

文章编号: 1004-0374(2012)01-0050-04

Toll样受体直接调节Treg细胞抑制功能的研究进展

李文新¹, 王嘉军^{2*}

(1 浙江省东阳市人民医院输血科, 东阳 322100; 2 三峡大学医学院, 宜昌 443002)

摘要: Treg 细胞具有维持自身免疫耐受, 调节免疫应答的作用。Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 家族可识别病原相关分子模式或内源性配体, 启动固有和适应性免疫应答。Treg 细胞选择性表达某些 TLRs, TLRs 活化可能直接增强或降低 Treg 的免疫抑制功能, 这种调节可以影响对感染和肿瘤的免疫监视、移植免疫排斥和自身免疫病发生的进程。因此, 了解两者的关系对发现新的治疗靶点和对策有重要的作用。简要综述 TLRs 对 Treg 细胞抑制功能直接调节作用的研究进展。

关键词: Toll 样受体; Treg 细胞; 免疫调节

中图分类号: R392.11 **文献标志码:** A

Advance in Toll-like receptors (TLRs) directly regulate the immunosuppressive function of regulatory T cells

LI Wen-Xin¹, WANG Jia-Jun^{2*}

(1 Department of Transfusion Medicine, Zhejiang Dongyang People's Hospital, Dongyang 322100, China;
2 Medical School, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: Regulatory T (Treg) cells maintain self-immune tolerance and regulate immune responses to prevent excessive immune-mediated tissue damage. The family of Toll-like receptors (TLRs) is a major class receptors that recognize the molecular pattern associated with pathogen or endogenous ligands to initiate innate as well as the adaptive immune responses. Recent evidence has showed that Treg cells selectively expressed some TLRs, whose activation can increase or decrease their suppressive activity. Treg modulation by TLRs might influence such processes as the response to infections, immune surveillance to cancer, transplant rejection, and the induction of autoimmunity. Understanding the link between Tregs and TLR could be beneficial to the discovery of new therapeutic targets and strategies. This paper briefly review relative reports, which TLRs directly affect the function of Treg cells.

Key words: TLRs; Treg cells; immune regulatory

1 Treg细胞(regulatory T cells)生物学特性

Treg 细胞是具有维持机体免疫功能动态平衡、诱导自身耐受、调节免疫应答、抑制移植排斥反应等重要功能的特殊 CD4⁺T 细胞亚群。现已证实 Treg 细胞缺乏或功能抑制会导致多种自身免疫疾病 (如类风湿关节炎和系统性红斑狼疮), 如适当治疗后, 症状明显改善^[1-2]。Knutson 等^[3]研究发现 Treg 细胞能降低机体抗炎反应和参与抗肿瘤免疫调节。

Treg 细胞根据其来源可分为来源于胸腺的天然 Treg 细胞, 特征性标记是 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, 占

CD4⁺ 细胞总数的 5%~15%。活化后可强烈抑制效应性 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞的免疫应答^[4]。另一类为静息 T 细胞在特定微环境和某些细胞因子诱导下分化而成的诱导性 Treg 细胞, 主要包括 Tr1 和 Th3 细胞亚群。Tr1 主要特征是分泌高浓度的 IL-10 产生

收稿日期: 2011-08-26; 修回日期: 2011-10-14

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2009CDB280)

*通信作者: E-mail: wangjiajunzhch@126.com; Tel: 0717-6397438

抑制作用; 而 Th3 可分泌大量的 TGF- β 抑制免疫应答, 对诱导和维持外周免疫耐受具有重要作用^[5-6]。

Treg 细胞产生抑制作用主要有 3 种方式^[7-8]: (1) 细胞-细胞接触: Treg 细胞必须与靶细胞相互接触, 通过细胞膜抑制分子(膜型 TGF- β 、Fas 和颗粒酶 β , LAG3 和 CTLA-4) 的作用抑制靶细胞的活化、增殖和分化; (2) 局部分泌抑制性因子: Treg 细胞分泌的可溶性 TGF- β 、IL-10 和 IL-35 产生抑制活性效应; (3) 局部竞争生长因子。Treg 细胞因高表达 CD25 剥夺了效应性 T 细胞利用 IL-2, 并诱导剥夺后细胞凋亡^[9]。Whiteside 等^[10] 研究发现, Treg 细胞可能通过调节来源于组织的腺苷(cAMP)促使 T 细胞失能和消除自身免疫的破坏能力。

