

CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞发挥效应的分子机制

肖文军¹ 李宁丽^{1,2*}¹上海交通大学医学院, ²上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要 调节性 T 细胞是一群具有免疫调节(或免疫抑制)作用的细胞, Foxp3⁺CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞约占 CD4⁺T 细胞的 5%~15%, 主要是 CD4⁺CD8⁻CD25⁻ 单阳性胸腺细胞在胸腺的自然选择过程中产生的, 也可以通过外周诱导而产生。它通过细胞接触依赖机制和抑制性细胞因子依赖机制主动抑制自身免疫 T 细胞的活化, 维持自稳状态。现对 Foxp3⁺CD4⁺CD25⁺T 细胞群的一些特征性分子在其效应机制中的作用进行综述。

关键词 调节性 T 细胞; CD4⁺CD25⁺; Foxp3; 细胞接触机制

调节性 T 细胞的概念很早就被提了出来, 但是多年来人们一直没有弄清这种细胞确切的细胞标志及其调节作用的分子基础。因此调节性 T 细胞存在与否, 免疫学家们有很大分歧。Sakaguchi 等^[1]在 1995 年进行了一项开创性的研究。他们将占外周血 CD4⁺T 细胞 5%~10% 的 CD4⁺CD25⁺T 细胞群去除, 则引起实验动物自发产生各种自身免疫疾病; 而将去除的细胞群重新回输, 则可预防自身免疫疾病的产生。这说明 CD4⁺CD25⁺T 细胞是一具有免疫调节(或抑制)作用的细胞群。此后人们对调节性(或抑制性)T 细胞的研究予以了极大的关注。本文主要综述了一些参与和影响 CD4⁺CD25⁺T 细胞调节作用的分子和物质。

1 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的主要特点

传统的 T 细胞在活化后会瞬间上调表达 CD25, 而正常人和小鼠的外周血和脾脏组织中的具有免疫调节作用的细胞持续高表达 CD25 分子(IL-2 受体 α 链), 这可能是由于非炎症环境下外周血自身抗原与 TCR 持续结合引起的。这一亚群细胞可以在胸腺自然发育, 约占外周 CD4⁺T 细胞总数的 5%~10%。它们还组成性表达 CTLA-4、GITR 及 Foxp3 基因(下文详细阐述)。CD4⁺CD25⁺T 调节性 T 细胞受抗原刺激时处于无能状态且并不分泌 IL-2。

另外, Tr1、TH3 和 NKT 等 CD4⁺T 细胞的其他亚群在某些细胞因子的诱导下也具有某种调节功能, 但细胞膜表面并不组成性高表达 CD25, 而表达与传统 T 细胞相似的表型, 分泌 IL-10 和 TGF- β , 其受体谱也广于在胸腺自然发育的 CD4⁺CD25⁺T 细

胞。因此, Tr1、TH3 和 NKT 等被认为是诱导型调节性 T 细胞^[2]。最新的研究发现外周 CD4⁺CD25⁻T 细胞经过诱导也可以组成性高表达 CD25, 发挥与胸腺中自然发育的 CD4⁺CD25⁺T 细胞相似的功能。这个过程中的重要事件是 Foxp3 的表达。

很多体外研究发现, CD4⁺CD25⁺T 细胞的活化主要依靠细胞接触机制, 即通过膜表面的 CTLA-4、GITR 等介导。活化的 CD4⁺CD25⁺T 细胞可能通过颗粒酶 B(granzyme B, GZ-B)发挥抑制作用。发现 GZ-B 在小鼠 CD4⁺CD25⁺T 细胞发挥免疫调节作用时表达上调, GZ-B^{-/-}小鼠 CD4⁺CD25⁺T 细胞的抑制作用下降, 而穿孔素缺陷(perforin^{-/-})小鼠 CD4⁺CD25⁺T 细胞的抑制作用无明显变化^[3]。这说明 GZ-B 在 CD4⁺CD25⁺T 细胞的免疫调节机制中有重要作用, 而 GZ-B 的表达与 GITR 有一定关系。

