

1 型调节性 T 细胞的表型和功能

丁 庆 周光炎*

(上海交通大学医学院, 上海市免疫学研究所, 上海市高校免疫学 E 研究院, 上海 200025)

摘要 1 型调节性 T 细胞(Tr1)在免疫耐受的诱导和维持过程中发挥重要作用。Tr1 细胞通常在免疫耐受的环境中由外来抗原诱导产生, 通过产生高水平的 IL-10 而发挥免疫抑制作用。而 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(Tregs)可在胸腺中天然产生也可在外周被抗原诱导产生, 通过细胞接触发挥抑制作用。现对 Tr1 细胞的表型、功能及其抑制作用机制等方面的研究进展进行综述。

关键词 1 型调节性 T 细胞; CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞; 免疫耐受

调节性 T 细胞(regulatory T cell, Tr 细胞)在诱导和维持对外源或自身抗原的免疫耐受中起重要作用^[1-3]。目前已经发现多种调节性 T 细胞, 其中最重要的是 1 型调节性 T 细胞(type 1 regulatory T cell, Tr1 细胞)和天然发生的 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(naturally occurring CD4⁺CD25⁺ T cells, Tregs)。Tr1 通常在免疫耐受的环境中遇到抗原时升高并通过产生高浓度的 IL-10 而发挥免疫抑制作用。而 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞可直接在胸腺中产生(因此也称为天然调节性 T 细胞)或在外周组织由抗原诱导产生(图 1)。通常认为 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞不产生 IL-10, 并通过细胞直接接触发挥抑制作用^[4]。

目前确认 IL-10 可诱导初始 CD4⁺ T 细胞分化为 Tr1 细胞, 该过程可分为两个阶段。首先, CD4⁺ T 细胞对抗原特异性或多克隆刺激呈现低增殖反应且不产生细胞因子。在此阶段, T 细胞已经获得了接触性依赖的免疫抑制能力, 但并不产生抑制性细胞因子。第二阶段发生在抗原重复刺激后, 细胞获得了部分增殖反应的能力, 且产生了不同于 Th0、Th1 或 Th2 的独特细胞因子格局(IL-2^{-low}, IL-4⁻, IL-5⁺, IFN- γ ⁺, IL-10⁺, TGF- β ⁺)。由于 Tr1 细胞可通过 IL-10 和 TGF- β 的免疫抑制作用而治疗 Th1 细胞或 Th2 型疾病, 因此引起了免疫学界的极大兴趣^[5,6]。

1 Tr1 细胞的来源

除了 IL-10 外, 许多其他方法可以促进 Tr1 细胞分化^[7]。在没有抗原递呈细胞(antigen-presenting cells, APCs)存在时, 单独 IL-10 促进 Tr1 细胞分化的效率相对低一些, IFN- α 可增强其诱导效果。G-CSF 可通过促进产生 IL-10 和 IFN- α 可诱导 Tr1 细胞分化。维生素 D3 和地塞米松等免疫抑制剂也可诱导自分泌的 IL-10 而进一步促进 Tr1 细胞产生。抗 CD2 或抗 CD46 抗体(灭活补体 C3b)也可导致 Tr1 细胞的产生^[8]。上述结果证明在无 APCs 存在时无论是自分泌的、旁分泌的或外源的 IL-10 均能促进 Tr1 细胞的分化^[9,10]。

幼稚树突状细胞(imature dendritic cells, iDC)可以通过自分泌性 IL-10 依赖机制促进同种异体初始 CD4⁺ T 细胞分化为 Tr1 细胞。Tr1 细胞经过分泌

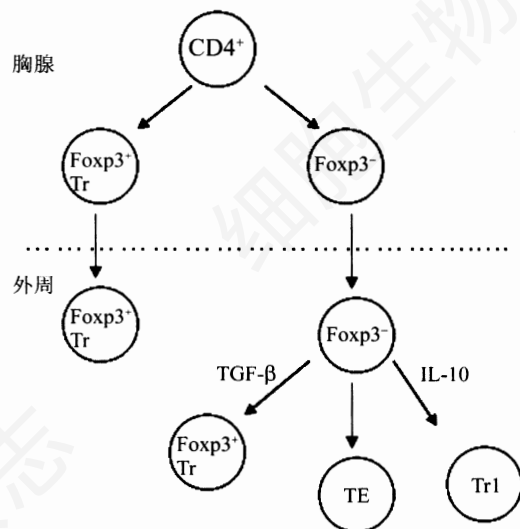


图 1 调节性 T 细胞的起源^[2]

