

文章编号 :1004-0374(2010)06-0515-14

## FOXP3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞

陈祚珈, 高雅懿, 李志远, 李 斌\*

(中国科学院上海巴斯德研究所分子病毒与免疫重点实验室, 上海 200025)

**摘要:** 调节性 T 细胞是一类可以调节其他多种免疫细胞功能的 T 细胞亚型, 其正常生理功能对体内免疫稳态维持必不可少。调节性 T 细胞功能失调与人类多种重大疾病, 如自身免疫性疾病、感染性疾病、过敏性疾病、恶性肿瘤、移植排斥的发生、发展及治疗都密切相关。调节性 T 细胞可分为多种亚型, 其中最重要也是目前研究最多的为表达叉头状家族转录因子 FOXP3 的天然调节性 T 细胞及诱导调节性 T 细胞。深入研究 FOXP3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的发育及功能的分子及细胞免疫学机制, 将为重大免疫性疾病的临床治疗提供创新性线索。

**关键词:** 调节性 T 细胞; FOXP3; 翻译后修饰

中图分类号: R392.12 文献标识码: A

## FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells

CHEN Zuo-jia, GAO Ya-yi, LI Zhi-yuan, LI Bin\*

(Key Laboratory of Molecular Virology & Immunology, Unit of Molecular Immunology, Institute Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** Regulatory T cells (Tregs) play a fundamental role in maintaining immune homeostasis *in vivo*. Treg cells have been actively involved in controlling major human diseases including autoimmune diseases, infectious diseases, allergic diseases and the immune surveillance of tumors. The forkhead family transcription factor FOXP3 is a master regulator of natural Treg development and function. The underlying mechanism by which FOXP3 functions in Treg cells is dependent not only on FOXP3 transcription and expression, but also on FOXP3 posttranslational modification and transcriptional complex ensemble with other cofactors including protein posttranslational modification enzymes. Understanding the FOXP3 biochemistry and its dynamic ensemble with enzymatic cofactors will lead to novel therapeutic approaches for treating autoimmunity, infection, allergy, organ transplantation and cancer immunotherapy.

**Key Words:** regulatory T cells; FOXP3; post translational modification

FOXP3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞(FOXP3<sup>+</sup>Tregs)属于 T 淋巴细胞中表达 CD4、CD25 及转录因子 FOXP3 的一类 T 细胞亚型, 其正常功能对于人体免疫稳态 (immune homeostasis) 的动态调节必不可少<sup>[1]</sup>。调节性 T 细胞的发育及功能失调, 与多种重大免疫相关性疾病, 包括自身免疫性疾病、炎症反应、急性及慢性传染性疾病、肿瘤免疫耐受、移植排斥以及过敏性疾病的生理病变进程密切相关<sup>[1,2]</sup>。本综述着重讨论有关 FOXP3<sup>+</sup>Tregs 的发育、生理功能与作用机制, 以及与重大疾病防治相关研究的最新进展。

### 1 FOXP3<sup>+</sup>调节性T细胞的发育

FOXP3<sup>+</sup>Tregs 主要可分为两类: 天然型 FOXP3<sup>+</sup>Treg(natural Treg, nTreg)和诱导性 FOXP3<sup>+</sup>Treg(induced Treg, iTreg)。nTreg 在胸腺

收稿日期: 2010-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30972702); 上海市基础研究重点项目(09JC1416100); 上海市科委“启明星”计划(10QA1407900)

\* 通讯作者: E-mail: binli@sibs.ac.cn

中发育,与传统T细胞类似,需经过阳性和阴性选择等过程;而iTreg是由CD4<sup>+</sup>T细胞在某些特定生理条件下在外周诱导分化而来。除了起源不同以外,nTreg和iTreg在体内免疫调节中的作用机制是否有差异,目前不很清楚。另外,FOXP3<sup>+</sup>Treg的发育过程受到各种生理相关信号通路的动态调节。本节将分别叙述FOXP3<sup>+</sup>Treg在胸腺的发育过程和在外周环境中的受诱导因素,并着重分析影响转录因子FOXP3表达的转录调控机制。

### 1.1 天然型FOXP3<sup>+</sup>Treg的胸腺发育

和所有T细胞一样,nTreg由来自骨髓的祖细胞进入胸腺后分化成熟。nTreg在外周,占CD4<sup>+</sup>T细胞的5%~10%<sup>[3]</sup>,但其生理功能对于维持免疫稳态是至关重要的。小鼠出生后3d,nTreg从胸腺迁移至外周。胸腺切除的小鼠在出生第3天就会发生严重的自身免疫疾病<sup>[4]</sup>。

TCR信号对nTreg的胸腺发育是必需的。例如,Lck失活会阻止TCR信号的激活,导致Treg不均一分布,丧失免疫抑制功能等一系列不正常表型<sup>[5]</sup>。在重组激活基因缺失(RAG<sup>-/-</sup>)的 $\alpha\beta$ TCR转基因小鼠中,Treg不能发育,说明胸腺中Treg的发育需要TCR基因重排以及与转基因TCR不同的TCR特异性<sup>[6]</sup>。nTreg也表达多样性的TCR受体,但其TCR组成与效应性T细胞(effector T cells, Teff)的TCR受体组成有很大不同。在胸腺发育中,TCR序列的特殊组成很有可能作为Treg选择的标志之一<sup>[7]</sup>。nTreg表达的自身反应性TCR与自身抗原肽/MHC复合物配体有着比Teff更高的亲和力,传统T细胞的选择过程基于胸腺APC递呈的自身抗原肽,TCR和MHC/抗原肽复合物的亲和力在中等或更弱水平的细胞则经过阳性选择和阴性选择后存活下来。一般认为,经选择产生nTreg的亲合力的阈值介于阳性和阴性选择之间<sup>[8]</sup>。

除了TCR信号,许多T细胞表面受体共刺激分子对nTreg的发育也有重要的调节作用,例如CD28、IL-2R、TGF- $\beta$ R、GITR等等。在缺失CD28或者CD80/CD86的小鼠中,nTreg的数量都显著减少<sup>[9]</sup>。没有CD28的表达,总IL-2分泌也会减少,导致FOXP3所需的IL-2R信号不足而表达降低。CD28共刺激也是Treg前体细胞发育所必需的。CD28<sup>-/-</sup>造血干细胞中,FOXP3<sup>+</sup>Treg数目减少<sup>[10]</sup>。nTreg组成性表达高亲和力IL-2受体CD25,但其自身并不能转录表达及分泌IL-2,所以完全依赖于旁

分泌的IL-2。体内无论IL-2或是IL-2R缺失都会导致胸腺中成熟Treg数目的减少。细胞因子IL-2对Treg的发育与维持都有重要作用<sup>[11]</sup>。体内和体外实验还证明TGF- $\beta$ 能调节FOXP3的持续表达,稳定nTreg数目及其免疫抑制功能<sup>[12]</sup>。

nTreg的发育还受胸腺基质细胞信号调节。大多数天然FOXP3<sup>+</sup>胸腺T细胞存在于胸腺髓质。在细胞水平上,髓质胸腺上皮细胞(mTECs)和DCs都有助于nTreg的分化。缺少TRAF6或激活NF- $\kappa$ B通路的上游激酶活性会导致成熟mTECs的缺失,从而抑制Treg发育<sup>[13]</sup>。mTECs中表达的组织特异性自身抗原受到自身免疫调节基因(Autoimmune Regulator, Aire)的调控,Aire缺陷型小鼠会自发形成自身免疫疾病,类似于Treg缺失表型。Aire表达的基质细胞能上调CD4<sup>+</sup>T细胞中Foxp3的表达,增强对中等亲和力的自身抗原肽产生反应的nTreg发育<sup>[14]</sup>。Aire调控的抗原表达是否直接作用于nTreg的胸腺发育目前还仍有争议。根据nTreg发育分化的两步模型假设,首先是TCR激活导致CD25表达上调,使细胞易于接受IL-2信号并激活下游STAT5;其次CD28与其配体CD80/CD86结合后产生的下游激活信号诱导FOXP3表达,使得Treg发育并发挥功能<sup>[15]</sup>。

### 1.2 诱导性FOXP3<sup>+</sup>Treg的外周发生

体内和体外实验都已证明能够通过诱导效应CD4<sup>+</sup>T细胞中转录因子FOXP3的表达来产生具有免疫抑制功能的iTreg。例如,在TGF- $\beta$ 信号存在条件下,体外抗原刺激天然T细胞可以诱导产生iTreg<sup>[16]</sup>。在依赖TGF- $\beta$ 的体外Treg诱导过程中,IL-6信号的存在可以阻止iTreg的分化<sup>[17]</sup>,并且TGF- $\beta$ 和IL-6的共同刺激会促进天然T细胞分化为Th17细胞。IL-2信号则可以诱导天然CD4<sup>+</sup>T细胞向FOXP3<sup>+</sup>Treg转化而抑制向Th17细胞的分化<sup>[18]</sup>。此外,维生素A代谢产物视黄酸(retinoic acid,RA)能够抑制IL-6信号诱导的Th17分化。在TGF- $\beta$ 信号存在条件下,RA促进天然T细胞向FOXP3<sup>+</sup>Treg分化<sup>[19]</sup>。

在小鼠中,iTreg和nTreg的发育过程中所需的细胞外信号可能并不相同。nTreg的发育需要中等亲和力的自身抗原肽的TCR刺激,而iTreg的发育则对应于较弱的TCR刺激以及对外周环境中的外源抗原产生反应。共刺激受体CD28信号对iTreg的分化发育不是必需的,因为可以在缺失CD28的条件下体外诱导产生iTreg<sup>[20]</sup>。

