

调节性T细胞与肿瘤免疫治疗

张凯敏¹, 魏萍^{1,2}, 潘璠^{1*}

¹中国科学院深圳先进技术研究院生物医药与技术研究所, 深圳 518000;

²重庆医科大学附属儿童医院耳鼻咽喉科, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心,
儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

摘要: 调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)在机体免疫抑制和免疫耐受过程中发挥着关键作用。肿瘤中浸润的Treg介导肿瘤细胞免疫逃逸, 抑制机体抗肿瘤免疫应答。大多数实体瘤中Treg浸润程度与患者的不良预后密切相关。靶向清除肿瘤微环境中的Treg可有效增强效应T细胞对肿瘤细胞的杀伤能力、抑制肿瘤生长、延长荷瘤小鼠和部分患者的生存期。因此, 靶向清除肿瘤微环境中的Treg来增强效应T细胞的抗肿瘤免疫反应有望成为肿瘤免疫治疗的有效途径。本文通过介绍Treg的特征和功能、Treg免疫抑制的机制、Treg介导肿瘤免疫逃逸的过程以及靶向Treg治疗肿瘤的研究进展, 为深入探究靶向Treg免疫疗法提供参考。

关键词: 调节性T细胞; 免疫抑制; 肿瘤免疫治疗

Treg and cancer immunotherapy

ZHANG Kaimin¹, WEI Ping^{1,2}, PAN Fan^{1*}

¹Institute of Biomedicine and Biotechnology, Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518000, China; ²Department of Otolaryngology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China)

Abstract: Regulatory T cells (Tregs) play a significant role in maintaining immune suppression and tolerance. Tumor-infiltrating Tregs mediate the immune escape of tumor cells and inhibit the anti-tumor immune response. Cumulated evidence suggests that an increased population of Tregs in solid tumors is associated with poor clinical outcomes. Meanwhile, a number of studies also revealed that depletion of Treg in the tumor can effectively boost the anti-tumor response of effector T cells against tumor cells. Furthermore, Tregs-targeted therapy can effectively inhibit tumor growth and ultimately prolong the overall survival rate of tumor-bearing mice and clinical patients. Therefore, depletion of Tregs in tumors is expected to be an effective approach for anti-tumor therapy. In this review, we summarized the characteristics and function of Tregs, the immunosuppression mechanism of Tregs, the role of Tregs in tumor immune escape and Treg-targeted therapy against cancer.

Key Words: regulatory T cell; immune suppression; tumor immunotherapy

收稿日期: 2022-05-08

基金项目: 科技部重点研发项目(2021YFC2400501); 国家自然科学基金项目(32170925)

第一作者: E-mail: km.zhang@siat.ac.com

*通信作者: E-mail: fan.pan@siat.ac.com

肿瘤威胁着人类生命健康,是导致人类死亡的主要原因。肿瘤发生发展的进程受机体免疫功能的影响,肿瘤中浸润的调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)是抑制抗肿瘤免疫应答的主要免疫抑制细胞。Treg可通过表达表面分子T淋巴细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4)抑制抗原提呈细胞呈递抗原激活效应T细胞的作用,以及分泌免疫抑制性细胞因子TGF- β 、IL-10等来抑制效应T细胞的活性^[1,2]。复杂的肿瘤微环境可分泌趋化因子吸引Treg浸润,并增强Treg功能使其表现出更强的免疫抑制活性。肿瘤组织中Treg浸润程度往往与临床不良预后密切相关。肿瘤微环境中的Treg抑制效应T细胞的杀肿瘤作用,使机体的抗肿瘤免疫应答效应减弱,从而促进肿瘤生长。使用CD25单克隆抗体清除Treg,可使小鼠肿瘤组织中CD8⁺ T细胞比例增加且特异性杀肿瘤活性增强^[3]。由此可见,通过减少肿瘤组织中Treg数量来提高机体抗肿瘤免疫应答效应是治疗肿瘤的有效途径。

