

- CREB, BDNF and Bcl-2 pathway and ameliorating BBB permeability in rat[J]. Brain Res Bull, 2013, 96:45-53.
- [12] Birks J. Cholinesterase inhibitors for Alzheimers disease [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2006(1):CD005593.
- [13] 刘文娟,戴雪伶,姜招峰.淀粉样蛋白神经毒性及其防治策略[J].生命科学,2011,23(10):1022-1026.
- [14] Matsuzaki K, Yamakuni T, Hashimoto M, et al. Nobiletin restoring beta-amyloid-impaired CREB phosphorylation rescues memory deterioration in Alzheimer's disease model rats[J]. Neurosci Lett, 2006, 400(3):230-234.
- [15] Li Q, Chen M, Liu H, et al. Expression of APP, BACE1, AChE and ChAT in an AD model in rats and the effect of donepezil hydrochloride treatment [J]. Mol Med Rep, 2012, 6(6):1450-1454.
- [16] Nagase H, Omae N, Omori A, et al. Nobiletin and its related flavonoids with CRE-dependent transcription-stimulating and neuriteogenic activities[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 337(4):1330-1336.
- [17] Matsuzaki K, Miyazaki K, Sakai S, et al. Nobiletin, a citrus flavonoid with neurotrophic action, augments protein kinase A-mediated phosphorylation of the AMPA receptor subunit, GluR1, and the postsynaptic receptor response to glutamate in murine hippocampus[J]. Eur J Pharmacol, 2008, 578(2-3):194-200.
- [18] Yi LT, Xu HL, Feng J, et al. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of nobiletin [J]. Physiol Behav, 2011, 102(1):1-6.
- [19] Choi SY, Hwang JH, Ko HC, et al. Nobiletin from citrus
- 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.22.046
- fruit peel inhibits the DNA-binding activity of NF- κ B and ROS production in LPS-activated RAW 264.7 cells [J]. J Ethnopharmacol, 2007, 113(1):149-155.
- [20] Mosley RL, Benner EJ, Kadiu I, et al. Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease[J]. Clin Neurosci Res, 2006, 6(5):261-281.
- [21] Lee YJ, Han SB, Nam SY, et al. Inflammation and Alzheimer's disease[J]. Arch Pharm Res, 2010, 33(10):1539-1556.
- [22] Cui YJ, Wu JJ, Jung SC, et al. Anti-neuro inflammatory activity of nobiletin on suppression of microglial activation[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(11):1814-1821.
- [23] Guo S, Qiu P, Xu G, et al. Synergistic anti-inflammatory effects of nobiletin and sulforaphane in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(9):2157-2164.
- [24] Gong B, Vitolo OV, Trinchese F, et al. Persistent improvement in synaptic and cognitive functions in an Alzheimer mouse model after rolipram treatment[J]. J Clin Invest, 2004, 14(11):1624-1634.
- [25] Al Rahim M, Nakajima A, Saigusa D, et al. 4'-Demethyl-nobiletin, a bioactive metabolite of nobiletin enhancing PKA/ERK/CREB signaling, rescues learning impairment associated with NMDA receptor antagonism via stimulation of the ERK cascade[J]. Biochemistry, 2009, 48(32):7713-7721.

(收稿日期:2014-01-18 修回日期:2014-04-20)

Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的形成与疾病治疗的研究进展*

章婷婷¹, 骆春艳² 综述, 王嘉军^{2△} 审校

(1. 三峡大学第二人民医院检验科, 湖北宜昌 443003; 2. 三峡大学医学院, 湖北宜昌 443003)

关键词: Treg; 抑制; 炎症; 治疗

中图分类号: R392.9

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)22-2951-03

调节性 T 细胞(Treg)表达的 Foxp3 转录因子是免疫调节的关键因子。Treg 的耗竭、缺失或 Foxp3 的功能失调均可导致爆发的、多器官自身免疫和早期死亡^[1]。诱导性 Treg (iTreg) 在黏膜免疫中至关重要, 不仅可以减轻组织特异性自身免疫, 亦是肿瘤浸润性 Treg 的主要成分。因此, 深入理解病理条件下 Treg 的形成及特征有望为疾病的治疗提供新的靶点。

