria, B.L., Rixe, O., MacDonald, T.J., Heeger, P.S., Mellor, A.L., Munn, D.H. and Johnson, T.S. 2014. The indoleamine 2,3-dioxygenase pathway controls complement-dependent enhancement of chemo-radiation therapy against murine glioblastoma. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 2, p.21.

Loewith, R., Jacinto, E., Wullschleger, S., Lorberg, A., Crespo, J.L., Bonenfant, D., Oppliger, W., Jenoe, P. and Hall, M.N. 2002. Two TOR Complexes, Only One of which Is Rapamycin Sensitive, Have Distinct Roles in Cell Growth Control. *Molecular Cell*, 10(3), pp.457–468.

MacKenzie, C.R., Hadding, U. and Däubener, W. 1998. Interferon- γ -induced activation of indoleamine 2,3-dioxygenase in cord blood monocyte-derived macrophages inhibits the growth of group B streptococci. *Journal of Infectious Diseases*, 178(3), pp.875–878.

*Makkouk, A. and Weiner, G.J. 2015. Cancer Immunotherapy and Breaking Immune Tolerance: New Approaches to an Old Challenge. *Cancer Research*, 75(1), pp.5–10.

Meininger, D., Zalameda, L., Liu, Y., Stepan, L.P., Borges, L., McCarter, J.D. and Sutherland, C.L. 2011. Purification and kinetic characterization of human indoleamine 2,3-dioxygenases 1 and 2 (IDO1 and IDO2) and discovery of selective IDO1 inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1814(12), pp.1947–1954.

- Mellor, A.L., Baban, B., Chandler, P., Marshall, B., Jhaver, K., Hansen, A., Koni, P.A., Iwashima, M. and Munn, D.H. 2003. Cutting Edge: Induced Indoleamine 2,3 Dioxygenase Expression in Dendritic Cell Subsets Suppresses T Cell Clonal Expansion. *The Journal of Immunology*, 171(4), pp.1652–1655.
- Mellor, A.L., Baban, B., Chandler, P.R., Manlapat, A., Kahler, D.J. and Munn, D.H. 2005. Cutting Edge: CpG Oligonucleotides Induce Splenic CD19+ Dendritic Cells to Acquire Potent Indoleamine 2,3-Dioxygenase-Dependent T Cell Regulatory Functions via IFN Type 1 Signaling. *The Journal of Immunology*, 175(9), pp.5601–5605.
- Mellor, A.L., Chandler, P., Baban, B., Hansen, A.M., Marshall, B., Pihkala, J., Waldmann, H., Cobbold, S., Adams, E. and Munn, D.H. 2004. Specific subsets of murine dendritic cells acquire potent T cell regulatory functions following CTLA4-mediated induction of indoleamine 2,3 dioxygenase. *International Immunology*, 16(10), pp.1391–1401.
- Metz, R., Rust, S., DuHadaway, J.B., Mautino, M.R., Munn, D.H., Vahanian, N.N., Link, C.J. and Prendergast, G.C. 2012. IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR: A novel IDO effector pathway targeted by D-1-methyl-tryptophan. *OncoImmunology*, 1(9), pp.1460–1468.
- Mezrich, J.D., Fechner, J.H., Zhang, X., Johnson, B.P., Burlingham, W.J. and Bradfield, C.A. 2010. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 185(6), pp.3190–3198.
- Mierlo, G.J.D. van, Boonman, Z.F.H.M., Dumortier, H.M.H., Boer, A.T. den, Fransen, M.F., Nouta, J., Voort, E.I.H. van der, Offringa, R., Toes, R.E.M. and Melief, C.J.M. 2004. Activation of Dendritic Cells That Cross-Present Tumor-Derived Antigen Licenses CD8+ CTL to Cause Tumor Eradication. *The Journal of Immunology*, 173(11), pp.6753–6759.
- Mondal, A., Smith, C., DuHadaway, J.B., Sutanto-Ward, E., Prendergast, G.C., Bravo-Nuevo, A. and Muller, A.J. 2016. IDO1 is an Integral Mediator of Inflammatory Neovascularization. *EBioMedicine*, 14, pp.74–82.
- Monjazebe, A.M., Kent, M.S., Grossenbacher, S.K., Mall, C., Zamora, A.E., Mirsoian, A., Chen, M., Kol, A., Shiao, S.L., Reddy, A., Perks, J.R., T N Culp, W., Sparger, E.E., Canter, R.J., Sckisel, G.D. and Murphy, W.J. 2016. Blocking Indoleamine-2,3-Dioxygenase Rebound Immune Suppression Boosts Antitumor Effects of Radio-Immunotherapy in Murine Models and Spontaneous Canine Malignancies. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 22(17), pp.4328–4340.
- Muller, A.J., DuHadaway, J.B., Donover, P.S., Sutanto-Ward, E. and Prendergast, G.C. 2005. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunoregulatory target of the cancer suppression gene *Bin1*, potentiates cancer chemotherapy. *Nature Medicine*, 11(3), pp.312–319.
- *Munn, D.H. and Bronte, V. 2016. Immune suppressive mechanisms in the tumor microenvironment. *Current Opinion in Immunology*, 39, pp.1–6.
- Munn, D.H., Shafizadeh, E., Attwood, J.T., Bondarev, I., Pashine, A. and Mellor, A.L. 1999. Inhibition of T Cell Proliferation by Macrophage Tryptophan Catabolism. *Journal of Experimental Medicine*, 189(9), pp.1363–1372.
- Munn, D.H., Sharma, M.D., Baban, B., Harding, H.P., Zhang, Y., Ron, D. and Mellor, A.L. 2005. GCN2 Kinase in T Cells Mediates Proliferative Arrest and Anergy Induction in Response to Indoleamine 2,3-Dioxygenase. *Immunity*, 22(5), pp.633–642.