本文通过分析Treg发育分化过程和其核心转录因子FOXP3对Treg功能的调控机制,阐述Treg免疫抑制机制的研究进展以及肿瘤浸润Treg发挥免疫抑制效应的机制,并重点关注靶向Treg的肿瘤免疫治疗研究进展。

1 Treg特征与功能

Treg是一类CD4⁺CD25⁺ T细胞免疫抑制亚群,缺乏Treg会导致严重的自身免疫性疾病,Treg在维持机体免疫稳态过程中发挥着重要作用。在体内,Treg主要分为胸腺来源的天然Treg细胞(natural regulatory Treg, nTreg)和在外周由naïve T细胞诱导形成的Treg细胞(inducible regulatory Treg, iTreg)。在胸腺T细胞发育过程中,未成熟CD4单阳细胞发育成为nTreg前体细胞,nTreg前体细胞再通过三种不同途径转化成为成熟的nTreg细胞^[4]。首先,T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)高亲和力识别其配体对nTreg的分化至关重要,nTreg前体细胞上的TCR对不同抗原肽-MHC复合物进行识别可诱导其表面受体CD25(IL-2R)和CTLA-4的形成。其次,T细胞表达的CD28共刺激受体信号参与nTreg的分化过程。缺乏CD28会引起IL-2水平降低,导致其受

体CD25信号通路转导减弱及FOXP3表达下降,影响nTreg的分化。此外,细胞因子信号转导是nTreg发育过程中的另一个重要调控因素,IL-2、IL-7和IL-15通过共同的 γ 链细胞因子受体对nTreg的分化过程发挥作用,缺乏IL-7和IL-15都会影响nTreg的形成^[5];在缺乏IL-2的小鼠体内,CD4⁺CD25⁺ T细胞数量急剧下降;在小鼠体内注射IL-2中和抗体同样可诱导nTreg细胞数量减少,同时导致自身免疫性疾病的发生。iTreg细胞来源于外周的naïve CD4⁺ T细胞,与nTreg相比,iTreg主要是由TGF- β 和IL-2诱导形成,主要在特定器官中高度富集,包括肠道和母体胎盘。nTreg的TCR通常被认为主要识别自我抗原,而iTreg的TCR倾向于主要识别外源抗原。TGF- β 信号通路对iTreg的形成至关重要,TGF- β 在TCR诱导的CD4⁺CD25⁻ naïve T细胞中可上调FOXP3基因表达,促进其转变成具有免疫抑制活性的Treg。TGF- β 1缺陷小鼠的胸腺中Treg发育正常,而外周Treg数量明显减少。TGF- β 可以激活其下游的SMAD2/3磷酸化介导信号的转导,在敲除SMAD2/3小鼠中发现,Treg的免疫抑制功能受损,对CD4⁺ T细胞中IFN- γ 生成的抑制能力下降^[6]。研究表明,SMAD2/3可进入细胞核内与FOXP3启动子区域的保守的非编码序列1(conserved non-coding sequences 1, CNS1)结合调控下游基因转录,在肠相关淋巴组织中对iTreg细胞形成具有显著作用。缺乏CNS1的小鼠表现出Th2型过敏性炎症,同时外周Treg数量明显减少^[7]。

FOXP3是Treg的核心特征性转录因子,主要调控Treg发育和抑制活性,对Treg分化和功能至关重要。人类和小鼠体内Treg缺乏FOXP3会导致其功能失调,发生严重的全身炎症反应,表现为自身免疫性疾病或过敏性疾病^[8]。在小鼠CD4⁺CD25⁻ T细胞中过表达FOXP3,可使细胞获得Treg免疫抑制功能。FOXP3基因表达在X染色体上,对人类的遗传分析发现,FOXP3基因的突变会导致严重的X连锁免疫失调综合征(immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-Linked syndrome, IPEX)^[9]。研究表明,多种辅助因子可与FOXP3的不同结构域结合形成复合物调控Treg的稳定性。Eos具有转录抑制活性,可与FOXP3的N端51个氨基酸结合,介导FOXP3的转录抑制功