具有抑制功能的 Foxp3⁺CD4⁺ 调节性 T 细胞在胸腺内成熟后进入外周组织。CD4⁺Foxp3⁺ T 细胞进入外周后, 在抗原的刺激下, 可以分化为效应性 T 细胞(TE)和 Tr 细胞, IL-10 可促进 Tr1 细胞发生, 而 TGF- β 可促进 Foxp3⁺CD4⁺ Tr 细胞的形成。

收稿日期: 2006-02-10 接受日期: 2006-06-26

* 通讯作者。Tel: 021-63849590-776207, Fax: 021-63852822, E-mail: my@shsmu.edu.cn

IL-10 和 TGF- β 而抑制增殖和细胞因子产生。iDC 诱导 Tr1 细胞生成不需要 CD4⁺ CD25⁺ Tr 细胞的参与。产生的 Tr1 细胞并不高表达 CD25, 说明 Tr1 细胞和 CD4⁺ CD25⁺ Tr 细胞是不同的亚群。相反, 当以 iDC 刺激脐带血 CD4⁺ T 细胞, 虽然产生的细胞也分泌 IL-10, 但无细胞因子依赖的抑制作用。导致这种区别的原因可能是脐带血中天然存在的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞和 IL-10⁺ 细胞多于成人外周血的缘故^[11,12]。

成熟 DCs 在 IL-10、维生素 D3、霍乱毒素或百日咳毒素等多种耐受原的作用下, 也能促进 Tr1 细胞的分化, 这些物质均能抑制 NF- κ B 路径的激活。在 NF- κ B 活性缺失时, IL-12 分泌被抑制, 导致 DCs 主要分泌 IL-10。遗传性缺乏 RelB (NF- κ B 家族成员) 且不表达 CD40 的 DCs, 可有效促进 Tr1 细胞分化, 进一步支持该结论。另外, 以蛋白酶体抑制剂预处理 DCs, 可抑制 I κ B 的降解(进一步抑制 NF- κ B 的激活), 这种处理过的 DCs 也可诱导 T 细胞分化为 Tr1 细胞。因此, 在缺乏炎症反应时(NF- κ B 的激活程度较低), 抗原负载的 DCs 倾向于产生调节性 T 细胞而不是产生效应性 T 细胞。

目前在 Tr1 细胞的研究领域尚需解决的问题包括: 体内产生 Tr1 细胞的场所? Tr1 细胞在无耐受原刺激的状态下表型和功能是否还能保持不变? 进一步详细研究耐受原性 DCs 的作用机制, DCs 和 T 细胞相互作用的场所, Tr1 细胞的分子标志等等^[13]。

2 表型

目前 Tr1 细胞的分类主要依赖细胞因子的分泌格局(IL-10⁺, IL-4⁻, IL-2⁺), TGF- β 的作用还未确定, 许多报道认为 IL-10 和 TGF- β 共同发挥了免疫抑制作用。也有很多报道认为仅仅是 IL-10 发挥了作用, 还有报道认为 Th3 细胞或 CD4⁺CD25⁺ 仅分泌 TGF- β 发挥抑制作用。同多数调节性细胞一样, Tr1 细胞在多克隆或抗原特异性刺激后增殖反应较低, 但在外源性 IL-2 和 / 或 IL-15 存在时, 其增殖作用显著增强。尽管其增殖活性低, 但 Tr1 细胞却正常表达 T 细胞的活化标志分子(例如 CD25, CD40L, CD69, HLA-DR, CTLA4 等)。需特别强调的是 Tr1 细胞在激活后 CD25 表达也上调, Tr1 细胞和天然 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞的区别是在静息状态下它们并不继续表达 CD25。在静息状态下, Tr1 细胞克隆组成性高表达 IL-2/I-15R β 和 γ 链, 以及大

量的趋化因子受体。值得注意的是, Tr1 细胞的 FoxP3 (forkhead box P3, 与 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞相关的转录因子)与普通激活的 CD4⁺ T 细胞没有变化。脑啡肽原、GM2 神经节苷脂激活蛋白、糖皮质激素诱导型 TNFR (GITR)和整合素 α E β 7 等都可能是 Tr1 细胞的标志^[14,15]。