- Munn, D.H., Sharma, M.D., Hou, D., Baban, B., Lee, J.R., Antonia, S.J., Messina, J.L., Chandler, P., Koni, P.A. and Mellor, A.L. 2004. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor-draining lymph nodes. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(2), pp.280–290.
- Munn, D.H., Sharma, M.D. and Mellor, A.L. 2004. Ligation of B7-1/B7-2 by Human CD4+ T Cells Triggers Indoleamine 2,3-Dioxygenase Activity in Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*, 172(7), pp.4100–4110.
- Munn, D.H., Zhou, M., Attwood, J.T., Bondarev, I., Conway, S.J., Marshall, B., Brown, C. and Mellor, A.L. 1998. Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science*, 281(5380), pp.1191–1193.
- Nayak, A., Hao, Z., Sadek, R., Vahanian, N., Ramsey, W.J., Kennedy, E., Mautino, M., Link, C., Bourbo, P., Dobbins, R., Adams, K., Diamond, A., Marshall, L., Munn, D.H., Janik, J. and Khleif, S.N. 2014. A Phase I study of NLG919 for adult patients with recurrent advanced solid tumors. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2(Suppl 3), p.P250.
- Obojes, K., Andres, O., Kim, K.S., Däubener, W. and Schneider-Schaulies, J. 2005. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Mediates Cell Type-Specific Anti-Measles Virus Activity of Gamma Interferon. *Journal of Virology*, 79(12), pp.7768–7776.
- Okamoto, A., Nikaido, T., Ochiai, K., Takakura, S., Saito, M., Aoki, Y., Ishii, N., Yanaiharu, N., Yamada, K., Takikawa, O., Kawaguchi, R., Isonishi, S., Tanaka, T. and Urashima, M. 2005. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Serves as a Marker of Poor Prognosis in Gene Expression Profiles of Serous Ovarian Cancer Cells. *Clinical Cancer Research*, 11(16), pp.6030–6039.
- Orabona, C., Pallotta, M.T., Volpi, C., Fallarino, F., Vacca, C., Bianchi, R., Belladonna, M.L., Fioretti, M.C., Grohmann, U. and Puccetti, P. 2008. SOCS3 drives proteasomal degradation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) and antagonizes IDO-dependent tolerogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(52), pp.20828–20833.
- Perez, R.P., Riese, M.J., Lewis, K.D., Saleh, M.N., Daud, A., Berlin, J., Lee, J.J., Mukhopadhyay, S., Zhou, L., Serbest, G. and Hamid, O. 2017. Epcadostat plus nivolumab in patients with advanced solid tumors: Preliminary phase I/II results of ECHO-204. *Journal of Clinical Oncology*, 35(15_suppl), pp.3003–3003.
- Pfefferkorn, E.R. 1984. Interferon γ Blocks the Growth of *Toxoplasma gondii* in Human Fibroblasts by Inducing the Host Cells to Degrade Tryptophan. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(3), pp.908–912.
- Pilotte, L., Larrieu, P., Stroobant, V., Colau, D., Dolušić, E., Frédérick, R., De Plaen, E., Uyttenhove, C., Wouters, J., Masereel, B. and Van den Eynde, B.J. 2012. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(7), pp.2497–2502.
- Pollizzi, K.N., Patel, C.H., Sun, I.-H., Oh, M.-H., Waickman, A.T., Wen, J., Delgoffe, G.M. and Powell, J.D. 2015. mTORC1 and mTORC2 selectively regulate CD8+ T cell differentiation. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(5), pp.2090–2108.
- Powell, J.D., Lerner, C.G. and Schwartz, R.H. 1999. Inhibition of Cell Cycle Progression by Rapamycin Induces T Cell Clonal Anergy Even in the Presence of Costimulation. *The Journal of Immunology*, 162(5), pp.2775–2784.

