

CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的外周维持

徐 林 熊思东*

(复旦大学免疫生物研究所, 上海医学院免疫学系, 上海 200032)

摘要 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞作为一种抑制性 T 细胞功能亚群, 在维持机体的免疫自稳和免疫耐受方面发挥了关键作用。该作用的发挥与其外周细胞库的维持密切相关。新近的研究显示 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞主要通过两种机制来维持其外周细胞库, 一些功能分子参与其中。

关键词 免疫自稳; CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞; 记忆性 T 细胞

CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)是抑制性 T 细胞的一种功能亚群, 其在维持机体免疫自稳和免疫耐受中扮演了重要角色。CD4⁺CD25⁺ Treg 功能的发挥是与其外周数量的维持紧密相关的, 因此近年来对其外周维持及机制的研究也得到了人们广泛关注^[1~3]。目前认为 CD4⁺CD25⁺ Treg 的外周维持有三种方式: 第一, 胸腺来源的 CD4⁺CD25⁺ Treg 在外周长期存活, 不易凋亡。然而, 很多研究都显示在体内的 CD4⁺CD25⁺ Treg 主要是 CD45RO⁺ 的细胞, 其对凋亡十分敏感^[4], 因此胸腺来源的 CD4⁺CD25⁺ Treg 对长期生命过程中 Treg 库维持的贡献可能并不太大; 第二, 胸腺来源的 CD4⁺CD25⁺ Treg 在外周不断增值和更新, 从而维持 Treg 的外周库。现已发现 Treg 在体内维持其功能的过程中是不断增值的^[5,6]。这也解释了为何新鲜分离的 Treg 表达高分化标志 CD45RB^{low}, 提示它们在体内经历了大量的增值过程^[7]; 第三, CD4⁺CD25⁺ Treg 可以在外周由 CD4⁺CD25⁺ T 记忆细胞或效应细胞在一定微环境条件下诱导而来, 该诱导的 Treg 与胸腺来源的 Treg 在功能上基本一致, 高表达记忆标记 CD45RO。这也得到了最近很多研究的支持^[8~10]。因此对于 Treg 的外周维持而言, 人们更倾向于后两种途径是 Treg 外周维持的主要方式, 本文也就后两条途径做一综述。

1 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的外周诱导

在正常个体, CD4⁺CD25⁺ Treg 在胸腺中发育成熟并迁移到外周, 维持自身免疫耐受。在新生儿的胸腺, 每天有大约 10⁷ 个 CD4⁺ T 细胞从胸腺迁出, 在 20 岁时, 这一数量已显著降低到不及 1/6, 并且随着年龄的增加还将持续降低^[11]。这一过程中 CD45RA⁺ Treg 减少的数量与其他 CD4⁺ T 细胞相当, 胸腺功能

的退化也显著影响到 CD4⁺CD25⁺ Treg 的产生。然而, 与小于 35 岁的年轻人相比, 年长者体内仍保持着相同数量或更高的具有同样抑制功能的 Treg, 提示其他途径来源的 Treg 参与了 Treg 库的外周维持。

近年来的研究发现在一定的条件下, Treg 可由 CD4⁺CD25⁺ 细胞分化而来^[12], 这无疑丰富了外周 Treg 库。目前, 在人和鼠的实验上都已证实, TGF- β 和 IFN- γ 可以将 CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ T 细胞诱导为 Treg^[13,14]。进一步的研究发现这群被诱导的 CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ T 细胞主要是 CD45RO⁺ 的记忆细胞^[12]。对 CD45RO⁺ Treg 与 CD4⁺CD25⁺ CD45RO⁺ 记忆性 T 细胞 TCRV β 受体库的比较分析显示二者表达相似的 TCR 库, 同源性高达 80%^[15]。这一现象也在 CDR3 序列分析上得到证实^[16]。这表明在体内至少有一部分 Treg 是来源于 CD4⁺ 记忆细胞的, 该过程主要发生在外周免疫器官或免疫反应局部, 具体机制不明, 目前只知道未成熟树突状细胞(dendritic cell, DC)可以通过 TGF- β 诱导 Treg^[17]。另外, 新近报道机体内存存在一群 CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ 样 Treg^[18], 这可能是 Treg 的另一条诱导途径, 需要进一步探讨的问题是 CD25⁺ 样 Treg 是否也和 CD25⁺ Treg 具有相同的 TCR 受体库, 以阐明其与 Treg 的关系。