由于小肠共生菌与食物是炎症性肠病的主要刺激原,肠相关淋巴样组织(Gut-associated lymphoid tissue, GALT)被认为是诱导 iTreg 产生的主要位点。在富含 TGF- $\beta$  和 RA 信号刺激的环境中,两者共同作用加上抗原刺激可以诱导 T 细胞,其中包括 Th17 细胞、表达 FOXP3 进而分化成 iTreg。GALT 的树突状细胞(dendritic cells, DC)能够分泌 RA,并进一步促进 iTreg 的诱导<sup>[21]</sup>。因此,炎症 Th17 细胞和抑制性 iTreg 之间的动态平衡在体内受到一系列生理信号的调控。小鼠实验证明,共生菌群的组分改变会影响体内这两类细胞数目的动态变化<sup>[22]</sup>。此外,在肠道组织中许多 iTreg 也高表达 ROR $\gamma$ t,并分泌 IL-17<sup>[23]</sup>。总之,在体内 iTreg 与 Th17 细胞的分化具有可塑性,两者的动态平衡取决于细胞所处的组织微环境。

### 1.3 诱导 FOXP3 基因转录的分子机制

最初针对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞的 RNA 及蛋白水平的分析结果都显示 FOXP3 基因在 nTreg 中的特异性转录与表达。在 *scurfy* 或 *Foxp3* 基因敲除小鼠中,没有天然调节性 T 细胞的发育与分化<sup>[24-26]</sup>。同时移植了 *Foxp3* 敲除小鼠和野生型小鼠的骨髓所得嵌合小鼠的混合骨髓中,全部 Treg 都是从野生型骨髓细胞发育而来。由此肯定 FOXP3 在 Treg 发育过程中是必需的。不仅仅是 nTreg 的发育,在外周 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞中导入 FOXP3 的表达,也会诱导其成为具有类似功能的 iTreg。由其可见,Treg 的发育与分化过程中 FOXP3 基因的诱导表达是必不可少的步骤,并且其过程受到一系列生理信号严格调控。

天然 T 细胞的 TCR 受体结合到自身抗原肽/MHC 复合物配体上并通过细胞内下游信号通路激活特定转录因子结合到 FOXP3 基因启动子或增强子区,从而调控 FOXP3 基因转录。例如,在 FOXP3 转录起始位点的 5' 区域,有转录因子 AP-1 和 NFAT 的结合位点。受 TCR 信号激活,AP-1 和 NFAT 的结合促进 FOXP3 转录水平的上调。另外,FOXP3 的增强子区域具有 NFAT 和 Smad3 的特异结合位点,使得 NFAT 和 Smad3 作为调节 nTreg 分化的重要转录因子,可以协同诱导 FOXP3 基因表达<sup>[27]</sup>。

在 FOXP3 基因第一个内含子中具有 CREB/AFT 位点与 CpG 甲基化岛重合,该位点甲基化会抑制 CREB 结合,从而下调 FOXP3 的转录;而诱导 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的 TGF- $\beta$  信号通路则可以诱导该 CpG

岛的去甲基化从而上调 FOXP3 的转录<sup>[28]</sup>。另外,PI3K-Akt 通路的激活会抑制胸腺中 FOXP3 的诱导。这是由于 Akt 介导磷酸化会失活转录因子 Foxo1,而 Foxo 家族成员可以促进 FOXP3 的诱导或表达 FOXP3 的胸腺细胞的存活<sup>[29]</sup>。NF- $\kappa$ B 家族转录因子, c-Rel, 也能促进 FOXP3 的转录。在 TCR/CD28 共刺激条件下, c-Rel 能直接结合到 FOXP3 基因的顺式作用元件、包括其启动子和保守的非编码 DNA 序列上,从而调控 FOXP3 的转录<sup>[30,31]</sup>。最后, iTreg 的诱导分化很大程度上依赖于 TGF- $\beta$  受体信号通路的激活。TGF- $\beta$  对 FOXP3 表达的调控有很多条途径。例如, TGF- $\beta$  受体信号通路抑制 DNA 甲基转移酶 Dnmt1 的招募,阻止了其对 FOXP3 基因的沉默作用<sup>[32,33]</sup>。TGF- $\beta$  受体信号会招募转录因子 Smad 结合到 FOXP3 基因的非编码保守区并促进 FOXP3 转录,小鼠中该区域的缺失突变会导致 iTreg 诱导缺陷。由此可见,在 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的发育分化中,各种生理信号可以通过激活相关正向调节转录因子,或抑制相应负调节因子,上调 FOXP3 的转录与表达。

## 2 FOXP3<sup>+</sup>调节性T细胞的生理功能与作用机制

### 2.1 FOXP3<sup>+</sup>Treg的正常生理功能

调节性 T 细胞是 CD4<sup>+</sup>T 细胞中的一类重要亚群,对于保持自身抗原耐受,防止自身免疫性疾病发生,限制慢性炎症以及调节淋巴细胞增殖的稳态平衡都非常重要。免疫系统能够识别“自我”和“非己”。在免疫细胞发育的早期, T 细胞和 B 细胞在中枢免疫器官通过克隆清除(clonal deletion)获得了对自身抗原的耐受,从而能够区分自身抗原和外来抗原。但是克隆清除并不是绝对的,仍然有部分自身反应性 T 细胞逃脱了克隆清除而迁移到外周免疫系统,但这些细胞可能会失能(Anergy),或者接触到自身抗原而进一步被删除(Deletion)。自身反应性 T 细胞由于和自身抗原的亲合力低,缺少抗原递呈细胞的共刺激或者在生理上和自身抗原隔离而不能被激活。除了这种被动的耐受机制外,机体内还存在一种主动的免疫耐受机制,即调节性 T 细胞诱导的对自身抗原的免疫耐受。1985 年, Sakaguchi 等<sup>[35]</sup>将正常小鼠中的 CD4<sup>+</sup>T 细胞经过体外抗 CD8 和抗 CD5 的抗体和补体处理后,分离出 CD5<sup>low</sup>CD4<sup>+</sup>T 细胞并转移到切除胸腺的 BALB/c 小鼠体内。CD5<sup>low</sup>CD4<sup>+</sup>T 细胞移植数月后在受体小鼠体内多重器

官中皆观察到自身免疫症状。如果将正常的未经处理的CD4<sup>+</sup>T细胞和CD5<sup>low</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞共同移植到小鼠体内,则能够有效抑制自身免疫病。由此说明是T细胞介导了自身免疫疾病的发生。随后的研究进一步发现,CD25是调节性T细胞表面的重要分子标记。将大量的CD25<sup>+</sup>T细胞转移到小鼠体内会导致严重的系统性自身免疫病。而将少量的CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞和CD25<sup>-</sup>T细胞共转移,能够完全抑制自身免疫病<sup>[36]</sup>。2001年,Brunkow等<sup>[37]</sup>通过高通量基因组序列分析的方法发现*foxp3*基因是决定调节性T细胞的重要转录因子。当FOXP3缺失或者FOXP3基因发生突变时,人和动物都会产生严重的自身免疫病<sup>[38]</sup>。

调节性T细胞不仅能抑制自身反应性T细胞,防止自身免疫病的发生,还可以抑制其他多种免疫细胞,包括抗原递呈细胞及效应性T细胞的功能<sup>[39]</sup>。人类在漫长进化过程中和许多的微生物产生了共生关系。例如,在人类的肺、皮肤和肠道都有很多共生物,而Treg细胞在维持这种共生关系中起着重要的免疫调节作用<sup>[40]</sup>。当有外界的病原微生物入侵机体时,效应性T细胞和天然免疫系统会采取一系列的免疫反应来清除病原体。如果产生的免疫反应过强,在清除病原体的同时也可能会导致组织损伤。Treg细胞能够通过抑制效应性T细胞的过度反应从而达到对机体的保护。另一方面,Treg对Teff的抑制作用会被一些病原体所利用,使机体不能完全清除病原体,从而导致慢性感染。如果Treg的抑制作用过强,则有利于病原体的增殖,而危及宿主。例如,在患有结肠炎的小鼠模型中,有效地激活Treg,能够减少由于结肠炎所导致的肠道损伤。另外还能够保护肠道的正常菌群不受过强的免疫反应的损坏,而保持肠道免疫稳态(gut immune homeostasis)<sup>[36]</sup>。在抗利什曼虫(*Leishmania*)感染的小鼠模型中,小鼠在其原初感染的部位仍保持慢性感染,因为Treg在感染部位累积,调控效应性T细胞的作用,阻止机体有效清除寄生物<sup>[40]</sup>。

Treg也可能有利于细菌体内存活和肿瘤增生。抗原特异性Treg的存在能共抑制(bystander suppression)机体抗细菌或抗肿瘤的免疫激活,从而有利于细菌的持续存活,或者促进肿瘤增生。Treg在感染原初部位积累,会抑制局部的抗肿瘤免疫反应,从而导致疾病复发及肿瘤增生。例如,在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)感染导致的胃恶性肿瘤