1 Treg 的生物学特性

1.1 Treg 的分类及作用机制 Treg 是具有显著免疫抑制作用的 CD4⁺ T 细胞亚群, 据其来源可分为两类: 天然调节 T 细胞(nTreg)和 iTreg。nTreg 发育自胸腺细胞, 其表型特征主要为 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺, iTreg 则可由传统 T 细胞(Tconv)经

过活化在外周上调表达 Foxp3 而来。二者很难通过细胞表面标志进行区分。最新一项研究提出神经纤维网蛋白 1(Nrp1)可作为 Foxp3⁺ nTreg 的特异性标志, 对此尚存争议^[2]。Treg 的形成、维持及其活性依赖于局部炎症反应和内环境稳态所建立的动态平衡。

Treg 可通过多种机制发挥其抑制免疫应答的功能, 包括表达抑制细胞表面蛋白如细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4), 分泌抑制因子如白细胞介素-10(IL-10)和肿瘤坏死因子- β (TGF- β), 导致代谢紊乱和直接的细胞溶解等。

1.2 nTreg 和 iTreg 的特征 Treg 能够抑制细胞增殖、抑制炎性因子和抗体的产生、抑制记忆 T 细胞的功能, 还能诱导效应细胞的凋亡。nTreg 和 iTreg 有很多相同的调控特征^[3]。然

* 基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2009CDB280)。 作者简介: 章婷婷(1985-), 在读研究生, 主要从事免疫学方面的研究。 △

通讯作者, Tel: 15572708236; E-mail: wangjiajunzhch@126.com。

而, nTreg 源于胸腺对自身肽-MHC 复合物的选择性识别, iTreg 则由传统 T 细胞发展而来, 更倾向于识别外来抗原。因此, 这 2 类细胞作用于不同的靶点。iTreg 和 nTreg 的功能活动不同, 二者的基因表达方式也不同。

研究发现^[4], 体内抗原特异性诱导的 $Foxp3^+$ 细胞不表达转录因子 Helios, 说明这种转录因子可能是 nTreg 的潜在特异性标志。体外通过用小干扰 RNA(SiRNA) 来基因敲除 Helios, 能够降低 Treg 的抑制功能, 由此说明通过调节 Helios 的功能和表达水平可能以不同的形式增强或减弱 Treg 的活性。与 nTreg 相比, iTreg 中 Foxp3 的启动子因素未发生去甲基化, 致使其表现出显著的不稳定性。事实上, 尽管 iTreg 在病理条件下存在广泛的抑制效应, 但它可恢复效应形式, 从而有助于免疫病理^[5]。

1.3 iTreg 的形成 体内促进 iTreg 形成的条件尚未完全清楚。虽然在淋巴细胞减少时 T 细胞保持稳态扩增, 但在非炎症条件下机体接触低剂量或口服抗原以及成熟 DC 细胞的抗原提呈均有利于 iTreg 的形成^[6]。采用阻断的研究^[7] 揭示了体内 IL-2 和 TGF- β 在 iTreg 的诱导中所起的作用。维 A 酸可通过增加 TGF- β 的分泌促进 iTreg 的形成, 芳香烃受体信号和 mTor 抑制剂可进一步促进 Foxp3 的上调^[8]。一旦诱导发生, Foxp3 可阻断其自身的启动子, 帮助稳定自身的表达, 同时通过拮抗孤儿核受体(ROR γ t)的功能进而抑制效应 T 细胞的分化。

2 病理条件下 iTreg 的产生

iTreg 在胃肠道黏膜免疫中极其重要, 它既能减轻组织特异性自身免疫, 亦是肿瘤浸润性 Treg 的主要成分。然而, 在肿瘤系统、糖尿病等许多情况下, iTreg 的形成受到限制^[9]。