Quintana, F.J., Murugaiyan, G., Farez, M.F., Mitsdoerffer, M., Tukupah, A.-M., Burns, E.J. and Weiner, H.L. 2010. An endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand acts on dendritic cells and T cells to suppress experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(48), pp.20768–20773.

Rodriguez, P.C., Quiceno, D.G. and Ochoa, A.C. 2007. L-arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression. *Blood*, 109(4), pp.1568–1573.

Romani, L., Fallarino, F., De Luca, A., Montagnoli, C., D'Angelo, C., Zelante, T., Vacca, C., Bistoni, F., Fioretti, M.C., Grohmann, U., Segal, B.H. and Puccetti, P. 2008. Defective tryptophan catabolism underlies inflammation in mouse chronic granulomatous disease. *Nature*, 451(7175), pp.211–215.

Romani, L., Zelante, T., Luca, A.D., Fallarino, F. and Puccetti, P. 2008. IL-17 and Therapeutic Kynurenes in Pathogenic Inflammation to Fungi. *The Journal of Immunology*, 180(8), pp.5157–5162.

*Schreiber, R.D., Old, L.J. and Smyth, M.J. 2011. Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science*, 331(6024), pp.1565–1570.

Sharma, M.D., Baban, B., Chandler, P., Hou, D.-Y., Singh, N., Yagita, H., Azuma, M., Blazar, B.R., Mellor, A.L. and Munn, D.H. 2007. Plasmacytoid dendritic cells from mouse tumor-draining lymph nodes directly activate mature Tregs via indoleamine 2,3-dioxygenase. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(9), pp.2570–2582.

Shimizu, T., Nomiyama, S., Hirata, F. and Hayaishi, O. 1978. Indoleamine 2,3-dioxygenase. Purification and some properties. *Journal of Biological Chemistry*, 253(13), pp.4700–4706.

Siu, L.L., Gelmon, K., Chu, Q., Pachynski, R., Alese, O., Basciano, P., Walker, J., Mitra, P., Zhu, L., Phillips, P., Hunt, J. and Desai, J. 2017. Abstract CT116: BMS-986205, an optimized indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitor, is well tolerated with potent pharmacodynamic (PD) activity, alone and in combination with nivolumab (nivo) in advanced cancers in a phase 1/2a trial. *Cancer Research*, 77(13 Supplement), pp.CT116–CT116.

Smith, C., Chang, M.Y., Parker, K.H., Beury, D.W., DuHadaway, J.B., Flick, H.E., Boulden, J., Sutanto-Ward, E., Soler, A.P., Laury-Kleintop, L.D., Mandik-Nayak, L., Metz, R., Ostrand-Rosenberg, S., Prendergast, G.C. and Muller, A.J. 2012. IDO Is a Nodal Pathogenic Driver of Lung Cancer and Metastasis Development. *Cancer Discovery*, 2(8), pp.722–735.

Soliman, H.H., Jackson, E., Neuger, T., Dees, C.E., Harvey, D.R., Han, H., Ismail-Khan, R., Minton, S., Vahanian, N.N., Link, C., Sullivan, D.M., Antonia, S., Soliman, H.H., Jackson, E., Neuger, T., Dees, C.E., Harvey, D.R., Han, H., Ismail-Khan, R., Minton, S., Vahanian, N.N., Link, C., Sullivan, D.M. and Antonia, S. 2014. A first in man phase I trial of the oral immunomodulator, indoximod, combined with docetaxel in patients with metastatic solid tumors. *Oncotarget*, 5(18), pp.8136–8146.

Soliman, H.H., Minton, S.E., Han, H.S., Ismail-Khan, R., Neuger, A., Khambati, F., Noyes, D., Lush, R., Chiappori, A.A., Roberts, J.D., Link, C., Vahanian, N.N., Mautino, M., Streicher, H., Sullivan, D.M. and Antonia, S.J. 2016. A phase I study of indoximod in patients with advanced malignancies. *Oncotarget*, 7(16), pp.22928–22938.

Sotomayor, E.M., Borrello, I., Rattis, F.-M., Cuenca, A.G., Abrams, J., Staveley-O'Carroll, K. and Levitsky, H.I. 2001. Cross-presentation of tumor antigens by bone marrow-derived antigen-presenting cells is the dominant mechanism in the induction of T-cell tolerance during B-cell lymphoma progression. *Blood*, 98(4), pp.1070–1077.