患者的胃粘膜分离得到的Treg数量比从正常人体内分离得到的多,并且这些Treg能够抑制幽门螺杆菌特异性细胞反应<sup>[41]</sup>。

## 2.2 FOXP3<sup>+</sup>Treg调节免疫抑制的机制

FOXP3<sup>+</sup>Treg对整个免疫系统中的多种免疫细胞有重要的调节抑制作用<sup>[39]</sup>。体外细胞增殖模型以及调节性T细胞特异性基因敲除常被用来分别研究FOXP3<sup>+</sup>Treg的体外及体内免疫抑制机制。分离得到的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞在体外培养时在正常浓度IL-2及TCR刺激下都不增殖<sup>[42]</sup>。体外免疫抑制试验主要有两种,都涉及到调节性T细胞和效应性T细胞共培养,其中一种是加入抗原递呈细胞,并用可溶性的CD3抗体刺激,另外一种是在完全没有抗原递呈细胞的体系中加入磁珠偶联的或者包被的抗CD3的抗体和CD28的抗体共刺激。第一种情况,调节性T细胞抑制的目标细胞可以是效应性T细胞,也可以是抗原递呈细胞,或者两者都是。第二种情况,调节性T细胞抑制的靶向细胞只有效应性T细胞。根据Treg对效应性T细胞(effector T cell, Teff)和DC的抑制作用这里分别加以阐述,虽然两者有时难以区别。

### 2.2.1 FOXP3<sup>+</sup>Treg对效应性T细胞的抑制机制

FOXP3<sup>+</sup>Treg能够抑制FOXP3<sup>-</sup>Teff的IL-2的转录诱导,但是在体外添加IL-2并不能逆转这种抑制作用。Treg细胞表达三种IL-2受体的组成成分:CD25、CD122和CD132。其中CD122和CD132是组成IL-2高亲和力受体复合物的重要成分。Pandihan等<sup>[43]</sup>研究显示,Treg细胞能和Teff细胞竞争消耗IL-2,使之耗竭,从而抑制Foxp3<sup>+</sup>Teff的增殖,并通过前凋亡因子Bim介导的途径诱导Teff凋亡。

另外,分泌可溶性的抑制性细胞因子也能够介导Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞对Teff细胞的抑制作用,但这种抑制作用可能是需要Foxp3<sup>+</sup>Treg和FOXP3<sup>-</sup>Teff细胞的细胞间直接接触。白介素10(Interleukin 10, IL-10)和TGF- $\beta$ 可能参与Treg细胞的抑制作用,但现有研究结果在这一点上仍存在争议。IL-10和TGF- $\beta$ 能够抑制由于Treg细胞缺失而导致的肠炎<sup>[44]</sup>,但是在体外中和IL-10和TGF- $\beta$ 并不能减弱Treg的抑制作用<sup>[45]</sup>。白介素35(Interleukin 35, IL-35)是一种新发现的抑制性细胞因子,它属于IL-12细胞因子家族,是由*Ebi3*(Epstein-Barr virus-induced gene 3, 编码I112 $\beta$ )和*I112 $\alpha$* (编码I112 $\alpha$ /p35)组成的异二聚体。鼠的Treg细胞能够同时表达*Ebi3*和*I112 $\alpha$* ,但是

不能在静息的和激活的CD4<sup>+</sup>的Teff细胞中表达<sup>[46]</sup>。在小鼠外周血的Treg细胞中限制性敲除Foxp3,能下调*Ebi3*的表达,说明*Ebi3*是受Foxp3调节的目标基因。将Teff细胞和Treg细胞共培养,*Ebi*和*Il12a* mRNA的表达都明显上调,故Teff和Treg的接触可能导致IL35的大量产生。在抗CD3和抗CD28的抗体刺激条件下,*Ebi*<sup>-/-</sup>和*Il12a*<sup>-/-</sup>的Treg细胞不能显著抑制Teff细胞的增殖。从*Ebi*<sup>-/-</sup>和*Il12a*<sup>-/-</sup>小鼠中分离的Treg细胞不能维持免疫细胞的稳态也不能有效治愈炎性肠症。而Bardel等<sup>[47]</sup>对人源胸腺细胞进行双重免疫染色发现,FOXP3<sup>+</sup>和CD25<sup>+</sup>细胞都不表达EBI3,并且存在于人类淋巴腺扁桃体,胰腺和肠中的Treg也都不表达EBI3。虽然用抗CD3和抗CD28抗体共刺激,能诱导CD4<sup>+</sup>T细胞低表达EBI3,但刺激条件下的Treg仍不表达EBI3。故认为在Treg和Teff相互作用的过程中,人源Treg不能产生足够的IL-35来抑制Teff。总之,对于IL-35在Treg介导的免疫抑制效应中所发挥的生理作用还需进一步研究。

另一种可能介导Treg和Teff相互作用的分子为β-半乳糖苷结合蛋白1(Galectin-1)。Galectin-1是高度保守的β-半乳糖苷结合蛋白家族的一员,它是一种同源二聚体,能与包括CD45、CD43和CD7在内的许多糖蛋白结合。Galectin-1被分泌到Treg表面,从而与Teff上的受体相互作用,破坏Teff的细胞周期,导致其凋亡,或者抑制其产生前炎症因子。Galectin-1是以可溶性细胞因子的方式还是以细胞-细胞相互接触的方式起作用的现在仍不清楚。阻断Galectin-1的结合,能够显著地降低人源和鼠源CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞的抑制作用,而从galectin-1基因敲除小鼠中分离得到的Treg的免疫抑制功能也显著降低<sup>[48]</sup>。Kubach等<sup>[49]</sup>人用蛋白质组学的方法发现了Galectin家族的另一个成员,Galectin-10能在人源CD25<sup>+</sup>Treg中组成型表达,而不在静息或激活后的CD4<sup>+</sup>Teff中表达。特异性抑制Galectin-10表达,能够恢复CD25<sup>+</sup>Treg的增殖能力,并失去免疫抑制作用。

人源CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>Treg能被抗CD3和CD46抗体刺激激活,诱导表达颗粒酶A(granzyme A),并可以通过穿孔素依赖性而Fas和FasL非依赖性的作用机制去除活化的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞,CD14<sup>+</sup>单核细胞(monocyte)和成熟及未成熟的DC<sup>[50]</sup>。活化的鼠Treg能诱导颗粒酶B(granzyme B)上调。有

研究显示,鼠源Treg杀死Teff是通过依赖于颗粒酶B而不依赖于穿孔素的方式。颗粒酶B基因敲除小鼠体内分离的Treg的免疫抑制功能和野生型的Treg细胞相比有所减弱<sup>[51]</sup>。Cao等<sup>[52]</sup>发现缺失颗粒酶B的小鼠比野生的小鼠更容易清除肿瘤细胞。进一步研究发现颗粒酶B在静息Treg中不表达,而在肿瘤微环境中有5%~30%CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg高表达颗粒酶B。将正常鼠源Treg转移到颗粒酶B缺失的小鼠体内,发现肿瘤细胞的生长有所恢复。从肿瘤环境中分离得到的Treg能够以依赖于颗粒酶B和穿孔素的方式导致NK细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞死亡。基于以上现象,Treg又被称为“细胞杀伤性免疫抑制细胞”(cytotoxic suppressor cells)。

### 2.2.2 FOXP3<sup>+</sup>Treg对抗原递呈细胞的抑制机制

Treg的抑制作用也体现在抑制Teff的发育分化上,所以抑制抗原递呈细胞也能间接抑制Teff的免疫功能。细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4,CTLA-4)是Treg表达的重要分子标记。2008年,Onishi等<sup>[38]</sup>提出抗原激活Treg并产生免疫抑制的两步骤模型:第一步,白细胞功能相关抗原1(leukocyte function-associated antigen-1,LFA-1)促使Treg和未成熟的DC聚集;第二步,以依赖于LFA-1和CTLA-4的方式下调CD80和CD86在DC上的表达,使得DC不能激活未活化T细胞,从而导致特异性免疫抑制和耐受。高水平表达CTLA-4的Treg可以通过CTLA-4和CD80以及CD86的相互作用促使DC表达吲哚胺2,3双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase,IDO)。IDO能降解色氨酸,色氨酸缺失会抑制T细胞活化,从而导致T细胞凋亡<sup>[53]</sup>。

淋巴细胞活化基因-3(Lymphocyte activation gene-3,LAG-3/CD233)是表达在调节性T细胞上的跨膜蛋白,能与抗原递呈细胞的MHCII结合。当Treg和DC相互作用时,LAG-3和MHCII的结合会抑制DC的活化。MHCII和其竞争性抗体交联或(和)LAG-3交联会诱导免疫受体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif,ITIM)介导的抑制信号通路,招募下游蛋白酪氨酸磷酸酶1(SHP-1),抑制DC成熟,下调其免疫激活的能力<sup>[54]</sup>。

在免疫系统中,细胞外的三磷酸腺苷(Adenosine Triphosphate,ATP)能以类似于“天然佐剂”的方式产生多重前炎症效应。当细胞损伤时,

细胞将ATP释放到胞外,给机体以细胞损伤及死亡信号,招募免疫细胞产生前炎症反应。CD39 (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1, ENTPD1)是在免疫系统中大量表达的胞外酶,能水解ATP或ADP成为AMP。在B细胞、DC、鼠源Treg以及大约一半的人源Treg中都表达CD39。FOXP3能促进CD39的表达。另外,Treg被TCR激活后能增强CD39水解ATP的能力。P2型嘌呤受体(purinergic P2 receptor)能够感知胞外的ATP水平。当ATP释放到胞外,P2受体可能介导Treg死亡。而CD39降低胞外ATP的水平,使Treg有可能进入炎症区域,抑制ATP驱使的前炎症过程和DC的成熟<sup>[55]</sup>。从CD39<sup>-/-</sup>的小鼠中分离得到的Treg的抑制作用减弱,在体内不能阻止异体移植物的排斥反应<sup>[56]</sup>。Deaglio<sup>[56]</sup>人发现另外一种胞外酶CD73 (ecto-5'-nucleotidase)与CD39在Treg共表达,能够将AMP进一步水解为腺嘌呤(Adenosine)。腺嘌呤是潜在的T细胞反应抑制物,因为腺嘌呤能和腺苷A2A受体结合,而A2A受体是与T细胞相关的主要抗炎症腺嘌呤受体。