体内实验发现某些细胞因子特别是 IL-10 和 TGF- β 直接或间接参与了 CD4⁺CD25⁺T 细胞的活化及抑制性作用。细胞因子的免疫抑制效应可能与这些细胞因子抑制 APC 以及拮抗效应性 T 细胞有关。活化的 CD4⁺CD25⁺T 细胞高水平表达 TGF- β 1, 使用抗 TGF- β 1 抗体可以部分消除其对靶细胞的抑制作用, 而且 TGF- β 1 基因剔除小鼠体内的 CD4⁺CD25⁺T 细胞不能阻止小鼠结肠炎的发生^[4]。Belkaid 等^[5]发现 IL-10 基因剔除小鼠或 IL-10 受体封闭后的小鼠,

收稿日期: 2005-11-28 接受日期: 2006-04-21

上海市科委重大项目(No.03DJ14009, No.05ZR14055, No.054319928), 上海市教委项目(No.T0206, No.05BZ26)资助

* 通讯作者。Tel: 021-64453149, Fax: 021-63846383, E-mail: ninglixiaoxue57@sjtu.edu.cn

其 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的作用受到抑制, 可以完全清除感染的硕大利什曼原虫, 同时丧失抗再感染的伴随免疫力。机体对硕大利什曼原虫伴随免疫力的维持, 可能与 CD4⁺CD25⁺ T 细胞分泌的细胞因子 IL-10 有关^[5]。有些报道认为, CD4⁺CD25⁺ T 细胞发挥作用时会诱导一些传统的 T 细胞具备调节功能且分泌抑制性细胞因子参与免疫调节, 而 TGF- β 本身可以诱导 Foxp3 的表达^[7]。因此细胞接触机制与细胞因子介导机制可能共同参与了 CD4⁺CD25⁺ T 细胞体内调节作用。

2 Foxp3

叉状头 / 翅膀状螺旋转录因子 (forkhead/winged helix transcription factor, Foxp3) 是调节性 T 细胞比较特异的标志。Foxp3 对 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞发挥功能是必需的, 是调节性 T 细胞发育的一个重要开关。将 Foxp3 基因转入小鼠外周 CD4⁺CD25⁻ 未致敏 T 细胞, 可使其分化为具有与自然发生的 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞相似的表型与功能: TCR 被刺激后增殖性不强但分泌 IL-10。CD25 等膜表面分子表达上调, 体外依赖细胞接触机制抑制其他 T 细胞的增殖^[8]。

Foxp3 基因的缺乏会导致很多致命的免疫性疾病, 自身免疫性重症肌无力患者的胸腺细胞 Foxp3 表达下降, 导致其 CD4⁺CD25⁺ T 细胞出现功能障碍^[9]。有些人因感染 HTLV-1 (human T-cell lymphotropic virus type 1) 而患脊髓病, 可能是因为病毒转录激活的基因直接抑制 Foxp3 基因的转录, 从而影响了 CD4⁺CD25⁺ T 细胞功能的发挥, 无法抑制免疫细胞对神经系统的进攻。这是首个关于逆转录病毒基因产物抑制人类 CD4⁺CD25⁺ T 细胞功能的报道^[10]。

很多因子如 COP-I 可通过诱导 Foxp3 的表达, 使外周 CD4⁺CD25⁻ T 细胞转化为 CD4⁺CD25⁺ T 细胞, 产生免疫调节作用。COP-I (即 Copolymer-I) 是 4 种氨基酸 (谷氨酸, 赖氨酸, 丙氨酸, 酪氨酸) 的无规共聚物。COP-I 诱导的转化过程以 IFN- γ 为媒介。因为在这个过程中, IFN- γ 被大量分泌, 且如果用抗 IFN- γ 抗体阻断其作用, 则 CD4⁺CD25⁻ T 细胞无法转化为 CD4⁺CD25⁺ T 细胞^[11]。TGF- β 通过活化 SMAD (small mother against decapentaplegic) 转录因子也可以诱导 Foxp3 的表达, 而雌激素受体则通过与 Foxp3 的启动子区域结合来调节其表达^[7]。