3 激活和功能机制

Tr1 细胞除了调控 Th1 和 Th2 介导的病理作用外, 还可以对其他多种细胞发挥抑制作用^[16]。例如, 活化的 Tr1 细胞上清液可强烈降低 DCs 诱导的同种异体抗原特异性增殖。Tr1 细胞也能抑制 B 细胞产生免疫球蛋白。通过自分泌 IL-10, Tr1 细胞也能诱导初始 CD4⁺ T 细胞分化为 Tr1 细胞。TGF- β 是 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞的分化 / 生长因子, 提示 Tr1 细胞也许能够促进不同的 Tr 细胞亚类分化。虽然, Tr1 细胞也能识别自身抗原和肿瘤抗原, 但目前大量报道的是对过敏反应、病原体和同种异体抗原反应的调节作用。因为在机体黏膜组织首先遇到的是外来抗原, 所以 Tr1 细胞在该组织中特别重要。黏膜组织有可能存在特殊的 DCs 亚群专门致敏 Tr1 细胞。另外, 许多细菌、寄生虫和病毒有显著的促进 Tr1 细胞产生的能力。研究这些病原体促进 Tr1 细胞生成的机制, 有助于发现新的临床治疗方案^[17,18]。

4 体内 Tr1 细胞存在的证据

利用 CD25 作为标志来示踪和分离调节性 T 细胞相当方便, 但是有时候很难区分是何种 IL-10⁺ CD25⁺ Tr 细胞发挥了免疫抑制作用, 因为其中涉及到 Tr1 细胞, 天然发生的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞和抗原诱导的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞, 或许还可能是这 3 种调节性细胞的混和物。有研究表明, CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞可能会诱导 IL-10⁺ 和 / 或 TGF- β ⁺ 细胞, 该结果提示可能会经常存在这 3 种类型细胞的混和物^[19,20]。

表 1 列出了多种疾病中已经报道的针对多种抗原的特异性 Tr1 细胞和 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞。这些研究表明 Tr1 细胞天然存在于人和小鼠的体内, 且调节对多种抗原的反应。但到目前为止, 定量研究 Tr1 细胞和疾病的关系还很困难^[21]。

5 Tr1 细胞和 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞之间的网络关系

Tr1 细胞和天然 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞之间具有协

表 1 各种疾病中 Tr1 细胞或 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞的数量和 / 或功能变化

	Tr1/Trn 细胞	抗原特异性	评论
身免疫病			
溶血性贫血	Tr1	RhD	Tr1 细胞特异性表位
多发性硬化征	Trn	未知	数量不受克帕松(copaxone)或 IFN- α 治疗的影响
	Trn	未知	虽然数目正常, 但抑制功能异常
系统性红斑狼疮	Trn	未知	数目下降, 功能数据无
类风湿关节炎	Trn	未知	关节腔液含功能性 Tr 细胞
二型多腺综合征	Trn	未知	数量正常, 抑制功能异常
寻常型天疱疮	Tr1	桥粒芯糖蛋白 3	抗原特异性 Tr1 细胞升高
重症肌无力	Trn	未知	胸腺中数目正常, 但功能严重下降
癌症			
何杰金淋巴瘤	Tr1 和 Trn	未知	体外抑制主要依赖 IL-10
胃肠和食道肿瘤	Trn, 可能 Tr1	未知	外周血和腹水中比例升高, 与预后差有关
黑色素瘤	Trn 和 Tr1	LAGE1	抗原特异性克隆产生高水平 IL-10, 但介导接触依赖抑制
	Trn, 可能 Tr1	未知	转移淋巴结中升高 2 倍
卵巢癌	Trn	Her2	Tr1 细胞通过 CCR4-CCL22 相互作用移至肿瘤, 其出现预示生存低
感染性疾病			
EB 病毒	Tr1	LMP1	IL-10 依赖性抑制
盘尾丝虫病	Tr1	盘尾丝虫抗原	慢性感染性疾病中经典的抗原特异性 Tr1 细胞克隆
丙型肝炎	Tr1	HCV 核心蛋白	从慢性感染性病人中分离出 HCV 核心特异性 Tr1 细胞克隆
HIV 和 CMV	Trn	病毒抗原	去除 CD25 ⁺ 细胞增强对病毒的体外反应
过敏反应			
猫过敏	Tr1	FelD1 蛋白	Tr1 细胞出现于正常和过敏个体, 但是增加紧随的 SIT
草花粉过敏	Tr1 和 Trn	猫尾草	SIT 后 CD25 ⁺ IL-10 ⁺ 细胞数量增加
屋尘和桦树花粉过敏	Tr1 和 Trn	Der p1 和 Bet v1	SIT 后 Tr1 细胞升高
过敏性鼻炎	Trn	草或桦树花粉提取物	正常人和过敏患者之间数目无区别
镍过敏征	Trn	镍	出现在正常 PBMCs, 过敏患者未调查
	Tr1	镍	镍特异性 Tr1 细胞克隆
麸质过敏征	Tr1	麦胶蛋白	患者恢复期黏膜中可分离到
移植			
同种异体造血干细胞	Trn	未知	慢性 GVHD 病人 CD4 ⁺ CD25 ⁺ 数目升高,
干细胞移植	Trn	未知	GVHD 病人含有明显升高的 CD4 ⁺ CD25 ⁺ 细胞
	Tr1	受者同种异体抗原	供者的 Tr1 细胞特异性针对同种异体抗原