另一种由Treg分泌的可能影响DC功能的分子为纤维蛋白原样蛋白2(fibrinogen-like protein 2, FGL2)<sup>[57]</sup>。FGL2在激活的网状内皮细胞中表达,在天然免疫中起着免疫凝集剂(immune coagulant)的作用。FGL2可能会导致一些炎症失调症状,包括病毒性肝炎,同种和异种移植排斥及炎症因子诱导的流产。*fgl2*<sup>-/-</sup>小鼠随着年龄的增加会产生肾小球性肾炎,而将*fgl2*<sup>-/-</sup>小鼠骨髓细胞转移到正常的小鼠体内也能产生相同的症状。从*fgl2*<sup>-/-</sup>小鼠中分离的Treg抑制野生T细胞增殖的能力减弱,而抗FGL2抗体能够完全阻断Treg的抑制作用。在*fgl2*<sup>-/-</sup>小鼠中,DC数量增加,并且在LPS的刺激下,CD80和MHCII的表达上调,Treg数量也随之增加,但其抑制效应却明显减弱。FGL2通过与低亲和力的FcγRIIB受体结合抑制DC的成熟,诱导B细胞的凋亡<sup>[58]</sup>。因此,认为FGL2对Treg的抑制作用非常重要。

神经菌毛素1(neuropilin 1, Nrp1)是Class III信号素(semaphorin)的受体,也是血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)共受体,可能参与Treg和DC的相互作用。Nrp1能在Treg中表达,但不在静息的Th细胞中表达。Nrp1能够促进Treg和未成熟DC的远程相互作用,特别是在抗原有限的条件下,能增加Treg和DC作

用的灵敏性。阻断Nrp1会减弱Treg和DC的相互作用,而在Foxp3<sup>+</sup>Teff中表达Nrp1,能增加长程相互作用的数目。当Teff被低浓度抗原激活时,抗Nrp1抗体能够完全消除Treg对Teff增殖的抑制。这显示Nrp1能够在低剂量抗原或没有危险信号的情况下优先活化Treg<sup>[59]</sup>。

### 2.3 FOXP3蛋白复合体调节转录的分子机制

FOXP3是Treg特异性转录因子,对Treg的发育和功能起着重要的调节作用。FOXP3介导的Treg的免疫调节功能是通过FOXP3与若干转录共调节蛋白(例如转录因子,共抑制因子,共激活因子,组蛋白以及染色质重建因子)形成蛋白复合体动态调控基因特异性转录<sup>[60]</sup>。例如,FOXP3通过第二外显子编码区与RORγt相互作用,抑制RORγt对IL-17A启动子的激活作用,促进静息T细胞向Treg发育<sup>[61]</sup>。另外,FOXP3能通过与对胸腺T细胞发育非常重要的转录因子家族AML1 (acute myeloid leukaemia 1)/Runx1(Runt-related transcription factor 1)以及AML2 (Runx3)以及AML3(Runx2)相互作用来抑制AML1诱导的IL-2的表达。AML1能够通过结合相应的基因启动子激活CD4<sup>+</sup>T细胞中IL-2和INF-γ的表达,但抑制Treg表面分子标记,如CD25、CTLA-4和GITR的表达<sup>[62]</sup>。由于AML/Runx家族转录因子活性可能和自身免疫病的发生有关,FOXP3对AML1的抑制作用有可能有利于Treg介导的免疫抑制作用。

转录因子NFAT和AP-1(Fos-Jun)形成NFAT:AP-1:DNA复合物调控T细胞激活相关基因的表达。NFAT和AP-1能够与IL-2启动子结合,促进IL-2表达<sup>[63]</sup>。Foxp3也能和NFAT相互作用。Foxp3和AP-1都能结合到IL-2启动子的ARRE2位点,且它们的结合是相互排斥的。故Foxp3和AP-1竞争与NFAT及DNA的结合,但缺失N端,只有C端锌指结构域(Zinc Finger),亮氨酸拉链结构域(Leucine-Zipper)和叉头状结构域(Forkhead domain)的FoxP3则丧失抑制IL-2,上调CTLA-4和CD25的能力。推测FoxP3的N端可能招募某些共激活因子和共抑制因子到*Il2*和*Ctla-4*的启动子上,调节两者的转录表达。由此认为NFAT可能在Treg及Teff中分别通过特异性招募不同的转录因子Foxp3或AP-1来调控两种完全不同的生理功能,即T细胞耐受和T细胞激活<sup>[64]</sup>。

Eos是含有锌指结构的转录因子,属于Ikeros家族的一个成员。Pan等<sup>[65]</sup>发现转录共抑制蛋白

CtBP1(C-terminal binding protein-1)可以直接结合 Eos,但不能直接结合 FOXP3。Eos 招募 CtBP1 结合到 FOXP3 复合体上,从而使得 FOXP3 复合体获得转录抑制活性。Eos 和 CtBP1 在 Treg 中能通过调控 IL-2 启动子的甲基化修饰抑制 IL-2 的表达。敲除 Eos 的 Treg 丧失免疫抑制功能,据此推测 Eos 是 Treg 发挥抑制活性所必需的。

FOXP3 不仅能和其他的转录因子相互作用,还能通过其亮氨酸拉链结构域和 FOXP1 形成异源多聚体,和 FOXP3 形成同源多聚体。维持 FOXP3 的多聚体状态非常重要,是 FOXP3 调节基因转录所必需的。人类 FOXP3 基因在亮氨酸拉链结构域发生点突变,会破坏多聚体结构,导致严重自身免疫疾病,被称为 X 染色体性联合自身免疫失调综合征(XLAAD/IPEX)<sup>[66]</sup>。

FOXP3 的转录抑制功能还受翻译后修饰调节。我们的先前研究发现人源 Treg 中 FOXP3 蛋白发生赖氨酸乙酰化,并且其富含脯氨酸的 N 端可以直接招募组氨酸乙酰转移酶 TIP60(Tat interaction protein, 60 kDa),从而介导 FOXP3 的转录抑制活性。用 shRNA 敲除细胞内源 TIP60,会减弱 FOXP3 介导的转录抑制。同时还发现 FOXP3 能和 II 型组蛋白去乙酰化酶 HDAC7 及 HDAC9 相互作用,形成 FOXP3-TIP60-HDAC 转录复合物,通过翻译后修饰动态调控 FOXP3 的功能<sup>[66]</sup>。van Loosdregt 等<sup>[67]</sup>发现了 FOXP3 的乙酰化还受到另一个组氨酸乙酰转移酶 p300 和组蛋白去乙酰化酶 SIRT1 的调控。p300 和 FOXP3 相互作用,并且促使 FOXP3 乙酰化。乙酰化提高 FOXP3 的稳定性,使其不容易被降解,因此增加 FOXP3 蛋白水平及活性,从而增强 Treg 的正常功能。

### 3 FOXP3<sup>+</sup>调节性T细胞与重大疾病防治

自从 20 世纪 70 年代 Gershon 等<sup>[68]</sup>首次阐述调节性 T 细胞的概念以来,人们就认识到 T 细胞不仅可以增强机体对外源抗原的免疫反应,也可以调节机体免疫反应的强度。后来发现这种能够调节机体免疫强度的 T 细胞就是能够特异性表达转录因子 FOXP3 的 T 细胞亚群(FOXP3<sup>+</sup>Treg)。虽然 FOXP3<sup>+</sup>Treg 首先是因其本身具有抑制自身反应性 T 细胞活性的功能而被发现的<sup>[69]</sup>,但随着后来研究的深入我们逐渐认识到 FOXP3<sup>+</sup>Treg 不仅能够抑制自身反应性 T 细胞活性,而且在调节机体对外源抗原的

免疫反应强度<sup>[70]</sup>、肿瘤免疫逃逸<sup>[71]</sup>和疫苗效率<sup>[72]</sup>等方面也起着重要的作用。

#### 3.1 FOXP3<sup>+</sup>Treg与自身免疫性疾病

调节性 T 细胞 FOXP3<sup>+</sup>Treg 在外周通过抑制自身反应性 T 细胞的活性来维持自身免疫耐受。调节性 T 细胞和自身反应性 T 细胞的平衡对于个体免疫内环境的稳定至关重要,一旦这种平衡关系被打破就将导致严重的自身免疫性疾病,如 X 染色体性联合自身免疫失调综合征(XLAAD/IPEX)、变态反应和炎症肠病。

IPEX 综合征患者在出生后几年中分别有高达 90% 的比例出现 1 型糖尿病(T1D)并发症和大约 70% 的比例伴有甲状腺炎<sup>[73-75]</sup>;也有实验证明自身抗原经抗原递呈细胞递呈尤其是 DC 的持续递呈可以激活自身反应性 T 细胞从而引起器官特异性自身反应性疾病<sup>[76]</sup>。另外,在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)的研究中发现,经历急性自身免疫性疾病的动物当再次遇到相同自身抗原时往往由于 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的活化使得免疫反应不再像初次免疫时那么强烈<sup>[77]</sup>。与抗原诱导的自身免疫性疾病相比,FOXP3<sup>+</sup>Treg 的去除可以在多种器官引起慢性自身免疫性疾病。