2 TLRs家族及其配体

Toll-like receptors (TLRs) 是一组主要识别细菌、病毒、真菌和寄生虫上保守结构分子(病原相关分子模式, PAMP) 和内源性配体的受体家族。现已鉴定能够识别不同 PAMP 的 13 种人和鼠 TLRs^[11]。TLRs 在多种免疫细胞均有表达, 如 DC、T 细胞、NK 细胞和单核巨噬细胞等。根据免疫细胞 TLRs 的定位, 可分为细胞膜型和细胞内 TLRs。定位于细胞表面 TLRs 包括 TLR1、2、4、5、6、11。TLR1/TLR2 异二聚体识别细菌三聚脂蛋白; TLR4 识别革兰氏阴性菌的 LPS; TLR5 识别该类细菌的鞭毛蛋白; TLR2/TLR6 则可识别细菌二聚体的类脂蛋白; TLR11 的配体是非致病性大肠埃希氏菌和弓形虫菌毛蛋白。免疫细胞内 TLRs 有 TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9, 主要识别核酸类, 如 RNA、DNA 及其衍生物。目前 TLR10、12、13 的配体还不清楚。TLRs 可结合内源性配体^[12], 特别是病理性组织损伤释放的内源性配体, 如热休克蛋白(HSP)60 和 70 是 TLR2、4 的内源性配体, 而 TLR3 可结合 mRNA。鼠 β 型防御素、乙酰肝素和 SPA 可与 TLR4 结合。现有实验和临床研究证据显示, TLRs 不仅介导识别入侵病原的特殊结构启动天然和适应性免疫应答, 而且参与自身免疫疾病和癌症的发生^[13]。

3 TLRs直接调节Treg细胞免疫抑制功能

Kabelitz^[14] 研究发现, CD4⁺CD25⁺Treg 细胞除了表达多种 TLRs, 如 TLR1、TLR2、TLR3 和 TLR6 外, 还选择性高表达 TLR4、TLR5、TLR7 和 TLR8。人和鼠 CD4⁺CD25⁺Tregs 表达 TLRs 水平平均比 CD4⁺T 细胞表达高。现发现这些 TLRs 具有调节 CD4⁺

CD25⁺Treg 细胞功能的作用, 现分述如下。

3.1 TLR2对Treg细胞功能的调节

TLR2 具有直接调节 Treg 细胞增殖和抑制功能的双重作用, 且其外源性配体和内源性配体作用不同, 这可能是 TLR2 结合配体来源差异所致。体内、外实验均证实^[15]: TLR2 外源性配体(如细菌脂蛋白 Pam3Cys-SK4) 刺激野生型小鼠, 其 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数目显著增加, 但免疫抑制功能暂时消失; 而去除 TLR2 配体后, Treg 细胞抑制功能恢复。有学者报道, 应用 Pam3Cys 结合 TLR2 后, Treg 抑制靶细胞增殖的活性降低, 且 IL-6、IL-17 分泌增加, Foxp3 表达降低, RORC 增加。中和 IL-6、IL-17 后, Pam3Cys 降低 Treg 抑制的作用消失。与小鼠实验一致, 刺激 Treg 的 TLR2 能促使前体辅助性 T 细胞分化为 Th17。笔者认为, 共同刺激 TCR 和 TLR2 可促进 Treg 分化为类 Th17 表型细胞, Treg 和 Th17 是不同分化且相互抑制的细胞, Th17 分泌的 IL-17 也可减弱 Treg 的抑制功能。TLR2 对 Treg 的负性调节机制有助于微生物的清除, 但也增加了自身免疫病的危险。急性感染模型显示^[16-17]: 如体内有 TLR2 配体时, Treg 细胞抑制作用暂时消失, 使免疫应答增强。现认为外源性配体刺激 TLR2 在直接诱导 Treg 细胞增殖的同时也暂时丧失免疫抑制作用。由于 TLR2 刺激 Treg 细胞后 Foxp3 的表达下降, 推测其机制可能是 Foxp3 下调促使 Treg 细胞抑制功能丧失。敲除 TLR2 和 MyD88 基因小鼠实验证实 Treg 细胞的功能确实依赖于 TLR2 和 MyD88; 但应用 TLR2 内源性配体 HSP60, 发现 Treg 细胞对靶细胞 CD4⁺CD25⁺T 或 CD8⁺T 细胞抑制作用增强, 认为是 HSP60 与 TLR2 结合后, 通过 TLR2 信号转导导致蛋白激酶 C(PKC)、磷脂酰肌醇激酶 3 (PIK-3) 和 P38 活化增强 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞抑制, 从而下调免疫应答, APC 无关。HSP60 可通过细胞间接触机制和分泌细胞因子 IL-10 和 TGF- β 增强 CD4⁺CD25⁺Treg 抑制靶细胞的能力。上述的体内外抑制性实验均使用 TLR2 缺陷的效应性 T 细胞, 从而排除其他 TLR 对效应性 T 细胞的影响, 进一步证实 TLR2 可直接调节 Treg 细胞功能。最近研究显示, 采用 TLR2 外源性配体 Pam3Cys-SK4 和天然激动剂嗜肺军团菌与效应性 T、DC 和 Treg 共培养后, TLR2 激动剂可直接诱导效应性 T 细胞增殖, 分泌细胞因子。无论是野生型还是 TLR2 缺陷型的 Treg, 均表现为对效应性 T 细胞的增殖抑制作用减弱, 且其细胞因子分泌减少^[18]。