能。Treg中*Eos*的缺失可使肿瘤生长减缓, 激活CD4⁺Foxp3⁻和CD8⁺ T细胞, 促进抗肿瘤效应分子IFN- γ /TNF- α 的生成^[10]。FOXP3与NFAT相互作用可抑制IL-2表达, 上调表达Treg标记物CTLA-4和CD25, 从而增强Treg抑制功能^[11]。Runx1可与FOXP3的亮氨酸拉链结构域和叉头结构域的基序结合, 缺乏Runx1的Treg免疫抑制功能明显下降。在Treg中敲除Runx1复合物中的*CBF-beta*可引起FOXP3表达下降及促进IL-4表达, 削弱Treg免疫抑制活性^[12]。

近年来, 研究证明, FOXP3蛋白的功能与翻译后修饰(posttranslational modification, PTMs)调节密切相关, FOXP3蛋白修饰在维持FOXP3功能中发挥着重要的作用。FOXP3蛋白的磷酸化、乙酰化和泛素化被广泛研究^[13]。FOXP3 C端结合域Ser418位点的磷酸化可调节Treg抑制功能。TNF- α 诱导生成的蛋白磷酸酶1会使FOXP3的Ser418位点去磷酸化, 减弱Treg免疫抑制功能。Ser418位点突变成丙氨酸的FOXP3不能与IL-2启动子结合, 丧失了抑制IL-2转录的功能^[14]。FOXP3 N端106~190 aa被TIP60和HDAC7乙酰化并进一步形成复合物, 对于FOXP3抑制T细胞中的IL-2生成是必不可少的^[15]。p300乙酰化FOXP3可提高FOXP3的稳定性, 并抑制蛋白酶体对FOXP3的降解作用^[16]。FOXP3功能还受泛素化调节, TRAF6和Stub1是直接泛素化FOXP3的E3连接酶, FOXP3在E3连接酶TRAF6的介导下, 在K262位点上发生K63连接的泛素化作用。在TRAF6活性缺失或泛素化位点发生突变的情况下, FOXP3的功能被破坏。在急性应激情况下, 增加Stub1可介导K48连接的泛素化作用, 从而降低FOXP3表达水平和免疫抑制能力^[17,18]。

2 Treg介导免疫抑制的机制

Treg通过释放抑制性细胞因子介导免疫抑制反应。IL-10是Treg介导免疫调节和免疫抑制的主要细胞因子^[2]。IL-10主要作用于单核细胞和巨噬细胞。IL-10可抑制单核细胞和巨噬细胞分泌促炎细胞因子TNF- α 及IL-1 β 。IL-10还可抑制IL-12合成, 阻碍Th1细胞分化过程。使用抗IL-10中和抗体可阻断Treg对效应T细胞的抑制作用。Treg通过

Blimp1转录因子调控IL-10的表达, T细胞中缺乏Blimp-1的小鼠外周效应CD4⁺和CD8⁺ T细胞数量增加, 过表达Blimp-1的T细胞更容易分化为Treg, 对T细胞增殖的抑制作用更加明显^[19]。由此可见, IL-10在介导Treg免疫抑制功能中发挥着重要的作用。TGF- β 对于免疫细胞而言具有重要的生物活性, 是Treg发挥免疫抑制功能的重要效应因子, 可抑制效应T细胞的激活, 同时可诱导Treg和Th17分化。Treg细胞可通过促进TGF- β 1的产生和激活TGF- β 1的前体来促进免疫耐受。Treg通过表达整合素 $\alpha\beta$ 8促进非活性状态TGF- β 转化为活化TGF- β ^[20]。在过继转移模型中, FOXP3⁺ Treg产生TGF- β 1从而抑制Th1细胞分化和减缓炎症性肠病的进程。IL-35是Treg分泌的Ebi3与IL-12异源二聚体细胞因子, 调控T细胞的增殖和分化。使用重组IL-35通常会减弱T细胞增殖水平和减少相应细胞因子分泌。在敲除*Ebi3*或*IL-12a*的小鼠体内发现Treg分泌IL-35的能力降低, 导致T细胞增殖水平升高。IL-35亚基p35缺失小鼠脾脏中Treg数量减少, 而IL-35可将naïve T细胞分化为产生IL-35的调节性T细胞, 增加其抑制活性^[21,22]。