总的来说,在人类和小鼠上的发现可以说明潜在致病性自身反应性 T 细胞并非无活性地潜伏于体内,也说明外周自身免疫耐受是一个动态的过程,自身免疫性疾病是由于 FOXP3<sup>+</sup>Treg 和自身反应性 T 细胞之间的比例失衡造成的。在这样一个动态平衡的状态下,任何遗传异常或环境因素导致的朝向自身反应性 T 细胞的失衡都将引起自身反应性疾病。理想的自身免疫性疾病的治疗方法也许并非是清除掉那些自身反应性 T 细胞,而是将这些致病性的效应细胞和记忆细胞减少到正常个体的水平,从而实现 FOXP3<sup>+</sup>Treg 介导的免疫耐受。这可以通过调控体内的 FOXP3<sup>+</sup>Treg 和自身反应性 T 细胞的动态平衡来实现。比如,通过单抗特异性封闭 T<sub>H</sub>17 上的 CD3、CD4 或者 CD40L,从而使得 FOXP3<sup>+</sup>Treg 相对于效应细胞在体内更占优势<sup>[78]</sup>;通过雷帕霉素(Rapamycin)抑制 Akt-mTOR 信号通路可以增强 FOXP3 转录活性和 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的抗凋亡能力,从而相应地增加 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的细胞数目<sup>[79,80]</sup>。另外,鞘氨醇磷酸酯(Sphingosine-1-phosphate, S1P)受体激活剂、去乙酰化抑制剂 Trichostatin A (TSA)及 IL-2-IL2 抗体复合物等也可以通过提高 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的水平来实现免疫内环境的重新稳定<sup>[81-84]</sup>。通过在体外

扩增抗原特异性的 FOXP3<sup>+</sup>Treg, 然后重新输回患者体内的办法也可以实现免疫内环境的重建<sup>[85]</sup>。总之, 通过增强抗原特异性 FOXP3<sup>+</sup>Treg 功能的方法为治疗自身免疫性疾病、变态反应、炎症疾病及建立移植耐受提供了新思路和新手段。随着对 FOXP3<sup>+</sup>Treg 生物学功能的研究深入, 在不久的将来很有希望开发出针对各种免疫紊乱高度特异且安全可靠的免疫疗法。

### 3.2 FOXP3<sup>+</sup>Treg与急慢性传染性疾病

早期研究指出 FOXP3<sup>+</sup>Treg 可以调控免疫效应细胞介导的病理反应强度。事实上, 调节性 T 细胞的主要功能就是对组织损伤的相关信号产生反应以减轻组织损伤的程度<sup>[86]</sup>。然而, 在机体遭受外源病原体感染的过程中, FOXP3<sup>+</sup>Treg 对慢性感染病理进程的调控又会导致感染不能及时清除和感染性疾病的久治不愈。

重组激活基因-2 缺失小鼠在卡式肺囊虫感染后不会引起可检测的免疫病理变化, 过继性输入 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞到该小鼠体内虽然可控制卡式肺囊虫的感染但却会引起严重的肺部组织损伤, 这种炎症损伤在输入 FOXP3<sup>+</sup>Treg 后可得到缓解<sup>[87]</sup>; 在白色念珠菌感染小鼠过程中, 减少小鼠体内的 FOXP3<sup>+</sup>Treg 水平可有效控制致病菌的感染, 但同时也会增强胃肠炎症病理损伤<sup>[88]</sup>; HCV 对人体肝脏的慢性感染会导致严重的肝损伤, 常需要进行肝脏移植。移植后的肝组织切片显示移植组织炎症损伤程度与外周 FOXP3<sup>+</sup>Treg 数目呈负相关<sup>[89]</sup>。以上发现说明 FOXP3<sup>+</sup>Treg 在感染过程中起到双重作用, 在抑制抗感染免疫反应的同时也可以减轻免疫反应对机体造成的炎症损伤。

FOXP3<sup>+</sup>Treg 对过度免疫反应调节的另一个后果是使病原体更容易在宿主体内生存, 甚至使宿主长期携带该致病菌而导致慢性感染。这种慢性感染的建立也可以认为是宿主免疫系统与感染病原体之间相互妥协的结果。在小鼠的硕大利什曼虫感染模型中 FOXP3<sup>+</sup>Treg 是病原体在体内生存的必要条件<sup>[90]</sup>, 这足以说明 FOXP3<sup>+</sup>Treg 确实可以增强感染病原体的生存。低剂量的病毒感染可通过促进 FOXP3<sup>+</sup>Treg 水平而保护小鼠免受 CD4<sup>+</sup>T 细胞介导的病理反应, 在这一过程中也同时建立了对二次感染的免疫力<sup>[91]</sup>。降低小鼠体内 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的水平可以促进小鼠对白色念珠菌感染的清除, 却会增强自身免疫性病理反应并失去对二次感染免疫反应的能力<sup>[88]</sup>。所有这些

模型都说明宿主与病原体之间的平衡依赖于 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的调节功能, 并且这种平衡对两者都有利。

然而, 在一些病原体感染条件下 FOXP3<sup>+</sup>Treg 自身似乎也可以打破这种平衡状态而导致宿主的机体损伤, FOXP3<sup>+</sup>Treg 对宿主-病原体免疫平衡的危害也逐渐被得到重视。比如, 清除 FOXP3<sup>+</sup>Treg 可以保护致死性约氏疟原虫感染的小鼠免于死亡<sup>[92]</sup>, 这是由于移除了患疟疾老鼠体内 FOXP3<sup>+</sup>Treg 有助于 Teff 产生抗寄生虫免疫反应并控制感染; 移除外周血单核细胞中的 FOXP3<sup>+</sup>Treg 可以增强机体 CD4<sup>+</sup>T 细胞对 HIV 的抗病毒反应<sup>[93]</sup>, 体外试验证明 FOXP3<sup>+</sup>Treg 通过细胞接触的方式抑制 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞的 HIV 特异性抗病毒反应<sup>[94]</sup>; HCV 慢性感染者外周血 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的数目多于非感染者, 体外试验证明去除感染者外周血 FOXP3<sup>+</sup>Treg 可以增强 CD8<sup>+</sup>T 细胞介导的抗原特异性反应<sup>[95]</sup>。

综上所述, FOXP3<sup>+</sup>Treg 参与了很多, 甚至全部的宿主对病原体感染的免疫反应中。FOXP3<sup>+</sup>Treg 一方面可以抑制过度免疫反应造成的组织损伤, 这在多数慢性感染中对宿主是有利的; 另一方面, FOXP3<sup>+</sup>Treg 也会抑制宿主对病原体感染发挥有效的保护性免疫反应, 不利于宿主对病原体的及时清除。虽然对 FOXP3<sup>+</sup>Treg 在机体抗感染免疫中调控细节的研究将是一个很大的挑战, 但是这将有助于我们对各种急慢性感染性疾病的治疗, 因此具有非常重要的意义。

### 3.3 FOXP3<sup>+</sup>Treg与癌症免疫治疗

近年来的研究证实, Treg 介导的免疫抑制是肿瘤免疫逃逸的一种关键机制, 也是肿瘤免疫治疗的主要障碍<sup>[96,97]</sup>。肿瘤细胞可主动诱导 Treg 的迁移、分化和扩增, 从而抑制肿瘤相关抗原(TAA)特异性的免疫反应<sup>[71]</sup>。

免疫效应细胞尤其是能够分泌 IFN- $\gamma$  的 CD4<sup>+</sup> Th1 细胞, CD8<sup>+</sup> 细胞毒性 T 细胞(CTL)和 NK 细胞可以起到对肿瘤的免疫监视作用。koebel 等<sup>[98]</sup>研究显示, IL-12 诱导 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞分泌的 IFN- $\gamma$  对抑制致癌物的致癌作用非常关键。肿瘤细胞可以分泌大量的免疫抑制分子, 包括 TGF $\beta$ 、IL10、吲哚胺-2,3 双加氧酶(IDO)、环氧酶 2 (COX2), 以及能够诱导 iTreg 分化的前列腺素 PGE-2<sup>[99]</sup>。又因为大部分肿瘤抗原都是自身抗原, 所以 Treg 介导的对 TAA 特异性淋巴细胞的抑制作用有可



能是抗肿瘤免疫失败的主要原因。在多种肿瘤患者外周血中均检测到 Treg 的数量高于正常人水平<sup>[71]</sup>。

近年来利用小鼠模型研究 FOXP3<sup>+</sup>Treg 在肿瘤免疫病理中的作用进展很快。在体内用 CD25 特异性抗体可以抑制多种肿瘤的生长,CD25 特异性抗体的抗肿瘤效用也在多个小鼠肿瘤模型中得到验证;CTLA4 特异性抗体也能有效地提高肿瘤免疫强度和增强肿瘤免疫治疗的效果<sup>[71]</sup>;另外,过继性输入人源<sup>[100]</sup>或鼠源<sup>[101,102]</sup>的 Treg 能够降低体内针对肿瘤的免疫反应强度。总之,移除或降低 Treg 的抑制活性有助于肿瘤清除。