2.1 胃肠道免疫中的 iTreg 胃肠道黏膜层界面含有共栖生微生物和摄入的食物, 机体针对这些微生物和食物抗原产生的免疫反应可以引发炎症性肠病(IBD)或食物不耐受。由于胸腺不表达摄入的和肠道微生物的抗原, 而 nTreg 是在胸腺通过识别自身抗原和阳性选择获得的, 故 nTreg 的特异性选择受限。因此, 肠内抗原特异性 T 细胞成熟转化为 iTreg 对于维持胃肠道的稳态可能是必要的。事实上, 在胃肠道中发现了对于微生物和食物抗原具有特异性的 iTreg, 它们可以弥补 nTreg 的功能缺陷从而保护机体免受结肠炎^[3]。

模型研究发现^[10], 小鼠缺乏 Foxp3 基因的保守核苷酸序列 1(CNS1), 因而不能发展为 iTreg。CNS1 包括一个 TGF- β -NFAT 反应要素, 该要素是形成 iTreg 形成所必需的, 但它不影响 nTreg 的形成。CNS1 缺乏的小鼠较少发生全身性自身免疫病, 但其对自发性结肠炎高度易感。此外, 肠系膜淋巴结(MLN)中的 $CD103^+$ DC 细胞在 TGF- β 和 RA 存在的环境下通过产生 iTreg 继而促进免疫耐受。肠内产生的免疫耐受同样可抑制远期自身免疫病的进展, 例如: 糖尿病^[11]。TGF 诱导的 iTreg 细胞比 nTreg 更稳定, 有更强的功能性。此外, 即使在炎症状态, iTreg 细胞仍可发挥致耐受性效应^[12]。因此, 人类 iTreg 在治疗慢性免疫介导的炎症性疾病中存在巨大的潜能。

2.2 糖尿病中的 iTreg 在用胰岛素免疫后, 非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠可诱导产生 iTreg, Treg 的转移可阻止疾病的发生^[13]。患有自发性糖尿病的 NOD 小鼠产生的 iTreg 及其功能目前尚未明确。研究发现^[14], 所有的反式维甲酸(ATRA)

均可增加 Treg 的数量, 保护小鼠免受胰岛炎, 而在用 ATRA 治疗前预先耗竭 Treg 则使机体丧失这种保护作用, 说明仅依赖 ATRA 诱导产生的 iTreg 不足以充分发挥此保护作用。

糖尿病 BDC2.5TCR 转基因模型同样证明了这个观点^[15]。在一个 RAG-/-T 细胞转移模型中, 抗胸腺细胞球蛋白导致的免疫耐受依赖于 $CTLA4^+$ BDC2.5 iTreg 效应物的诱导, 这说明 iTreg 的形成与特异性的治疗环境相关联。TCR 转基因模型中的 T 细胞常表达一种内源性重排的 TCR α 第二链, 进一步分析这些第二链的组成成分可知: 胰岛浸润性 Treg 与 Tconv 无关。这说明在这些糖尿病小鼠中 iTreg 并非总与 Treg 应答密切相关。

$Foxp3$ 基因的甲基化作用为复查这些自身免疫疾病中的 Treg 提供了新途径。由于 nTreg 和 iTreg 识别不同的自身抗原, 炎性细胞因子调节 nTreg 胸腺外的分化, 同时可调节 nTreg 向 Th17 或 Th1 分化, 阻止其向 iTreg 分化。因此, 通过细胞因子环境塑造 Treg 增加了以 Treg 细胞为基础的免疫治疗^[16]。

2.3 肿瘤微环境中的 iTreg 肿瘤可产生一种免疫抑制性环境, 并通过诱导 TGF- β 或其他机制促进 iTreg 的形成。许多肿瘤中显示有大量的 Treg 浸润^[17]。Tconv 或 nTreg 募集时诱导产生 Foxp3 的过程是肿瘤依赖性的。分析肿瘤模型的组成成分可知 Treg 浸润是由循环 Treg 归巢, 继而扩增而来, 而非瘤内形成 iTreg, 且鼠类胶质母细胞瘤中浸润的 Treg 主要也是胸腺来源的^[18]。进一步对致癌原的组成成分进行分析, 包括肿瘤浸润性 Tconv 和 Treg 构成的最小的 TCR 重叠区, 结果发现肿瘤浸润性细胞与肿瘤转移性淋巴结中的细胞存在很大的相似性^[17]。