Trn 表示自然发生的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞(naturally occurring CD4⁺CD25⁺ Tr cells); PBMCs 表示外周血单个核细胞; SIT 表示过敏原特异性免疫治疗。

表 2 Tr1 细胞或天然发生的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞一些重要特征的比较

	Tr1 细胞	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Tr 细胞
起源	外周, 由幼稚 DCs 或耐受原性 DCs 诱导, 需要外源或自分泌的 IL-10	胸腺, 需要的 DCs 亚类未知需要外源的 IL-2
抗原特异性	主要是外来抗原	主要是自身抗原, 但也可能外来抗原
作用机制	自分泌因子(IL-10 和 TGF- β)	体外细胞接触依赖
生长和生存因子	IL-2 和 / 或 IL-15	IL-2 和 / 或 IL-15
CD25 表达	可诱导	组成性表达
FoxP3 表达	低水平	高组成性水平
细胞因子产生	IL-2 ⁻ , IL-4 ⁻ , IL-10 ⁺ , IFN- γ ⁻ , TGF- β ⁻	IL-2 ⁻ , IL-4 ⁻ , IL-10 ⁻ , IFN- γ ⁻ , TGF- β ⁻

同作用(表 2)。出身时, 胸腺产生天然 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞即刻保护我们免受自身反应性 T 细胞攻击, 机体紧接着的对外来抗原的暴露刺激了相互依赖的细胞因子依赖性(Tr1 细胞)和非依赖性(CD4⁺ CD25⁺ Tr 细胞)调节的网络^[22,23]。天然发生的 CD4⁺ CD25⁺ Tr 细胞, 抗原诱导的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞和 Tr1 细胞

可以同时出现的概念解释了细胞因子依赖和非依赖调节的并存现象^[24]。在特定病例中, Tr1 细胞和 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞的相应重要性是由外来抗原的性质、抗原递呈的方式和特定组织的生物学特点决定的。因为, Tr1 细胞和 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞似乎有不同的移动行为^[25]。将要研究的主要领域是这些网

络的抗原特异性,不同的调节性 T 细胞亚群是否识别不同的或重叠的抗原亚类。

6 治疗前景

目前,免疫学界对 Tr1 细胞或 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞用于体内治疗产生了极大的兴趣,在动物模型上已经取得了很大进展。在小鼠模型中,加入 IL-10 导致抗原特异性 T 细胞介导移植抗宿主反应 (GVHD) 的能力受到抑制。然而,总的来说在体外迅速有效地扩增抗原特异性 Tr1 细胞还很难。比较可行的治疗方案是注射一些耐受原性药物,在体内增加 Tr1 细胞的数目。引起特别兴趣的是在小鼠同种异体器官移植排斥过程中,体内联合注射雷帕霉素(rapamycin)和 IL-10 诱导 Tr1 细胞产生已经获得了显著效果。在人体内诱导 Tr1 细胞似乎在对过敏原的特异免疫治疗中已经实现。研究已经进化数百万年的病原微生物诱导机体内 Tr1 细胞形成的机制可能会彻底揭示 Tr1 细胞的真正特征和功能^[26,27]。