多数关于肿瘤免疫治疗的研究都是通过利用抗原呈递细胞,肿瘤特异性 T 细胞和细胞因子等免疫激活成分来增强肿瘤免疫。随着对 Treg 在肿瘤免疫中功能的了解,我们认识到打破肿瘤免疫抑制,改变 Treg 的迁移、分化、功能和信号转导也是一个很好的治疗思路<sup>[97]</sup>。以免疫抑制分子和 Treg 为对象的研究为成功应用肿瘤的免疫治疗指明了方向。比如,利用 CD25 特异性抗体或低剂量的环磷酰胺等方法去除体内的 Treg;利用 CCL22 特异性抗体抑制 Treg 向肿瘤的转运;阻断 FOXP3 信号通路或 CTLA4、PD1、IL10、TGFβ、VEGF 等免疫抑制分子的信号通路可抑制 Treg 的发育及功能,以上这些都将成为肿瘤免疫治疗的重要靶点<sup>[71]</sup>。尽管 Treg 可以作为非常有吸引力的独立靶点,结合传统的肿瘤治疗和免疫治疗方法来抑制 Treg 细胞活性可能会取得更有效且稳定可靠的临床治疗效果<sup>[97]</sup>。

#### 3.4 FOXP3<sup>+</sup>Treg与新型疫苗研发

前面提到 FOXP3<sup>+</sup>Treg 可以增强病原体对机体免疫反应的耐受力,尤其是在慢性感染过程中 Treg 在很大程度上抑制了机体对病原体的清除。因此,对于 HIV、HCV 和结核分支杆菌等一类病原体的慢性感染,病原特异性 Treg 的免疫抑制作用是治疗性疫苗接种效用的主要障碍。

现有试验结果也显示,在体内抑制 Treg 活性可以增强疫苗接种效果。比如,在 型单纯疱疹病毒 DNA 或多肽的预防接种之前使用 CD25 抗体去除体内 Treg 可以增强 CD8<sup>+</sup>T 细胞的抗病毒反应<sup>[103]</sup>;CD25 抗体可以增强接种疟疾疫苗的小鼠体内 IFN-γ 的表达水平及其抗疟疾能力<sup>[104]</sup>;在接种前注射 IL10R 抗体能够增强利什曼原虫疫苗的效率<sup>[105]</sup>。同样的方法也在人类肿瘤免疫治疗研究中取得了很好的效果。比如,去除转移性肾细胞癌患者体内 Treg,然后皮内注射在体外转染了肿瘤 RNA 的成熟 DC 可以增强肿

瘤特异性 CTL 反应<sup>[106]</sup>。IL10 抗体与 CpG 的组合使用还可以增强小鼠肿瘤模型 DC 疫苗的治疗效率<sup>[107]</sup>。

疫苗接种激活机体对特异病原体的适应性免疫反应,而 Treg 的诱导与激活会抑制这种适应性免疫反应的激活。因此,在疫苗接种时,尤其是宿主处于免疫抑制状态或弱免疫原性疫苗接种时就更有必要减弱 Treg 的诱导。在感染和肿瘤中的研究证实抑制 Treg 活性后增强效应性 T 细胞活性是提高疫苗效率非常有效的方法。为抑制 Treg 对疫苗效率的影响,我们可以在两种不同方向上实现对 Treg 的功能抑制。一方面,我们可以直接以 Treg 本身为靶点,开发新的药物来抑制 Treg 发育、分化及功能。我们的前期研究表明;调节性 T 细胞的活性不仅取决于转录因子 FOXP3 蛋白的水平,而且受 FOXP3 的翻译后修饰和转录抑制复合体装配的影响<sup>[60,66]</sup>。因此,在疫苗免疫过程中可以通过开发特异性药物抑制 FOXP3 转录复合体活性来负调控 Treg 的生理功能,进而达到增强疫苗效率的目的。另一方面,我们也可以开发特异性药物阻断 IL10、TGFβ 等免疫抑制分子的信号通路,进而抑制 Treg 的诱导。研究发现 TLR 激活剂可以通过 p38 MAPK 信号通路诱导 DC 产生免疫抑制分子 IL-10 和 PGE2,而炎症因子 IL12 是通过 IRFs 信号通路诱导产生。因此,我们可以利用 p38 MAPK 信号通路抑制剂选择性地抑制免疫抑制分子产生的信号通路进而增强机体先天免疫反应<sup>[108]</sup>。将 TLR 激活剂和 p38 抑制剂组合使用就可以大大增强疫苗效率。类似的,对患有 B16 肿瘤的小鼠同时施用能递呈肿瘤特异性 HSP70 的 DC 细胞和 COX-2 抑制剂可以延迟肿瘤的生长和延长小鼠的生命<sup>[109]</sup>。随着我们对 Treg 调控机制和体内各种免疫细胞相互作用机制的深入研究,相信我们将来会开发出更多、更高效和特异性更好的免疫负调节抑制剂来增强针对感染性疾病的疫苗的免疫效率。

最后,通过 DNA 疫苗与蛋白抗原相结合的方法,直接诱导出体内 iTreg,用于自身免疫性疾病的治疗<sup>[110,111]</sup>也是一种可行的方法。所以在疫苗研发过程中针对不同的疾病类型,无论是正调节 Treg 功能的增强剂或负调节 Treg 活性的抑制剂都有其特异的临床利用价值。

#### 4 总结与展望

尽管 FOXP3<sup>+</sup>Treg 研究领域目前进展很快,许多重要的科学问题仍然尚待回答,比如在细胞水平上调节性 T 细胞是如何调节其他免疫细胞活性的,

以及在分子水平上FOXP3是采用何种机制使得调节性 T 细胞获得免疫抑制活性的目前仍然所知甚少。不断积累的实验证据显示, FOXP3 基因表达的水平及持续状态对于 nTreg 的发育成熟及功能是至关重要的<sup>[112,113]</sup>。另外, FOXP3 结合多重转录因子, 以及具有酶学活性的转录复合体对于抑制 T 细胞中细胞因子的转录激活是必需的, 并且 FOXP3 蛋白翻译后修饰、转录复合体装配及其修饰酶类的活性受 T 细胞受体及细胞因子受体信号的动态调节<sup>[1,114]</sup>。最后, 人源 FOXP3<sup>+</sup>Treg 与鼠源 Foxp3<sup>+</sup>Treg 在发育、功能及可塑性多重方面都有很大差异, 这为我们将基础免疫研究转化为临床研究, 如基于 Treg 的细胞治疗, 以及理解人类特有的重大传染性疾病提供了新的研究命题与挑战。深入研究人源 Treg 及转录因子 FOXP3 的生化活性、生理功能及其调控的分子机理, 对于治疗性控制人体内 Treg 的免疫活性以及基于 Treg 的免疫治疗皆至关重要。

**致谢:** 感谢姚正菊、Andy Tsun、徐咏芬、林芳、张晶及所有分子免疫学课题组成员的批评、讨论与建议。感谢上海巴斯德基金会、中国科学院知识创新工程、中德合作科研项目(PPP)和中科院-诺和诺德基金会(NN-CAS)对本课题组有关 Treg 研究的资助。

### 参 考 文 献

- [1] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 2008, 133(5): 775-87
- [2] Littman DR, Rudensky A. Th17 and regulatory T Cells in mediating and restraining inflammation. *Cell*, 2010, 140(6): 845-58
- [3] Sakaguchi S. Naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 531-62
- [4] Asano M, Toda M, Sakaguchi N, et al. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med*, 1996, 184(2): 387-96
- [5] Kim JK, Klinger M, Benjamin J, et al. Impact of the TCR signal on regulatory T cell homeostasis, function, and trafficking. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6580
- [6] Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, et al. Thymus and autoimmunity: production of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol*, 1999, 162(9): 5317-26
- [7] Hsieh CS, Zheng Y, Liang Y, et al. An intersection between the self-reactive regulatory and nonregulatory T cell receptor repertoires. *Nat Immunol*, 2006, 7(4): 401-10
- [8] Kronenberg M, Rudensky A. Regulation of immunity by self-reactive T cells. *Nature*, 2005, 435(7042): 598-604
- [9] Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity*, 2000, 12(4): 431-40
- [10] Tai X, Cowan M, Feigenbaum L, et al. CD28 costimulation of developing thymocytes induces Foxp3 expression and regulatory T cell differentiation independently of interleukin 2. *Nat Immunol*, 2005, 6(2): 152-62
- [11] D'Cruz LM, Klein L. Development and function of agonist-induced CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in the absence of interleukin 2 signaling. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1152-9
- [12] Marie JC, Letterio JJ, Gavin M, et al. TGF-beta1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *J Exp Med*, 2005, 201(7): 1061-7
- [13] Akiyama T, Maeda S, Yamane S, et al. Dependence of self-tolerance on TRAF6-directed development of thymic stroma. *Science*, 2005, 308(5719): 248-51
- [14] Mathis D, Benoist C. A decade of AIRE. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(8): 645-50
- [15] Lio CW, Hsieh CS. A two-step process for thymic regulatory T cell development. *Immunity*, 2008, 28(1): 100-11
- [16] Chen W, Jin W, Hardegen N, et al. Conversion of peripheral CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> naive T cells to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells by TGF-β induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*, 2003, 198(12): 1875-86
- [17] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, 2006, 441(7090): 235-8
- [18] Laurence A, Tato CM, Davidson TS, et al. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity*, 2007, 26(3): 371-81
- [19] Mucida D, Park Y, Kim G, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. *Science*, 2007, 317(5835): 256-60
- [20] Workman CJ, Szymczak-Workman AL, Collison LW, et al. The development and function of regulatory T cells. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(16): 2603-22
- [21] Coombes JL, Powrie F. Dendritic cells in intestinal immune regulation. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(6): 435-46
- [22] Ivanov, II, Atarashi K, Manel N, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*, 2009, 139(3): 485-98
- [23] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF-β-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORγ function. *Nature*, 2008, 453(7192): 236-40
- [24] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2003, 4(4): 330-6
- [25] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003, 299(5609): 1057-61
- [26] Khattry R, Cox T, Yasayko SA, et al. An essential role for Scurfin in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cells. *Nat Immunol*, 2003, 4(4): 337-42
- [27] Tone Y, Furuuchi K, Kojima Y, et al. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer. *Nat Immunol*, 2008, 9(2): 194-202