目前看来, 在人类, Treg 的外周诱导是整个生命过程中 Treg 库维持相对稳定的重要方式, 并且体内 Treg 的数量也与记忆细胞中的 CD4⁺ T 细胞数量保持高度一致。对于生命周期相对较短的鼠而言, 外周 Treg 库的正常维持可能主要来源于胸腺发育迁出的 Treg, 因为胸腺迁出 Treg 和外周 Treg 的 TCR 库十分相似^[19], 但在免疫反应状态下可能 Treg 的外周诱导是 Treg 库维持的重要补充。最近在小鼠肿瘤模型中

收稿日期: 2007-03-24

接受日期: 2007-05-31

* 通讯作者。Tel/Fax: 021-54237749, E-mail: immfd@126.com

已证实肿瘤可以诱导 CD4⁺CD25⁻ T 细胞分化为 Treg, 并且该过程并不依赖于胸腺^[20]。值得一提的是, Treg 的外周诱导方式提出了一个重要假设: 在一个外来抗原诱导的免疫应答中, CD4⁺ 效应记忆性 T 细胞大量扩增, 通过诱导产生 Treg, 维持免疫自稳, 当外来抗原被清除后, Treg 由于凋亡而迅速减少到正常状态; 而在内源性抗原的持续刺激下, CD4⁺CD25⁻ 记忆性 T 细胞不断分化为 Treg, 从而产生大量的 Treg 来维持免疫耐受, 这也许是调节抗原诱导的免疫应答和耐受的新机制。

2 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的外周扩增

如前所述, Treg 的胸腺发育迁出和外周诱导似乎足以维持外周 Treg 库^[21]。但随着深入的研究人们发现事实并非如此。从胸腺来源的 CD45RA⁺ Treg 虽然可以在体外进行扩增和自我更新, 但其在活化、扩增后变得对凋亡十分敏感, 因此很可能 CD45RA⁺ Treg 在扩增后就快速凋亡丢失^[22,23]。进一步对正常个体外周 Treg 的检测却发现其高表达 CD45RO⁺^[15], 并表达分化标记 CD45RB^{low}, 这提示 Treg 可能在外周进行了大量扩增, 并且外周诱导的 Treg 也主要是 CD45RO⁺ Treg 记忆亚群。因此人们推测 Treg 的外周扩增也应是 Treg 细胞库维持的重要方式。研究者们已证实减少或缺失 Treg 扩增依赖的细胞因子 IL-2 后体内 Treg 的数量迅速减少, 为这一维持方式提供了直接的证据^[24]。

人们进一步用 BrdU 和 CFSE 标记体外产生的 Treg, 然后转输小鼠后发现其有较高的自我更新率; 在急性白血病患者体内也发现 Treg 具有相对高的自我增值能力^[25], 这表明 Treg 在体内能够进行扩增。但在整个长期的生命过程中, 胸腺产生的 CD45RA⁺ Treg 是逐渐降低的, 因此 Treg 的外周扩增很可能依赖于已有 Treg 特别是 CD45RO⁺ Treg 的记忆亚群。无论如何, 持续的扩增是 Treg 库外周维持的关键。这涉及到两个问题: 一是自我更新率, 二是端粒酶长度, 因为细胞在体内的增值必须要依赖于这两个因素^[26]。深入的研究显示在正常个体体内 CD45RO⁺ Treg 自我更新周期为 8 天, 而 CD4⁺CD25⁻CD45RO⁺ 记忆 T 细胞为 28 天, CD4⁺CD25⁻CD45RA⁺ T 细胞则是 199 天^[15]。从更新率而言, CD45RO⁺ Treg 显示了良好的增值能力, 这种快速的增值和更新与其快速凋亡相对应, 并且在年轻个体和老年个体中, 该变化动力学完全一致。这也就提示在生命过程中, 不断有 Treg 从

CD45RO⁺ Treg 库补充而来。

另一方面, 在细胞的增值过程中, 大约每次分裂会伴随染色体末端有 50~100 个碱基对的丢失。这需要端粒酶来进行修复。如果某些亚群的 T 细胞要不断增值, 为了维持染色体的完整性, 就需要端粒酶的持续活化。人的端粒大约为 4~12 kb, 如果端粒短于 4 kb, 则细胞不能增值^[27]。现有研究已表明人 CD45RO⁺ Treg 端粒酶短于 CD4⁺CD25⁻CD45RO⁺ 记忆 T 细胞和整个 CD4⁺ T 细胞库的平均水平^[28], 并且无论对于年轻人还是年长者而言, Treg 都不能上调端粒酶活性^[15]。因此从自我更新率和端粒酶长度上都提示 CD45RO⁺ Treg 在体内经历了大量的扩增, 并且快速增值的 CD45RO⁺ Treg 也易凋亡, 这也合理解释了为何有大量的 Treg 快速增值却在正常个体内没有出现 Treg 的富集。