3.2 TLR4对Treg细胞功能的调节

CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的 TLR4 与配体 LPS 结合后, 诱导 Treg 细胞活化和增殖, 使 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的抑制能力上升 10 倍, 并且激活的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞能有效控制幼稚 CD4⁺T 细胞介导的疾病发生, 提出 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞可经 TLR4 调控含 LPS 细菌所致炎症, 增强 Treg 细胞抑制炎症反应的作用^[19-20]。自身免疫大肠炎小鼠实验显示, 缺乏 TLR4 的肠固有层 Treg 分泌炎症因子和抗炎性因子失调, 分泌无预防炎症作用的 IL-17 和 IFN- γ , 认为其 Treg 功能异常, 丧失维持上皮内环境稳定的功能, 加重肠内炎症反应^[21]。

但其他研究并未发现 LPS 对 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的类似作用^[22]。

3.3 TLR5对Treg细胞功能的调节

TLR5 常见的配体是鞭毛素, 对黏膜免疫应答调节作用重要。TLR5 可增强 Treg 细胞的抑制能力。CD4⁺CD25⁺Treg 细胞和 CD4⁺CD25⁺T 细胞均表达 TLR5, 但对细胞的效应完全不同。共培养抑制实验显示, 鞭毛素刺激 Treg 细胞可有效增强对效应性 T 细胞的免疫抑制作用, 同时增强 Foxp3 的表达, 而效应性 CD4⁺T 细胞 TLR5 与鞭毛素结合可促进细胞增殖和 IL-2 生成^[23]; 但移植肿瘤小鼠模型不同时段给予鞭毛素后, 对 Treg 细胞的作用却完全相反^[24-26]。在肿瘤移植 8~10 d 后给予 TLR5 特异性识别鞭毛素, 能够显著抑制肿瘤移植生长, IFN- γ : IL-4 比率升高, CD4⁺CD25⁺Treg 细胞减少; 而肿瘤移植后即刻给予鞭毛素, 可促进肿瘤加速生长, IFN- γ : IL-4 比率降低, CD4⁺CD25⁺Treg 细胞增加。这可能是鞭毛素对效应性 T 细胞和 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞不同作用的结果。

3.4 TLR7对Treg细胞功能的调节

Van 等^[27]对 OVA 诱导过敏性哮喘小鼠模型注射 TLR7 配体瑞喹莫德 (resiquimod, R848) 后, 哮喘症状减轻, Treg 数目上升。未用瑞喹莫德组则体内的 Treg 耗竭, 无过敏抑制。实验发现, 这种免疫抑制作用主要是依靠 TGF- β 通路, IL-10 起效甚微。

3.5 TLR8对Treg细胞功能的调节

天然和诱导性的 Treg 均高表达 TLR8, TLR8 能直接逆转 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的免疫抑制功能。无 DC 时, TLR8 配体 CpG-A 和寡聚核苷酸 G10 可直接逆转 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的免疫抑制作用^[28-29]。实验显示, 短的寡聚核苷酸 [poly (G2)、poly (G3)