- [28] Kim HP, Leonard WJ. CREB/ATF-dependent T cell receptor-induced FoxP3 gene expression: a role for DNA methylation. *J Exp Med*, 2007, 204(7): 1543-51
- [29] Haxhinasto S, Mathis D, Benoist C. The AKT-mTOR axis regulates de novo differentiation of CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> cells. *J Exp Med*, 2008, 205(3): 565-74
- [30] Long M, Park SG, Strickland I, et al. Nuclear factor- $\kappa$ B modulates regulatory T cell development by directly regulating expression of Foxp3 transcription factor. *Immunity*, 2009, 31(6): 921-931
- [31] Ruan Q, Kameswaran V, Tone Y, et al. Development of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells is driven by the c-Rel enhanceosome. *Immunity*, 2009, 31(6): 932-40
- [32] Josefowicz SZ, Wilson CB, Rudensky AY. Cutting edge: TCR stimulation is sufficient for induction of Foxp3 expression in the absence of DNA methyltransferase 1. *J Immunol*, 2009, 182(11): 6648-52
- [33] Lal G, Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression. *Blood*, 2009, 114(18): 3727-35
- [34] Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A, et al. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature*, 2010, 463(7282): 808-12
- [35] Sakaguchi S, Fukuma K, Kuribayashi K, et al. Organ-specific autoimmune diseases induced in mice by elimination of T cell subset. I. Evidence for the active participation of T cells in natural self-tolerance; deficit of a T cell subset as a possible cause of autoimmune disease. *J Exp Med*, 1985, 161(1): 72-87
- [36] Powrie F, Leach MW, Mauze S, et al. Phenotypically distinct subsets of CD4<sup>+</sup> T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int Immunol*, 1993, 5(11): 1461-71
- [37] Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet*, 2001, 27(1): 68-73
- [38] Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, et al. Foxp3<sup>+</sup> natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells *in vitro* and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(29): 10113-8
- [39] Rudensky AY, Campbell DJ. *In vivo* sites and cellular mechanisms of T reg cell-mediated suppression. *J Exp Med*, 2006, 203(3): 489-92
- [40] Belkaid Y, Tarbell K. Regulatory T cells in the control of host-microorganism interactions. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 551-89
- [41] Enarsson K, Lundgren A, Kindlund B, et al. Function and recruitment of mucosal regulatory T cells in human chronic *Helicobacter pylori* infection and gastric adenocarcinoma. *Clin Immunol*, 2006, 121(3): 358-68
- [42] Thornton AM, Shevach EM. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. *J Exp Med*, 1998, 188(2): 287-96
- [43] Pandiyan P, Zheng L, Ishihara S, et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4<sup>+</sup> T cells. *Nat Immunol*, 2007, 8(12): 1353-62
- [44] Asseman C, Mauze S, Leach MW, et al. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med*, 1999, 190(7): 995-1004
- [45] Takahashi T, Kuniyasu Y, Toda M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. *Int Immunol*, 1998, 10(12): 1969-80
- [46] Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, 2007, 450(7169): 566-9
- [47] Bardel E, Larousserie F, Charlot-Rabiega P, et al. Human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells do not constitutively express IL-35. *J Immunol*, 2008, 181(10): 6898-905
- [48] Garin MI, Chu CC, Golshayan D, et al. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells. *Blood*, 2007, 109(5): 2058-65
- [49] Kubach J, Lutter P, Bopp T, et al. Human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells: proteome analysis identifies galectin-10 as a novel marker essential for their anergy and suppressive function. *Blood*, 2007, 110(5): 1550-8
- [50] Grossman WJ, Verbsky JW, Barchet W, et al. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity*, 2004, 21(4): 589-601
- [51] Gondek DC, Lu LF, Quezada SA, et al. Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J Immunol*, 2005, 174(4): 1783-6
- [52] Cao X, Cai SF, Fehniger TA, et al. Granzyme B and perforin are important for regulatory T cell-mediated suppression of tumor clearance. *Immunity*, 2007, 27(4): 635-46
- [53] Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, et al. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2003, 4(12): 1206-12
- [54] Liang B, Workman C, Lee J, et al. Regulatory T cells inhibit dendritic cells by lymphocyte activation gene-3 engagement of MHC class II. *J Immunol*, 2008, 180(9): 5916-26
- [55] Borsellino G, Kleinewietfeld M, Di Mitri D, et al. Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3<sup>+</sup> Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. *Blood*, 2007, 110(4): 1225-32
- [56] Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med*, 2007, 204(6): 1257-65
- [57] Shevach EM. Mechanisms of foxp3<sup>+</sup> T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity*, 2009, 30(5): 636-45
- [58] Shalev I, Liu H, Kosciuk C, et al. Targeted deletion of fgl2 leads to impaired regulatory T cell activity and development of autoimmune glomerulonephritis. *J Immunol*, 2008, 180(1): 249-60
- [59] Sarris M, Andersen KG, Randow F, et al. Neuropilin-1 expression on regulatory T cells enhances their interactions with dendritic cells during antigen recognition. *Immunity*, 2008, 28(3): 402-13

- [60] Li B, Greene MI. Special regulatory T-cell review: FOXP3 biochemistry in regulatory T cells-how diverse signals regulate suppression. *Immunology*, 2008, 123(1): 17-9
- [61] Ichiyama K, Yoshida H, Wakabayashi Y, et al. Foxp3 inhibits ROR $\gamma$ -mediated IL-17A mRNA transcription through direct interaction with ROR $\gamma$ . *J Biol Chem*, 2008, 283(25): 17003-8
- [62] Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, et al. Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/Runx1. *Nature*, 2007, 446(7136): 685-9
- [63] Rooney JW, Sun YL, Glimcher LH, et al. Novel NFAT sites that mediate activation of the interleukin-2 promoter in response to T-cell receptor stimulation. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(11): 6299-10
- [64] Wu Y, Borde M, Heissmeyer V, et al. FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell*, 2006, 126(2): 375-87
- [65] Pan F, Yu H, Dang EV, et al. Eos mediates Foxp3-dependent gene silencing in CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Science*, 2009, 325(5944): 1142-6
- [66] Li B, Samanta A, Song X, et al. FOXP3 interactions with histone acetyltransferase and class II histone deacetylases are required for repression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(11): 4571-6
- [67] van Loosdregt J, Vercoulen Y, Guichelaar T, et al. Regulation of Treg functionality by acetylation-mediated Foxp3 protein stabilization. *Blood*, 2010, 115(5): 965-74
- [68] Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology*, 1970, 18(5): 723-37
- [69] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$ -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*, 1995, 155(3): 1151-64
- [70] Belkaid Y, Rouse BT. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nat Immunol*, 2005, 6(4): 353-60
- [71] Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(4): 295-307
- [72] Mills KH. Designer adjuvants for enhancing the efficacy of infectious disease and cancer vaccines based on suppression of regulatory T cell induction. *Immunol Lett*, 2009, 122(2): 108-11
- [73] Gambineri E, Torgerson TR, Ochs HD. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15(4): 430-5
- [74] Wildin RS, Smyk-Pearson S, Filipovich AH. Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome. *J Med Genet*, 2002, 39(8): 537-45
- [75] Gambineri E, Perroni L, Passerini L, et al. Clinical and molecular profile of a new series of patients with immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome: inconsistent correlation between forkhead box protein 3 expression and disease severity. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(6): 1105-12
- [76] Watanabe H, Inaba M, Adachi Y, et al. Experimental autoimmune thyroiditis induced by thyroglobulin-pulsed dendritic cells. *Autoimmunity*, 1999, 31(4): 273-82
- [77] McGeachy MJ, Stephens LA, Anderson SM. Natural recovery and protection from autoimmune encephalomyelitis: contribution of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory cells within the central nervous system. *J Immunol*, 2005, 175(5): 3025-32
- [78] Nagahama K, Fehervari Z, Oida T, et al. Differential control of allo-antigen-specific regulatory T cells and effector T cells by anti-CD4 and other agents in establishing transplantation tolerance. *Int Immunol*, 2009, 21(4): 379-91
- [79] Basu S, Golovina T, Mikheeva T, et al. Cutting edge: Foxp3-mediated induction of pim 2 allows human T regulatory cells to preferentially expand in rapamycin. *J Immunol*, 2008, 180(9): 5794-8
- [80] Strauss L, Whiteside TL, Knights A, et al. Selective survival of naturally occurring human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells cultured with rapamycin. *J Immunol*, 2007, 178(1): 320-9
- [81] Liu G, Burns S, Huang G, et al. The receptor S1P1 overrides regulatory T cell-mediated immune suppression through Akt-mTOR. *Nat Immunol*, 2009, 10(7): 769-77
- [82] Sawicka E, Dubois G, Jarai G, et al. The sphingosine 1-phosphate receptor agonist FTY720 differentially affects the sequestration of CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup> T-regulatory cells and enhances their functional activity. *J Immunol*, 2005, 175(12): 7973-80
- [83] Wang L, Tao R, Hancock WW. Using histone deacetylase inhibitors to enhance Foxp3<sup>+</sup> regulatory T-cell function and induce allograft tolerance. *Immunol Cell Biol*, 2009, 87(3): 195-202
- [84] Webster KE, Walters S, Kohler RE, et al. *In vivo* expansion of T reg cells with IL-2-mAb complexes: induction of resistance to EAE and long-term acceptance of islet allografts without immunosuppression. *J Exp Med*, 2009, 206(4): 751-60
- [85] Luo X, Tarbell KV, Yang H, et al. Dendritic cells with TGF- $\beta$ 1 differentiate naive CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells into islet-protective Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2821-6
- [86] Mason D, Powrie F. Control of immune pathology by regulatory T cells. *Curr Opin Immunol* 1998.10 (6): 649-55
- [87] Hori S, Carvalho TL, Demengeot J. CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells suppress CD4<sup>+</sup> T cell-mediated pulmonary hyperinflammation driven by *Pneumocystis carinii* in immunodeficient mice. *Eur J Immunol*, 2002, 32(5): 1282-91
- [88] Montagnoli C, Bacci A, Bozza S, et al. B7/CD28-dependent CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells are essential components of the memory-protective immunity to *Candida albicans*. *J Immunol*, 2002, 169(11): 6298-308
- [89] Cabrera R, Tu Z, Xu Y, et al. An immunomodulatory role for CD4<sup>+</sup>TregCD25<sup>+</sup> regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2004, 40(5): 1062-71
- [90] Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S, et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells control *Leishmania major* persistence and immunity. *Nature*, 2002, 420(6915): 502-7