对调节性 T 细胞而言,用体外扩增的获得的大量调节性细胞亚群进行体内细胞治疗时应该相当谨慎。虽然在鼠的实验系统中,这种方法已经骨髓移植的长期耐受中被证实是成功的。但是,体外扩增的大量调节性细胞 T 细胞是很有可能是激活的效应细胞和 Tr 细胞的混合物。虽然,体外短期扩增保持了强的抑制效果。长期来说,混杂的非抑制性效应性细胞终将占优势。特别是在体外抗原特异性诱

导以后,这种混杂的效应细胞在体内可能是危险的。另外一个方面,也可能感染的耐受机制也可能决定了非 Tr 细胞将最终加入 Tr 细胞网络^[28]。

参考文献(References)

- [1] Groux H *et al.* *Nature*, 1997, **389**: 737
- [2] Kronenberg M *et al.* *Nature*, 2005, **435**: 598
- [3] Krogsgaard M *et al.* *Nat Immunol*, 2005, **6**: 239
- [4] Fontenot JD *et al.* *Semin Immunol*, 2004, **16**: 73
- [5] Schwartz RH *et al.* *Nat Immunol*, 2005, **6**: 327
- [6] Suttmuller RP *et al.* *Drug Discov Today*, 2004, **9**: 310
- [7] Apostolou I *et al.* *Nat Immunol*, 2002, **3**: 756
- [8] Kemper C *et al.* *Nature*, 2003, **421**: 388
- [9] Battaglia M *et al.* *Transplantation*, 2004, **77**: S16
- [10] Marra LE *et al.* *J. Immunol*, 2004, **172**: 1028
- [11] Kretschmer K *et al.* *Nat Immunol*, 2005, **6**: 1219
- [12] Jonuleit, H *et al.* *J Immunol*, 2003, **171**: 6323
- [13] Lundqvist A *et al.* *J Immunother*, 2005, **28**: 229
- [14] Akdis M *et al.* *J Exp Med*, 2004, **199**: 1567
- [15] Eldridge JH *et al.* *Adv Exp Med Biol*, 1987, **216A**: 45
- [16] Cantor H. *Nat Immunol*, 2004, **5**: 347
- [17] Mills KH *et al.* *Semin Immunol*, 2004, **16**: 107
- [18] Young M *et al.* *Annu Rev Med*, 1986, **37**: 165
- [19] Chatenoud L *et al.* *Expert Opin Biol Ther*, 2005, **5 Suppl 1**: S73
- [20] Sakaguchi S. *Nat Immunol*, 2003, **4**: 10
- [21] Battaglia M *et al.* *Ann N Y Acad Sci*, 2004, **1029**: 142
- [22] Chen Y *et al.* *Science*, 1994, **265**: 1237
- [23] Peng G *et al.* *Science*, 2005, **309**: 1380
- [24] Weiner HL. *Nat Immunol*, 2001, **2**: 671
- [25] Luczynski W *et al.* *Folia Histochem Cytobiol*, 2005, **43**: 169
- [26] Bluestone JA. *Nat Rev Immunol*, 2005, **5**: 343
- [27] Maloy KJ *et al.* *Nat Immunol*, 2001, **2**: 816
- [28] Veldman C *et al.* *Int Arch Allergy Immunol*, 2006, **140**: 174

The Phenotypes and Functions of Type 1 Regulatory T cells

Qing Ding, Kuang-Yen Chou*

(Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine;
E-Institute of Shanghai Universities, Immunology Division, Shanghai 200025, China)

Abstract CD4⁺ type-1 regulatory T (Tr1) cells have an essential role in the induction and maintenance of tolerance to foreign and self-antigens, and they have been extensively characterized in mice and humans. Tr1 cells produce high levels of IL-10 and mediate IL-10-dependent suppression, whereas the effects of CD4⁺CD25⁺ Tr cells appear to be cell-contact-dependent. Tr1 cells arise in periphery upon encountering antigen in a tolerogenic environment. We have been interested in defining the characters of Tr1 cells, with the ultimate aim of designing therapeutic strategies to harness their immunoregulatory effects. This review discussed the phenotypes and functions of Tr1 cells, and the similarities and differences between Tr1 cells and CD4⁺CD25⁺ Tr cells.

Key words type 1 regulatory T cells; CD4⁺CD25⁺ Tr cells; immune tolerance

Received: February 10, 2006 Accepted: June 26, 2006

*Corresponding author. Tel: 86-21-63849590-776207, Fax: 86-21-63852822, E-mail: my@shsmu.edu.cn