和 poly (G4)] 比长的寡聚核苷酸 [poly (G5)、poly (G7) 和 poly (G10)] 能更有效地逆转 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的免疫抑制功能^[22]。共培养抑制实验结果可见, 直接刺激 Treg 细胞的 TLR8, 其抑制作用消失。采用 RNAi 方法抑制 TLR8 和 MyD88 表达, 则 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞丧失对寡聚核苷酸 G10 的反应, 提出 TLR8-MyD88 信号转导通路直接调控 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的免疫抑制功能的假说^[30]。

3.6 TLR9对Treg细胞功能的调节^[31]

TLR9 可诱导 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞增殖, 但其配体 CpG 寡聚核苷酸优先结合效应性 T 细胞, 造成 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞丢失部分抑制活性。TLR9 配体 CpG 寡聚核苷酸可增强抗 CD3 单抗诱导 CD4⁺CD25⁺T 细胞和 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的增殖。TLR9 导致 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞丧失部分的抑制活性, 这可能是配体优先结合效应性 T 细胞 TLR9, 从而阻断与 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的结合引起。因此, TLR9 配体促使效应性 T 细胞增殖的同时削弱 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的抑制活性, 可迅速增强机体适应性免疫作用。

4 结语

综上所述, CD4⁺CD25⁺Treg 细胞表达的某些 TLRs 可直接调节 Treg 细胞的免疫抑制功能, 如 TLR2、TLR8 和 TLR9 可消除或逆转 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞免疫抑制功能, 而 TLR2、TLR4 或 TLR5 可增强 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞免疫抑制活性。尽管有观点认为刺激不同的 TLRs 可促使 Foxp3 表达上调或下调, 从而相应改变 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的功能, 但 TLR 信号如何影响 Foxp3 的表达仍不确切^[32]。另一观点认为刺激 TLRs 后, CD4⁺CD25⁺Treg 细胞丧失免疫抑制功能但增殖能力增强, 是因为 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞接受强烈刺激后迅速丢失抑制增殖作用造成, 可推测某些 TLR 信号通路促使 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞进入增殖状态, 相应地逆转其免疫抑制能力; 但 TLR4 可诱导 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞增殖的同时增强其免疫抑制作用并不支持这种推测^[33]。现对 TLR2、TLR4 等对 CD4⁺CD25⁺Treg 直接调节作用仍有争议, TLRs 调节 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞免疫抑制作用的机制尚不清楚, 仍需进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Nyirenda MH, O'Brien K, Sanvito L, et al. Modulation of