- [91] Suvas S, Azkur AK, Kim BS, et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells control the severity of viral immunoinflammatory lesions. *J Immunol*, 2004, 172(7): 4123-32
- [92] Hisaeda H, Maekawa Y, Iwakawa D, et al. Escape of malaria parasites from host immunity requires CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Med*, 2004, 10(1): 29-30
- [93] Aandahl EM, Michaelsson J, Moretto WJ, et al. Human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells control T-cell responses to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus antigens. *J Virol*, 2004, 78(5): 2454-9
- [94] Kinter AL, Hennessey M, Bell A, et al. CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells from the peripheral blood of asymptomatic HIV-infected individuals regulate CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> HIV-specific T cell immune responses in vitro and are associated with favorable clinical markers of disease status. *J Exp Med*, 2004, 200(3): 331-43
- [95] Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, et al. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. *Hepatology*, 2003, 38(6): 1437-48
- [96] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*, 2004, 21(2): 137-48
- [97] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4): 263-74
- [98] Koebel CM, Vermi W, Swann JB, et al. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state. *Nature*, 2007, 450(7171): 903-7
- [99] Conroy H, Marshall NA, Mills KH. TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *Oncogene*, 2008, 27(2): 168-80
- [100] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med*, 2004, 10(9): 942-9
- [101] Turk MJ, Guevara-Patino JA, Rizzuto GA, et al. Concomitant tumor immunity to a poorly immunogenic melanoma is prevented by regulatory T cells. *J Exp Med*, 2004, 200(6): 771-82
- [102] Antony PA, Piccirillo CA, Akpınarli A, et al. CD8<sup>+</sup> T cell immunity against a tumor/self-antigen is augmented by CD4<sup>+</sup> T helper cells and hindered by naturally occurring T regulatory cells. *J Immunol*, 2005, 174(5): 2591-601
- [103] Toka FN, Suvas S, Rouse BT. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells regulate vaccine-generated primary and memory CD8<sup>+</sup> T-cell responses against herpes simplex virus type 1. *J Virol*, 2004, 78(23): 13082-9
- [104] Moore AC, Gallimore A, Draper SJ, et al. Anti-CD25 antibody enhancement of vaccine-induced immunogenicity: increased durable cellular immunity with reduced immunodominance. *J Immunol*, 2005, 175(11): 7264-73
- [105] Stober CB, Lange UG, Roberts MT, et al. IL-10 from regulatory T cells determines vaccine efficacy in murine *Leishmania* major infection. *J Immunol*, 2005, 175(4): 2517-24
- [106] Dannull J, Su Z, Rizzieri D, et al. Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. *J Clin Invest*, 2005, 115(12): 3623-33
- [107] Vicari AP, Chiodoni C, Vaure C, et al. Reversal of tumor-induced dendritic cell paralysis by CpG immunostimulatory oligonucleotide and anti-interleukin 10 receptor antibody. *J Exp Med*, 2002, 196(4): 541-9
- [108] Jarnicki AG, Conroy H, Brereton C, et al. Attenuating regulatory T cell induction by TLR agonists through inhibition of p38 MAPK signaling in dendritic cells enhances their efficacy as vaccine adjuvants and cancer immunotherapeutics. *J Immunol*, 2008, 180(6): 3797-806
- [109] Toomey D, Conroy H, Jarnicki AG, et al. Therapeutic vaccination with dendritic cells pulsed with tumor-derived Hsp70 and a COX-2 inhibitor induces protective immunity against B16 melanoma. *Vaccine*, 2008, 26(27-28): 3540-49
- [110] Jin H, Kang Y, Zhao L, et al. Induction of adaptive T regulatory cells that suppress the allergic response by coimmunization of DNA and protein vaccines. *J Immunol*, 2008, 180(8): 5360-72
- [111] Jin H, Xiao C, Geng S, et al. Protein/DNA vaccine-induced antigen-specific Treg confer protection against asthma. *Eur J Immunol*, 2008, 38(9): 2451-63
- [112] Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3. *Nat Immunol*, 2007, 8(3): 277-84
- [113] Wan YY, Flavell RA. Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature*, 2007, 445(7129): 766-70
- [114] Ohkura N, Sakaguchi S. A novel modifier of regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2009, 10(7): 685-6

## 附录 缩写表 :

FOXP3	Forkhead box P3 叉头蛋白 P3
Treg	regulatory T cell 调节性 T 细胞
nTreg	natural Treg 天然型调节性 T 细胞
iTreg	induced Treg 诱导性调节性 T 细胞
Teff	effector T cell 效应性 T 细胞
TCR	T cell receptor T 细胞表面受体
Lck	leukocyte-specific protein tyrosine kinase 白细胞特异性蛋白酪氨酸激酶
RAG	recombinase-activating gene 重组激活基因
MHC	major histocompatibility complex 主要组织相容性复合体
IL	interleukin 白介素
TGF- $\beta$	transforming growth factor $\beta$ 转化生长因子 $\beta$
GITR	glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor 糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体
mTECs	medullary thymic epithelial cells 胸腺髓质上皮细胞
Aire	autoimmune regulator 自身免疫调节基因
STAT	signal transducers and activators of transcription 信号传导及转录激活因子
RA	retinoic acid 视黄酸
GALT	gut-associated lymphoid tissue 肠相关淋巴样组织
ROR	retinoid-related orphan receptor 类视黄醛相关孤受体
AP-1	activator protein 1 活化蛋白 1
NFAT	nuclear factor of activated T-cells 活化 T 细胞核因子
NF $\kappa$ B	nuclear facotr $\kappa$ B 核因子 $\kappa$ B
CREB	cAMP-response element binding protein cAMP 应答元件结合蛋白
EBi3	Epstein-Barr virus-induced gene 3 Epstein-Barr 病毒诱导基因 3
DC	dendritic cells 树突状细胞
CTLA-4	cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原
LFA-1	leukocyte function-associated antigen-1 白细胞功能相关抗原 1
IDO	indoleamine 2,3-dioxygenase 吲哚胺 2,3 双加氧酶
LAG-3	lymphocyte activation gene-3 淋巴细胞活化基因 -3
ITIM	immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif 免疫受体酪氨酸抑制基序
ATP	adenosine triphosphate 三磷酸腺苷
FGL2	fibrinogen-like protein 2 纤维蛋白原样蛋白 2
Nrp1	neuropilin 1 神经菌毛素 1
VEGF	vascular endothelial growth factor 血管内皮细胞生长因子
AML1/RUNX1	acute myeloid leukaemia 1/Runt-related transcription factor 1 成骨特异性转录因子
CtBP1	C-terminal binding protein-1 C 端结合蛋白 1
XLAAD/IPEX	X-linked autoimmunity-allergic dysregulation/Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, and Enteropathy,
X-linked syndrome	X 染色体性联合自身免疫失调综合征
TIP60	Tat interaction protein, 60 kDa tat 结合蛋白 60
HDAC	Histone deacetylase 组蛋白去乙酰化酶
T1D	type 1 diabetes 1 型糖尿病
EAE	experimental autoimmune encephalomyelitis 实验性自身免疫性脑脊髓炎
TAA	tumor associated antigen 肿瘤相关抗原
TLR	Toll like receptor Toll 样受体
CTL	cytotoxic T lymphocyte 细胞毒性 T 淋巴细胞
COX-2	cyclooxygenase-2 环氧化酶 -2
PGE2	prostaglandin E2 前列腺素 E2
MAPK	mitogen-activated protein kinases 促分裂素原活化蛋白激酶
HIV	human immunodeficiency virus 人类免疫缺陷病毒
HCV	hepatitis C virus 丙型肝炎病毒