- Sugimoto, H., Oda, S. -i., Otsuki, T., Hino, T., Yoshida, T. and Shiro, Y. 2006. Crystal structure of human indoleamine 2,3-dioxygenase: Catalytic mechanism of O₂ incorporation by a heme-containing dioxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(8), pp.2611–2616.
- Szántó, S., Koreny, T., Mikecz, K., Glant, T.T., Szekanecz, Z. and Varga, J. 2007. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan catabolism accelerates collagen-induced arthritis in mice. *Arthritis Research & Therapy*, 9, p.R50.
- Takikawa, O., Kuroiwa, T., Yamazaki, F. and Kido, R. 1988. Mechanism of interferon-gamma action. Characterization of indoleamine 2,3-dioxygenase in cultured human cells induced by interferon-gamma and evaluation of the enzyme-mediated tryptophan degradation in its anticellular activity. *Journal of Biological Chemistry*, 263(4), pp.2041–2048.
- Terness, P., Bauer, T.M., Röse, L., Dufter, C., Watzlik, A., Simon, H. and Opelz, G. 2002. Inhibition of Allogeneic T Cell Proliferation by Indoleamine 2,3-Dioxygenase-expressing Dendritic Cells: Mediation of Suppression by Tryptophan Metabolites. *Journal of Experimental Medicine*, 196(4), pp.447–457.
- Uyttenhove, C., Pilotte, L., Théate, I., Stroobant, V., Colau, D., Parmentier, N., Boon, T. and Van den Eynde, B.J. 2003. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nature Medicine*, 9(10), pp.1269–1274.
- Varga, J., Yufit, T. and Brown, R.R. 1995. Inhibition of collagenase and stromelysin gene expression by interferon-gamma in human dermal fibroblasts is mediated in part via induction of tryptophan degradation. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(1), pp.475–481.
- Vogel, C.F.A., Goth, S.R., Dong, B., Pessah, I.N. and Matsumura, F. 2008. Aryl hydrocarbon receptor signaling mediates expression of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Biochemical and biophysical research communications*, 375(3), pp.331–335.
- Weinlich, G., Murr, C., Richardsen, L., Winkler, C. and Fuchs, D. 2007. Decreased Serum Tryptophan Concentration Predicts Poor Prognosis in Malignant Melanoma Patients. *Dermatology*, 214(1), pp.8–14.
- Witkiewicz, A.K., Costantino, C.L., Metz, R., Muller, A.J., Prendergast, G.C., Yeo, C.J. and Brody, J.R. 2009. Genotyping and Expression Analysis of IDO2 in Human Pancreatic Cancer: A Novel, Active Target. *Journal of the American College of Surgeons*, 208(5), pp.781–787.
- Yamamoto, S. and Hayaishi, O. 1967. Tryptophan Pyrrolase of Rabbit Intestine D- and L-tryptophan-cleaving enzyme or enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, 242(22), pp.5260–5266.
- Yamazaki, F., Kuroiwa, T., Takikawa, O. and Kido, R. 1985. Human indolylamine 2,3-dioxygenase. Its tissue distribution, and characterization of the placental enzyme. *Biochemical Journal*, 230(3), pp.635–638.
- Yan, Y., Zhang, G.-X., Gran, B., Fallarino, F., Yu, S., Li, H., Cullimore, M.L., Rostami, A. and Xu, H. 2010. IDO upregulates regulatory T cells via tryptophan catabolite and suppresses encephalitogenic T cell responses in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 185(10), pp.5953–5961.
- Yoshida, R. and Hayaishi, O. 1978. Induction of pulmonary indoleamine 2,3-dioxygenase by intraperitoneal injection of bacterial lipopolysaccharide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(8), pp.3998–4000.

Yoshida, R., Urade, Y., Tokuda, M. and Hayaishi, O. 1979. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase in mouse lung during virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(8), pp.4084–4086.

Yu, J., Du, W., Yan, F., Wang, Y., Li, H., Cao, S., Yu, W., Shen, C., Liu, J. and Ren, X. 2013. Myeloid-Derived Suppressor Cells Suppress Antitumor Immune Responses through IDO Expression and Correlate with Lymph Node Metastasis in Patients with Breast Cancer. *The Journal of Immunology*, 190(7), pp.3783–3797.

Zhang, Y., Kang, S.A., Mukherjee, T., Bale, S., Crane, B.R., Begley, T.P. and Ealick, S.E. 2007. Crystal Structure and Mechanism of Tryptophan 2,3-Dioxygenase, a Heme Enzyme Involved in Tryptophan Catabolism and in Quinolate Biosynthesis. *Biochemistry*, 46(1), pp.145–155.

Zhou, G., Drake, C.G. and Levitsky, H.I. 2006. Amplification of tumor-specific regulatory T cells following therapeutic cancer vaccines. *Blood*, 107(2), pp.628–636.

internetový zdroj: <http://www.clinicaltrials.gov>