总之, Treg 的不断扩增也是 Treg 库外周维持的重要方式, 而其记忆亚群的不断增值很可能是扩增的主要形式。一个重要的问题是 Treg 记忆亚群的产生及其自稳增值机制仍不明, 这需要更多的研究来阐明。

3 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞外周维持的相关分子

无论是 Treg 的诱导还是外周扩增, 当前对于 Treg 库外周维持的相关分子机制还不甚明了。外周的 Treg 与天然的 T 细胞相比, 其维持对于 T 细胞抗原受体 (T cell receptor, TCR) 的依赖似乎要小些。有研究发现在 *Zap70* 和 *Slp76* 基因剔除小鼠, 胸腺里 Treg 和传统 T 细胞的减少程度相当, 但在外周却是 Foxp3⁺ Treg 库维持得更好。这提示 Treg 与传统 T 细胞的外周维持对 TCR 信号的依赖可能不同, 这直接影响 Treg 的外周诱导或扩增, 但具体机制不明, 有研究显示 LAT 信号途径可能十分重要^[29]。

另外, 还有至少 3 个分子与 Treg 的外周维持密切相关: CD28、TGF- β 和 IL-2。在 CD28 基因剔除的小鼠, 外周 Treg 的数量显著减少; 并且外周联合用抗 CD80 和 CD86 的抗体处理正常小鼠后, Treg 的数量也明显降低^[30]。另外, 将正常小鼠来源的 Treg 转输到 CD28^{-/-} 的小鼠后, 与对照相比其数量也显著减少。这些研究都提示 CD28 对于 Treg 的外周维持十分重要, 但目前还不能确定 CD28 的维持作用是直接推动 Treg 的增值或存活还是间接通过调节 CD25 的表达来发挥, 只知道该作用是与 PI3K 途径有关。另

外一个是 TGF- β 。如前所述, TGF- β 可以诱导 CD4⁺CD25⁺ T 细胞转化为 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg。在 Tgfb1^{-/-} 基因剔除小鼠, 外周 Treg 数量也是明显减少^[31]。TGF- β 的作用可能还与 Treg 的扩增有关。因为 Li 等^[32]发现 TGF- β 可以在体外诱导 Treg 的扩增。

在 IL-2 基因剔除的小鼠, 人们不但发现胸腺里 Treg 的数量明显减少, 而且在外周其数量也仅为正常个体的一半^[33]。并且在 3A9TCR 转基因小鼠也观察到了相似的现象。D'Cruz 等^[24]也在 TS1 HA 双转基因小鼠里证实在没有 IL-2 或 CD25 时, Foxp3⁺ Treg 细胞的数量会逐渐消失; 但如果将 CD25⁺ Treg 先用 IL-2 预处理, 再转输到 CD28 基因剔除小鼠, 则 Treg 可以存活。这些结果都表明 IL-2 是 Treg 外周维持的重要分子, 并且可能是通过调节 Treg 的增值和胸腺发育来实现的。已有研究报道 IL-2 对 Treg 的作用主要是通过 STAT-5 途径来调节细胞周期和代谢相关基因^[34]。

4 小结

近年来, 对 Treg 外周维持机制的研究取得了一定进展, 那么如何理解 Treg 的外周维持机制? 一个比较合理的解释是 Treg 在外周抗原刺激下的不断扩增是维持 Treg 外周细胞库的关键, Treg 的外周诱导和胸腺发育迁出则是 Treg 库维持的重要补充, 但在特定的免疫应答过程中, Treg 的外周诱导可能是 Treg 的主要来源, 而参与其中的一些功能分子如 IL-2、CD28 和 TGF- β 对于 Treg 库的维持起了重要作用。但是, 目前还有很多问题仍待回答。例如, Treg 是如何分化为其记忆亚群的? 其他免疫细胞对于 Treg 的分化和外周维持的作用如何? 抗原剂量是否也是 Treg 外周维持和扩增的重要因素? 在特定免疫应答过程中, 其具体维持机制又如何等等。Ghiringhelli 等^[17]报道 DC 可以通过 TGF- β 来诱导和扩增 Treg; 并且低抗原浓度更有利于 Treg 的诱导^[35]。其他膜分子可能对于 Treg 的外周维持也十分重要, 如 leptin 就是