目前 Foxp3 发挥作用的具体生化机制还有待进

一步研究。Bettelli 等^[12]发现, Foxp3 与 NFAT (nuclear factor of activated T cells) 和 NF- κ B 的 REL domain 蛋白结合, 减少它们的转录活动, 抑制相关的内生细胞因子的表达, 从而使 CD4⁺CD25⁺ T 细胞具有 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的功能。Foxp3 缺乏的小鼠, 其 T 细胞 NFAT 和 NF- κ B 的转录活动明显增加。

3 IL-2

CD4⁺CD25⁺ T 细胞在体内外的存活、活化及 CD25 的表达都需要 IL-2 的参与^[13]。IL-2 缺陷小鼠, 其胸腺与外周的 CD4⁺CD25⁺ T 细胞均减少。这些小鼠易患自身免疫性淋巴增殖性疾病^[14]。

虽然 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的存活需要 IL-2, 但其自身并不分泌 IL-2^[15, 16], 而活化的效应 T 细胞分泌的 IL-2 是主要来源。将调节性 T 细胞与效应 T 细胞体外共同培养时发现, CD4⁺CD25⁺ T 细胞有下调效应 T 细胞中 IL-2 mRNA 的作用, 高表达的 CD25 也可以与效应 T 细胞竞争 IL-2。CD4⁺CD25⁺ T 细胞在干扰效应 T 细胞 CD25 上调的同时使自己 CD25 的表达上调。若加入抗 IL-2 抗体则上调作用消失, 若增加 IL-2 则使效应 T 细胞恢复 CD25 的表达水平^[17]。可见 IL-2 介导了一个反馈回路: 效应 T 细胞分泌的 IL-2 可以维持、活化调节性 T 细胞, 调节性 T 细胞则抑制效应 T 细胞分泌 IL-2。

4 GITR

GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor) 是肿瘤坏死因子受体家族的成员。GITR 组成性表达于 CD4⁺CD25⁺ T 细胞。两个独立科研组发现 GITR 在 CD4⁺CD25⁺ T 细胞介导的免疫抑制效应中发挥重要作用。Shimizu 等^[18]研究发现外周 CD4⁺CD25⁺ T 细胞群和 CD4⁺CD25⁻ T 胸腺细胞表达高水平的 GITR; 用抗 GITR 单克隆抗体中和 GITR 可阻断 CD4⁺CD25⁺ T 细胞介导的抑制; 去除 GITR 表达 T 细胞或给予抗 GITR 单克隆抗体可使正常鼠发生器官特异性自身免疫病。McHugh 等^[19]用 DNA 芯片技术分析了 CD4⁺CD25⁺ T 细胞群与 CD4⁺CD25⁻ T 细胞群基因的差异, 结果表明 GITR 在 CD4⁺CD25⁺ T 细胞群表达增加; 并且证明抗 GITR 单克隆抗体可阻断 CD4⁺CD25⁺ T 细胞介导的抑制作用。

体外研究显示, 可溶性 GITR-L 可以诱导 GITR 依赖的 NF- κ B 的活化, 从而阻断 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的抑制作用, 也可以上调效应 T 细胞分泌 IL-2, 打

破 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的免疫无能状态。活体内细胞膜表面的 GITR-L 可以与 GITR 形成交联的复合物,大大加强了上述作用^[20]。最近有研究表明 GITR 触发后通过抑制 CD4⁺CD25⁺ T 细胞合成 GZ-B 来影响其功能^[31]。

研究发现 GITR-L 与 GITR 参与了过敏性皮炎的发病^[21]。90% 的过敏性皮炎由感染金黄色葡萄球菌引起。金葡菌分泌的肠毒素 B 是一种超抗原,可以诱导具有抗原递呈功能的单核细胞在膜表面表达 GITR-L。单核细胞通过 GITR-L 与 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞膜表面的 GITR 相互作用,干扰 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞发挥免疫抑制作用,导致免疫反应过于强烈,引起过敏性皮炎。若 GITR-L 被阻断,即使超抗原存在,CD4⁺CD25⁺ T 细胞的功能仍可恢复。可见,GITR-L 与 GITR 在 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞,效应 T 细胞和抗原递呈细胞上的分布情况及相互之间复杂的作用对 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的功能有很大影响。