Treg可通过细胞溶解介导免疫抑制反应。颗粒酶B(Granzyme B)是一种丝氨酸蛋白酶, 通过穿孔素的作用进入细胞内激活Caspase3介导的细胞凋亡。Treg通过产生Granzyme B诱导效应T细胞发生凋亡, 从而减少效应细胞的数量和控制免疫反应^[23]。TCR/CD28介导的PI3K-mTOR通路激活对Granzyme B在Treg中的表达至关重要。在人类外周血细胞中, CCL1可激活Treg使其表面的CCR8表达增加, CCL1与CCR8的相互作用诱导STAT3依赖的Granzyme B表达上调, 从而增强Treg的抑制活性^[24]。

Treg可通过调控细胞代谢介导免疫抑制反应。IL-2是T细胞增殖的主要细胞因子, Treg表面特异性高表达IL-2的受体CD25分子, 使其更有效地与效应T细胞竞争IL-2, 最终导致效应T细胞耗竭凋亡。与效应T细胞相比, Treg需要消耗更多的葡萄糖来获得能量以执行免疫抑制功能, 而Treg对葡萄糖的竞争性消耗也会加速效应T细胞的衰竭^[25]。cAMP可抑制T细胞的激活和功能, 在Treg细胞中, FOXP3可通过抑制miR-142-3p和PDE3b来

介导AC9表达上调,从而使胞内的cAMP浓度增加,Treg进一步通过细胞-细胞直接接触从膜间隙将cAMP转移到效应T细胞中,导致效应T细胞中IL-2的产生减少,增殖能力受损^[26]。Treg与树突状细胞的相互作用也可使树突状细胞中的cAMP总量增加,从而导致共刺激因子CD80/CD86的表达降低^[27]。

Treg通过作用于树突状细胞(dendritic cell, DC)介导免疫抑制的机制已被广泛报道。Treg可通过表面分子CTLA-4抑制DC表面共刺激信号CD80/CD86表达,从而干扰T细胞的激活过程。Treg可分泌IL-10抑制DC成熟及其表面共刺激分子的表达,从而阻碍DC发挥抗原呈递的功能。CD70是TNF家族成员,在树突细胞和胸腺髓质上皮细胞上表达。DC可依赖CD70分子增强细胞毒性T细胞功能,而Treg以CD27依赖方式下调DC质膜上的CD70,从而阻碍DC的作用^[28]。与Treg共培养的DC(Treg-DC)表现出较弱的抗原摄取能力,同时IL-12、IL-6等细胞因子分泌水平降低以及诱导naïve CD4⁺ T细胞转化成为Th1的能力下降。Treg-DC可以明显抑制CD8⁺ T细胞的活化与增殖水平,Treg-DC活化的CD8⁺ T细胞在移植抗宿主模型中介导的组织损伤程度较轻^[29]。

3 肿瘤浸润Treg的作用机制

肿瘤微环境中浸润着大量的Treg,这些Treg对效应T细胞的免疫抑制作用会阻碍抗肿瘤免疫应答的进程。Treg/CD8⁺ T细胞比例升高与许多恶性肿瘤如乳腺癌、胃癌等的不良预后有关。在小鼠和人类乳腺癌中,Treg通过表达RANKL从而促进RANK⁺癌细胞的转移过程^[30]。在胃癌患者外周血淋巴细胞中,Treg数量明显增加,而Treg的数量也与胃癌组织的病变程度相关,同时胃癌细胞也会分泌TGF- β 诱导naïve T细胞转化成为Treg介导免疫抑制作用^[31]。对872个胰腺癌患者肿瘤数据进行荟萃分析发现,Treg在瘤内和瘤周高水平浸润往往与患者较差的总生存期显著相关^[32]。