- regulatory T cells in health and disease: role of toll-like receptors. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2009, 8(2): 124-9
- [2] Morgan ME, Flierman R, van Duivenvoorde LM et al. Effective treatment of collagen-induced arthritis by adoptive transfer of CD25⁺ regulatory T cells. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(7): 2212-21
- [3] Knutson KL, Disis ML, Salazar LG. CD4 regulatory T cells in human cancer pathogenesis. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(3): 271-85
- [4] Ochs HD, Gambineri E, Torgerson TR. IPEX, FOXP3 and regulatory T-cells: a model for autoimmunity. *Immunol Res*, 2007, 38(1-3): 112-21
- [5] Carrier Y, Yuan J, Kuchroo VK, et al. Th3 cells in peripheral tolerance. I. Induction of Foxp3-positive regulatory T cells by Th3 cells derived from TGF- β T cell-transgenic mice. *J Immunol*, 2007(1), 178: 179-85
- [6] Awasthi A, Carrier Y, Person JPS, et al. A dominant function for interleukin 27 in generating interleukin 10-producing anti inflammatory T cells. *Nat Immunol*, 2007, 8(12): 1380-9
- [7] Pandiyan P, Zheng L, Ishihara S, et al. CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4⁺ T cells. *Nat Immunol*, 2007, 8(12): 1353-62
- [8] Shevach EM. Special regulatory T cell review: how i became a T suppressor/regulatory cell maven. *Immunology*, 2008, 123(1): 3-5
- [9] Dai J, Liu B, Li Z. Regulatory T cells and Toll-like receptors: what is the missing link? *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(5): 528-33
- [10] Whiteside TL, Mandapathil M, Szczepanski M, et al. Mechanisms of tumor escape from the immune system: adenosine-producing Treg exosomes and tumor-associated TLRs. *Bull Cancer*, 2011, 90(2): E25-31
- [11] Uematsu S, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *J Mol Med*, 2006, 84(9): 712-25
- [12] Zanin-Zhorov A, Cahalon L, Tal G, et al. Heat shock protein 60 enhances CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell function via innate TLR2 signaling. *J Clin Invest*, 2006, 116(7): 2022-32
- [13] Germain RN. Special regulatory T-cell review: a rose by any other name: from suppressor T cells to Tregs, approbation to unbridled enthusiasm. *Immunology*, 2008, 123(1): 20-7
- [14] Kabelitz D. Expression and function of toll-like receptors in T lymphocytes. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(1): 39-45
- [15] Nyirenda MH, Sanvito L, Darlington PJ, et al. TLR2 Stimulation drives human naive and effector regulatory T Cells into a Th17-like phenotype with reduced suppressive function. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2278-90
- [16] Liu H, Komai KM, Xu D, et al. Toll-like receptor 2 signaling modulates the functions of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(2): 7048-53
- [17] Suttmuller RPM, Den BM, Kramer M, et al. Toll-like receptor 2 controls expansion and function of regulatory T cells. *J Clin Invest*, 2006, 116(3): 485-94
- [18] Van Maren WW, Nierkens S, Toonen LW, et al. Multifaceted effects of synthetic TLR2 ligand and *Legionella pneumophila* on Treg-mediated suppression of T cell activation. *BMC Immunol*, 2011, 24(3): 12-23
- [19] Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, et al. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J Exp Med*, 2003, 197(4): 403-11
- [20] Asea A, Rehli M, Kabingu E, et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J Biol Chem*, 2002, 277(17): 15028-34
- [21] Matharu KS, Mizoguchi E, Cotoner CA, et al. Toll-like receptor 4-mediated regulation of spontaneous *Helicobacter*-dependent colitis in IL-10-deficient mice. *Gastroenterology*, 2009, 137(4): 1380-90
- [22] Suttmuller RP, Morgan ME, Netea MG, et al. Toll-like receptors on regulatory T cells: expanding immune regulation. *Trends Immunol*, 2006, 27(8): 387-93
- [23] Sfondrini L, Rossini A, Besusso D, et al. Antitumor activity of the TLR-5 ligand flagellin in mouse models of cancer. *J Immunol*, 2006, 176(11): 6624-30
- [24] 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
- [25] Valencia X, Yarboro C, Illei G, et al. Deficient CD4⁺CD25⁺ high T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Immunol*, 2007, 178(4): 2579-88
- [26] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*, 2010, 11(5): 373-84
- [27] Van LP, Bardel E, Gregoire S, et al. Treatment with the TLR7 agonist R848 induces regulatory T-cell-mediated suppression of established asthma symptoms. *Eur J Immunol*, 2011, 41(7): 1992-9
- [28] Peng G, Guo Z, Kiniwa Y, et al. Toll-like receptor 8-mediated reversal of CD4⁺ regulatory T cell function. *Science*, 2005, 309(5739): 1380-4
- [29] Peng G, Wang HY, Peng W, et al. Tumor-infiltrating gamma-delta T cells suppress T and dendritic cell function via mechanisms controlled by a unique Toll-like receptor signaling pathway. *Immunity*, 2007, 27(2): 334-48
- [30] Oberg HH, Juricke M, Kabelitz D, et al. Regulation of T cell activation by TLR ligands. *Eur J Cell Biol*, 2011, 90(6-7): 582-92
- [31] Van Maren WW, Jacobs JF, de Vries IJ, et al. Toll-like receptor signalling on Tregs: to suppress or not to suppress? *Immunology*, 2008, 124(4): 445-52
- [32] Liu G, Zhang L, Zhao Y. Modulation of immune responses through direct activation of Toll-like receptors to T cells. *Clin Exp Immunol*, 2010, 160(2): 168-75
- [33] Croci DO, Zacarias Fluck MF, Rico MJ, et al. Dynamic cross-talk between tumor and immune cells in orchestrating the immunosuppressive network at the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(11): 1687-70