5 CD28、B7、CTLA-4

CD28、B7(CD80、CD86)是影响 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞在胸腺内发育及在外周存活的重要分子。CD28 或 B7 缺陷小鼠体内的 CD4⁺CD25⁺ T 细胞数量明显下降,且由于效应 T 细胞的活化也受到影响,IL-2 分泌减少,CD4⁺CD25⁺ T 细胞的功能也降低^[22]。另一方面,对 CD28 过强的刺激会导致 IL-2 分泌过多,从而改变 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的免疫无能状态,影响其功能^[23]。

Takahashi 等^[24]的研究表明,细胞毒性 T 淋巴细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4,CTLA-4)与效应 T 细胞上 CTLA-4 配体(CD80,CD86)结合后强烈抑制其活性,由于 CTLA-4 主要表达于 CD4⁺CD25⁺ T 细胞,因此 CTLA-4 在 CD4⁺CD25⁺ T 细胞产生的抑制作用中可能扮演重要角色。抗 CTLA-4 抗体能减弱 CD4⁺CD25⁺ T 细胞对发生自身免疫性结肠炎的抑制作用,在正常小鼠还可产生自身免疫性胃炎。体外研究表明 CD4⁺CD25⁺ T 细胞能通过共刺激信号 CTLA-4 与树突状细胞(DC)上的 CD80 或 CD86 结合,诱导吲哚胺-2,3-加双氧酶(indolamine 2,3-dioxygenase)的生成,进而催化色氨酸转化为 kynurine 及其他产物,而这些产物具有局部免疫抑制效应^[25]。

6 病原微生物与 Toll 样受体

很多病原微生物可以影响 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的活性及凋亡方式,在不同的实验模型与疾病模型中,具体的影响途径与结果也不尽相同。

有人研究了肝炎小鼠肝脏中 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的活性^[26]。发现正常肝脏中的库普弗细胞对 CD4⁺CD25⁺ T 细胞有抑制作用,而肝血窦内皮细胞(LSEC)和肝细胞则没有。但在受感染、有炎症的肝脏,肝血窦内皮细胞(LSEC)和肝细胞也参与对 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的抑制。CpG-寡核苷酸存在时库普弗细胞、肝血窦内皮细胞和肝细胞都对 CD4⁺CD25⁺ T 细胞有抑制作用,LPS 存在时库普弗细胞和肝细胞有抑制作用。LPS 可能通过 Toll 样受体(TLR)活化抗原递呈细胞,刺激 CD4⁺CD25⁺ T 细胞多克隆增殖,丧失免疫调节作用。TLR-4 缺陷的小鼠肝细胞则无法抑制 CD4⁺CD25⁺ T 细胞,在这里肝血窦内皮细胞和肝细胞可能也起到了抗原呈递细胞的作用。CD4⁺CD25⁺ T 细胞功能的抑制会导致免疫反应过于强烈,引起肝脏较严重的损伤。

有些病原微生物增强了 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的功能,使病原不易清除,如幽门螺杆菌^[27]。有些 HIV 患者,CD4⁺CD25⁺ T 细胞活性较强,防止了有害的免疫应答,病毒血症较轻,CD4:CD8 的比例也较高^[28]。

在不同的疾病中,可能有不同的因素与途径对 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的数量和活化状态产生影响,进一步阐明各种疾病中影响 CD4⁺CD25⁺ T 细胞活性的因素及其机制对于临床治疗有重要意义。