肿瘤微环境中的肿瘤细胞和巨噬细胞通过分泌趋化因子作用于Treg表面趋化因子的受体,吸引Treg在肿瘤组织中的累积。肿瘤中活化的CD8⁺ T细胞能够刺激肿瘤细胞分泌趋化因子CCL22在肿瘤组

织中募集Treg,当CD8⁺ T细胞被清除时,肿瘤微环境中的Treg总数量减少^[33]。同样,肿瘤细胞产生的单核细胞集落刺激因子(GM-CSF)可刺激肿瘤相关巨噬细胞分泌趋化因子CCL17和CCL22,通过与Treg表面受体CCR4结合介导Treg细胞进入肿瘤^[34]。肿瘤缺氧环境可诱导趋化因子CCL28表达增加,在过表达CCL28的ID8荷瘤小鼠中,肿瘤浸润更多的FOXP3⁺ Treg细胞。而在体外实验中,使用重组人CCL28可从外周血单个核细胞中招募CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺细胞,而抗CCL28抗体可逆转这一现象。CCL28可促进Treg向肿瘤组织浸润,从而介导肿瘤细胞免疫逃逸过程和促进肿瘤血管生成^[35,36]。肿瘤浸润的髓源抑制细胞可分泌CCL3、CCL4和CCL5趋化因子作用于Treg表面的CCR5受体。瘤内注射CCL4或CCL5可增加肿瘤中Treg数量,同时在CCR5缺失荷瘤小鼠体内发现肿瘤增长速度变缓并伴随Treg数量显著减少^[37]。

FOXP3⁺CD4⁺细胞的分类主要有三种,分别是初始Treg(CD45RA⁺CD4⁺FOXP3^{lo})、效应Treg(CD45RA⁺CD4⁺FOXP3^{hi})和非Treg(CD45RA⁺CD4⁺FOXP3^{lo})细胞,而在肿瘤中效应Treg的比例会大大增加。主要是由于在肿瘤微环境中,Treg可被改造以获得激活表型和增强抑制功能,肿瘤浸润Treg可分化成肿瘤特有表型。首先,处于增殖和死亡状态的肿瘤细胞可提供大量的自身抗原,肿瘤组织内Treg的TCR表达与传统T细胞不同,肿瘤内Treg来源的TCR不仅能够特异性识别肿瘤抗原,同时也可识别突变肿瘤新抗原,肿瘤抗原进一步促进Treg的增殖^[38]。其次,肿瘤分泌的外泌体包含大量基因组DNA、mRNA和microRNAs,外泌体连续传递可对Treg功能进行改造。肿瘤的低氧环境可促进肿瘤细胞分泌包含TGF- β 的外泌体,可增强Treg的抑制活性^[39]。用外泌体刺激Treg,STAT和SMAD2/3磷酸化水平增加,TGF- β 和IL-10的分泌水平增强^[40]。而肿瘤分泌的外泌体表面CD73能增加腺苷的生成并上调CD39⁺ Treg的免疫抑制功能^[41]。

近年来,越来越多文献报道肿瘤微环境中代谢的变化与Treg活性密切相关,而Treg也可通过调控代谢情况发挥免疫抑制作用。肿瘤组织内的Treg与效应T细胞的代谢途径有所不同,有独特的代谢补偿方式,可在恶劣的肿瘤环境中利用有限的营

养物质维持自身活性。同时, 肿瘤微环境信号诱导糖酵解、脂肪酸的合成和氧化通路有利于肿瘤浸润Treg的增殖^[42]。Treg通过促进srebp1依赖的脂质代谢, 抑制CD8⁺ T细胞来源的IFN- γ 以维持免疫抑制的肿瘤相关巨噬细胞, 从而协调肿瘤相关的免疫抑制^[43]。在Treg中的脂肪酸结合蛋白5功能缺失会导致线粒体功能和结构发生改变, 氧化磷酸化水平降低, 进一步促进线粒体DNA的释放和I型干扰素通路的激活, 从而诱导调节细胞因子IL-10的产生并促进Treg的抑制活性^[44]。而TLR8信号通路的激活可抑制人Treg中葡萄糖摄取和糖酵解的过程, 从而降低Treg免疫抑制活性, 进而增强效应T细胞的杀伤功能^[25]。有研究认为, 肿瘤组织内的Treg可通过摄取乳酸进行糖异生, 在高糖的肿瘤微环境中维持自身的增殖和抑制活性, Treg利用MCT1摄取肿瘤微环境中的乳酸, 促进NFAT进入细胞核发挥功能, 增强Treg表面的PD1表达, 因此使用PD1疗法时会增强高表达PD1的Treg细胞免疫抑制活性影响免疫检查点疗法的治疗效果^[45]。