此外, 对小鼠恶性黑色肿瘤细胞(B16F1)黑色素瘤的研究^[19] 显示了肿瘤反应性 Tconv 和 Treg 组成成分之间的重要重叠序列, 说明 iTreg 的产生为 Treg 应答提供了主要成分。从黑色素瘤患者中分离得到的 Treg 也有一个同样高水平的成分重叠序列。由此可见, 浸润性 Treg 的起源具有肿瘤特异性的变化, 仅在某些肿瘤中存在实体 iTreg 的形成。了解瘤内诱导形成 iTreg 的环境因素有助于更好地消除肿瘤特异性免疫应答中的 Treg 抑制作用。

3 iTreg 与疾病的治疗

iTreg 在维持免疫平衡和免疫调节中扮演着至关重要的角色, 故而成为治疗免疫相关疾病的潜在靶点。诱导或将 Treg 转入小鼠可以成功调节移植免疫耐受度, 提示 Treg 依赖的治疗可作为长期无药物服用的患者发生移植耐受的机制^[20]。因此, 调节 Treg 的诱导、转移及功能的关键因素对于发挥其治疗潜能意义重大。

T 细胞可表达促使 Th1 成熟的受体 C3a 和 C5a。研究表明^[21], 使 C3aR 和 C5aR 的基因缺失或药理阻断其信号可以增加 iTreg 的产生, 稳定 Foxp3 的表达, 抵抗 iTreg 向分泌 IFN- γ /TNF- α 的效应细胞转化, 继而限制临床移植植物抗宿主病的表现。故靶向 C3a/C5aR 或二者的相互作用可促进 iTreg 介导的同种抗原的耐受。细胞因子信号肽抑制剂(SOCS)是 CD4 $^+$ T 细胞分化的关键调控因素, 目前已经知道它可抑制 Th2 细胞的发展和变态免疫反应。最新研究证明^[22], SOCS 是维持 iTreg 抗炎症表型所必需的, 它可通过下调 IL-4 信号调节 iTreg 的稳定性。Foxp3 $^+$ iTreg 是黏膜表面免疫反应的重要调

控者,因此,SOCS 可双重作用于 Th2 和 Foxp3⁺ iTreg 的特性使其成为治疗 Th2 型疾病的新希望。

4 结语与展望

病理条件下 iTreg 的形成具有部位和环境的可变性。胃肠道内,当黏膜连续暴露在大量的无毒性环境抗原中时,机体具有高风险,主要由过免疫应答造成,而反应性 T 细胞转为 iTreg 可以帮助压制此种反应。与黏膜免疫相比较,nTreg 是肿瘤浸润性 Treg 的主要成分。

虽然适应性 T 细胞 Foxp3 的表达显著上调已经得到公认,然而为什么它在不同的解剖位置和环境条件下会发生变化仍有待确定。更好地理解这些诱导和维持 iTreg 的信号有助于探索和增强其治疗能力。

参考文献:

- [1] Geiger TL, Tauro S. Nature and nurture in Foxp3⁺ regulatory T cell development, stability, and function[J]. *Hum Immunol*, 2012, 73(3): 232-239.
- [2] Lin X, Chen M, Liu Y, et al. Advances in distinguishing natural from induced Foxp3⁺ regulatory T cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(2): 116-123.
- [3] Haribhai D, Williams JB, Jia S, et al. A requisite role for induced regulatory T cells in tolerance based on expanding antigen receptor diversity[J]. *Immunity*, 2011, 35(1): 109-122.
- [4] Getnet D, Gross JF, Goldberg MV, et al. A role for the transcription factor Helios in human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells[J]. *Mol Immunol*, 2010, 47(7-8): 1595-1600.
- [5] Beres A, Komorowski R, Mihara M, et al. Instability of Foxp3 expression limits the ability of induced regulatory T cells to mitigate graft versus host disease[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(12): 3969-3983.
- [6] Daniel C, Ploegh H, von Boehmer H. Antigen-specific induction of regulatory T cells in vivo and in vitro[J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 707: 173-185.
- [7] Sawamukai N, Satake A, Schmidt AM, et al. Cell-autonomous role of TGF β and IL-2 receptors in CD4⁺ and CD8⁺ inducible regulatory T-cell generation during GVHD[J]. *Blood*, 2012, 119(23): 5575-5583.
- [8] Pot C. Aryl hydrocarbon receptor controls regulatory CD4⁺ T cell function[J]. *Swiss Med Wkly*, 2012, 142: w13592.
- [9] Heiber JF, Geiger TL. Context and location dependence of adaptive Foxp3⁺, regulatory T cell formation during immunopathological conditions[J]. *Cell Immunol*, 2012, 279(1): 60-65.
- [10] Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A, et al. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate[J]. *Nature*, 2010, 463(7282): 808-812.
- [11] Badami E, Sorini C, Coccia M, et al. Defective differentiation of regulatory Foxp3⁺ T cells by small-intestinal den-
- driftic cells in patients with type 1 diabetes[J]. *Diabetes*, 2011, 60(8): 2120-2124.
- [12] Kong N, Lan Q, Chen M, et al. Antigen specific transforming growth factor β -induced Treg cells, but not natural Treg cells, ameliorate autoimmune arthritis in mice by shifting the Th17/Treg cell balance from Th17 predominance to Treg cell predominance[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(8): 2548-2558.
- [13] Zhang W, Jin H, Hu Y, et al. Protective response against type 1 diabetes in nonobese diabetic mice after coimmunization with insulin and DNA encoding proinsulin[J]. *Hum Gene Ther*, 2010, 21(2): 171-178.
- [14] Van YH, Lee WH, Ortiz S, et al. All-trans retinoic acid inhibits type 1 diabetes by T regulatory(Treg)-dependent suppression of interferon-gamma-producing T-cells without affecting Th17 cells[J]. *Diabetes*, 2009, 58(1): 146-155.
- [15] Kornet M, Sgouroudis E, Piccirillo CA. ICOS-dependent homeostasis and function of Foxp3⁺ regulatory T cells in islets of nonobese diabetic mice[J]. *J Immunol*, 2012, 188(3): 1064-1074.
- [16] Zhang Y, Bandala-Sanchez E, Harrison LC. Revisiting regulatory T cells in type 1 diabetes[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2012, 19(4): 271-278.
- [17] Hindley JP, Ferreira C, Jones E, et al. Analysis of the T-cell receptor repertoires of tumor-infiltrating conventional and regulatory T cells reveals no evidence for conversion in carcinogen-induced tumors[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3): 736-746.
- [18] Sainz-Perez A, Lim A, Lemercier B, et al. The T-cell receptor repertoire of tumor-infiltrating regulatory T lymphocytes is skewed towards public sequences[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(14): 3557-3569.
- [19] Fourcade J, Sun Z, Kudela P, et al. Human tumor antigen-specific helper and regulatory T cells share common epitope specificity but exhibit distinct T cell repertoire[J]. *J Immunol*, 2010, 184(12): 6709-6718.
- [20] Burrell BE, Nakayama Y, Xu J. Regulatory T cell induction, migration, and function in transplantation[J]. *J Immunol*, 2012, 189(10): 4705-4711.
- [21] Van der Touw W, Cravedi P, Kwan WH, et al. Receptors for C3a and C5a modulate stability of alloantigen reactive induced regulatory T cells[J]. *J Immunol*, 2013, 190(12): 5921-5925.
- [22] Knosp CA, Schiering C, Spence S, et al. Regulation of Foxp3⁺ inducible regulatory T cell stability by SOCS2[J]. *J Immunol*, 2013, 190(7): 3235-3245.