7 小结

CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞是一种重要的具有免疫调节作用的 T 淋巴细胞亚群,目前有关的研究已经取得了很大进展,但许多问题,比如 CD4⁺CD25⁺ T 细胞与其他具有免疫抑制作用细胞的关系,中枢自然发生的与外周诱导产生的 CD4⁺CD25⁺ T 细胞在具体功能与作用机制上的差异,仍需要进一步研究。对该细胞的深入研究将有助于了解机体的免疫调节机制,有助于认识自身免疫性疾病、肿瘤、移植排斥等病理状态的发生机制,并为临床上这些疾病的免疫治疗提供新的途径。

参考文献 (References)

- [1] Sakaguchi S *et al.* *J Immunol*, 1995, **155**: 1151
- [2] Levings MK *et al.* *Curr Top Microbiol Immunol*, 2005, **293**: 303

- [3] Gondek DC *et al. J Immunol*, 2005, **174**: 1783
- [4] Nakamura K *et al. J Immunol*, 2004, **172**: 834
- [5] Belkaid Y *et al. Nature*, 2002, **420**: 502
- [6] Jonuleit H *et al. J Exp Med*, 2002, **196**: 255
- [7] Coffier PJ *et al. Nat Rev Immunol*, 2004, **4**: 889
- [8] Fontenot JD *et al. Nat Immunol*, 2005, **6**: 331
- [9] Balandina A *et al. Blood*, 2005, **105**: 735
- [10] Yamano Y *et al. J Clin Invest*, 2005, **115**: 1361
- [11] Hong J *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 6449
- [12] Bettelli E *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 5138
- [13] Karube K *et al. Br J Haematol*, 2004, **126**: 81
- [14] Chinen J *et al. J Allergy Clin Immunol*, 2004, **114**: 398
- [15] Bensinger SJ *et al. J Immunol*, 2004, **172**: 5287
- [16] Su L *et al. J Immunol*, 2004, **173**: 4994
- [17] Barthlott T *et al. Int Immunol*, 2005, **17**: 279
- [18] Shimizu J *et al. Nat Immunol*, 2002, **3**: 135
- [19] McHugh RS *et al. Immunity*, 2002, **16**: 311
- [20] Ji HB *et al. J Immunol*, 2004, **172**: 5823
- [21] Cardona ID *et al. J Allergy Clin Immunol*, 2006, **117**: 688
- [22] von Boehmer H. *Nat Immunol*, 2005, **6**: 338
- [23] Shevach EM *et al. Immunol Rev*, 2001, **182**: 58
- [24] Takahashi T *et al. J Exp Med*, 2000, **192**: 303
- [25] Mellor AL *et al. Nat Rev Immunol*, 2004, **4**: 762
- [26] Wiegard C *et al. Hepatology*, 2005, **42**: 193
- [27] Lundgren A *et al. Infect Immun*, 2005, **73**: 523
- [28] Kinter AL *et al. J Exp Med*, 2004, **200**: 331

The Molecular Mechanisms Mediated by CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells

Wen-Jun Xiao¹, Ning-Li Li^{1,2*}

(²Shanghai Institute of Immunology, ¹Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract The crucial role of regulatory cells in self-tolerance and autoimmunity has been clearly established, and much focus has been placed on CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells, which comprise approximately 5%–15% of the peripheral CD4⁺ T cells in human and mice. The naturally occurring regulatory T cells are found to be functionally mature in the thymus, and exert suppression in a contact-dependent manner *ex vivo*. Some CD4⁺CD25⁺ T cells can express regulatory activity selectively upon induction and in the context of particular environmental molecules such as cytokines through the activation of forkhead/winged helix transcription factor. Understanding the development and regulatory functions of CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells may elucidate the etiology for loss of self-tolerance. This review will summarize the molecules involving in the regulatory mechanisms and functions of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells.

Key words immune regulation; CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells; Foxp3; cell-to-cell contact mechanism

Received: November 28, 2005 Accepted: April 21, 2006

This work was supported by the Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (No.03DJ14009, No.05ZR14055, No.054319928), Shanghai Municipal Education (No.05BZ26) and Shanghai Leading Academic Discipline Project (No.T0206)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64453149, Fax: 86-21-63846383, E-mail: ninglixiaoxue57@sjtu.edu.cn