4 靶向Treg的肿瘤免疫治疗

无论是炎症性还是非炎症性肿瘤, 在不同类型的肿瘤微环境中都能观察到大量的Treg, Treg在肿瘤微环境中抑制效应T细胞的激活和介导肿瘤的免疫逃逸作用。越来越多的研究证明, 靶向清除肿瘤微环境中的Treg能够增强抗肿瘤免疫反应。目前, 对于靶向Treg的免疫治疗主要针对靶向Treg细胞表达较高水平并且与传统T细胞存在差异表达的细胞表面分子。

CD25也被称为白介素-2高亲和力受体 α 链(IL-2R α), 是第一个用于识别和分离Treg细胞的表面标记物。Treg主要通过CD25结合IL-2, 并与效应T细胞竞争IL-2, 从而抑制效应T细胞的增殖和激活。在人类肿瘤中, 肿瘤浸润Treg比其他效应T细胞表达更高水平的CD25, 而在肿瘤中的CD8⁺ T细胞中几乎检测不到其表达情况。早期研究证明, 在肿瘤接种前使用抗CD25单克隆抗体能显著抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长, 增加肿瘤浸润CD8⁺ T细胞的数量, 延长荷瘤小鼠的生存期^[3]。使用重组IL-2白喉毒素偶联物能选择性地从癌症患者PBMC中清除CD25⁺ Treg, 可增强细胞毒性T细胞体外增殖和细

胞毒性反应; 然而, 在激活效应T细胞中CD25也会随之被诱导表达。因此, 达克珠单抗靶向清除Treg的同时, 也伴随着效应T细胞数量减少。而且重组IL-2白喉毒素偶联物也被证明在体外能够抑制DC细胞介导的T细胞活化。因此, 抗CD25单克隆抗体在部分临床前研究中表现出缺乏抗肿瘤活性。近几年针对CD25单抗进行了优化, 由于CD25单抗通过Fc γ R III介导的ADCC作用导致肿瘤内的Treg清除, 肿瘤中抑制性Fc γ R II b表达增加会阻碍CD25单抗的作用, 因此研究人员使用小鼠IgG2a的 κ 保守区域替换了CD25单克隆抗体(PC-61)中的保守区域, 这样的设计使CD25单抗表现出了更稳定的Treg清除能力和更强的抑制肿瘤活性^[46]。并且研究发现, 将CD25抗体的可变区域7D4克隆进IgG2a的骨架中, 可获得一种新型的清除Treg却保留IL-2信号的CD25抗体(RG6292), 在清除Treg的基础上更好地避免了CD25单抗对效应T细胞的不良影响^[47]。

CTLA-4是在Treg中高度表达的免疫抑制分子, 在激活的传统T细胞中也存在表达。作为T细胞激活的负性调控者, Treg表面的CTLA-4表达有助于促进Treg与抗原呈递细胞之间的相互作用, 形成免疫突触介导CTLA-4依赖的胞吞作用以识别抗原呈递细胞表面的CD80/CD86分子。Treg通过CTLA-4的尾部直接介导内吞作用导致CD80/CD86表达量下降^[1], 而CD80/CD86表达量降低进一步导致抗原呈递细胞表面PD-L1的表达下降。因此Treg通过CTLA-4与树突细胞表面的CD80/CD86结合从而竞争抑制共刺激分子CD28的信号, 进一步释放吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO), 阻碍T细胞的活化。在肿瘤中, CTLA-4可促进肿瘤细胞的存活, 肿瘤中浸润的CTLA-4⁺ Treg可通过抑制抗肿瘤免疫来逃避肿瘤免疫, 抗CTLA-4抗体可增强CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞的抗肿瘤活性。CTLA-4可在复杂肿瘤微环境中下调T细胞糖酵解作用的过程, 而阻断CTLA-4可在糖酵解水平较低的肿瘤中促进Treg的糖酵解过程从而改变Treg的稳定性, 进而促进体内CD8⁺肿瘤浸润淋巴细胞的活化^[48]。2011年, FDA批准首个抗CTLA-4抗体Ipilimumab用于黑色素瘤、非小细胞癌等肿瘤治疗。一项临床研究表明, Ipilimumab对体内CD16⁺(Fc γ R III A)非典型巨噬