调节 Treg 扩增的关键分子^[36]。因此对 Treg 外周维持机制仍需进一步探讨, 而其外周维持机制的阐明不但可以丰富现有的免疫学理论, 也有助于人们对免疫病理过程的理解和疾病的临床治疗。

参考文献(References)

- [1] Akbar AN *et al.* *Nat Rev Immunol*, 2007, **7**: 231
- [2] Liston A *et al.* *Curr Opin Immunol*, 2007, **19**: 176
- [3] Wang HY *et al.* *Curr Opin Immunol*, 2007, **19**: 217
- [4] Valmori D *et al.* *J Clin Invest*, 2005, **115**: 1953
- [5] Walker LS *et al.* *J Exp Med*, 2003, **198**: 249
- [6] Cozzo C *et al.* *J Immunol*, 2003, **171**: 5678
- [7] Jonuleit H *et al.* *J Exp Med*, 2001, **193**: 1285
- [8] Apostolou I *et al.* *J Exp Med*, 2004, **199**: 1401
- [9] Knoechel B *et al.* *J Exp Med*, 2005, **202**: 1375
- [10] Kretschmer K *et al.* *Nat Immunol*, 2005, **6**: 1219
- [11] Mackall CL *et al.* *Immunol Rev*, 1997, **160**: 91
- [12] Chen W *et al.* *J Exp Med*, 2003, **198**: 1875
- [13] Fantini MC *et al.* *J Immunol*, 2004, **172**: 5149
- [14] Wang Z *et al.* *J Clin Invest*, 2006, **116**: 2434
- [15] Vukmanovic SM *et al.* *J Clin Invest*, 2006, **116**: 2423
- [16] Hayashi Y *et al.* *J Immunol*, 2004, **172**: 5240
- [17] Ghiringhelli F *et al.* *J Exp Med*, 2005, **202**: 919
- [18] Nishioka T *et al.* *J Immunol*, 2006, **176**: 6586
- [19] Hsieh CS *et al.* *Nat Immunol*, 2006, **7**: 401
- [20] Valzasina B *et al.* *Cancer Res*, 2006, **66**: 4488
- [21] Seddiki N *et al.* *Blood*, 2006, **107**: 2830
- [22] Fritzsching B *et al.* *Blood*, 2006, **108**: 3371
- [23] Taams LS *et al.* *Eur J Immunol*, 2001, **31**: 1122
- [24] D'Cruz LM *et al.* *Nat Immunol*, 2005, **6**: 1152
- [25] Fisson S *et al.* *J Exp Med*, 2003, **198**: 737
- [26] Akbar AN *et al.* *Nat Rev Immunol*, 2004, **4**: 737
- [27] Hodes RJ *et al.* *Nat Rev Immunol*, 2002, **2**: 699
- [28] Taams LS *et al.* *Eur J Immunol*, 2002, **32**: 1621
- [29] Koonpaew S *et al.* *J Exp Med*, 2006, **203**: 119
- [30] Tang Q *et al.* *J Immunol*, 2003, **171**: 3348
- [31] Marie JC *et al.* *Immunity*, 2006, **25**: 441
- [32] Li MO *et al.* *Immunity*, 2006, **25**: 455
- [33] Fontenot JD *et al.* *Nat Immunol*, 2005, **6**: 1142
- [34] Luo X *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**: 2821
- [35] Walker MR *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 4103
- [36] De Rosa V *et al.* *Immunity*, 2007, **26**: 241

Peripheral Homeostasis of CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells

Lin Xu, Si-Dong Xiong*

(Institute for Immunobiology, Department of Immunology of Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells, a functional subset of inhibitory T cells, play a crucial role in the maintenance of immune homeostasis and immune tolerance. These functions are closely correlated to peripheral homeostasis of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. Recent evidence showed that there are two ways that could contribute to the peripheral homeostasis of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells, in which some functional molecules may be involved.

Key words immune homeostasis; CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells; memory T cells

Received: March 24, 2007 Accepted: May 31, 2007

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-21-54237749, E-mail: immfd@126.com