细胞比例较高的黑色素瘤患者效果较佳。Ipilimumab通过表达CD16的非经典单核细胞利用抗体依赖的细胞介导细胞毒性选择性地体外消耗Treg。在肿瘤组织中Ipilimumab还可作用于CD68⁺CD16⁺M1型巨噬细胞来清除Treg^[49]。最新研究表明,肿瘤中CTLA-4的表达抑制DC表面CD80/CD86分子,使Treg和DC持续不稳定地接触,CTLA-4抑制剂通过增强Treg和DC细胞的接触,上调CD80/CD86分子会增加共刺激信号分子CD28的表达,从而打破Treg中CD28和CTLA-4的负反馈回路的平衡状态,促进Treg增殖进而介导肿瘤免疫逃逸来影响免疫检查点的疗效^[11]。

巨噬细胞和肿瘤细胞分泌的趋化因子与Treg表面趋化因子受体的作用导致大量的Treg在肿瘤组织中浸润,因此靶向Treg趋化因子受体可有效减少Treg向肿瘤组织的迁移过程。CCR4、CCR8是在Treg表面高表达的趋化因子受体,CCR4是CCL17和CCL22的受体,CCR4⁺Treg能分泌更高水平的IL-10和IL-35,使用CCR4拮抗剂可以显著减少肿瘤内Treg的数量,并且改善肝癌小鼠对索拉非尼的耐药性^[50],在成人T细胞白血病-淋巴瘤患者体内使用抗CCR4抗体Mogamulizumab可通过抗体依赖的细胞毒性来清除Treg^[51],抗CCR4抗体治疗后可显著诱导NY-ESO-1抗原特异性CD8⁺T细胞的数目增加,增强IFN- γ 和TNF- α 的分泌水平。在人外周血中,CCL1可上调Treg表面的CCR8表达,进一步促进FOXP3、IL-10等免疫抑制相关分子的表达量,从而激活Treg的免疫抑制活性。在人和小鼠的肿瘤中,CCR8在肿瘤浸润的Treg中表达较多而在效应T细胞中表达较少,而CCR8⁺Treg细胞的高表达与黑色素瘤、血管肉瘤、乳腺癌、肺癌和结直肠癌患者的不良预后相关。通过Fc优化的抗CCR8抗体可特异性地靶向肿瘤中的CCR8⁺Treg,但对其他器官中的CCR8⁺T细胞影响较少^[52]。在结直肠癌肿瘤小鼠模型中,靶向CCR8可以使肿瘤内CD4⁺和CD8⁺T细胞浸润增强,减少肿瘤浸润的CD4⁺CCR8⁺Treg,从而抑制肿瘤生长并延长小鼠的生存期,并且抗CCR8抗体可激发体内长期的抗肿瘤免疫效应并且不会产生有害的自身免疫反应^[53,54]。

5 展望

Treg细胞作为抗肿瘤免疫应答的负性调控者,削弱了抗肿瘤免疫应答的效应,致使发生肿瘤免疫逃逸。目前对于其免疫抑制调控机制的研究较为深入,也有大量研究证实清除肿瘤微环境中的Treg不仅可以抑制肿瘤免疫逃逸,而且可更有效地激活效应T细胞,从而增强抗肿瘤免疫应答。然而,尽管肿瘤中浸润的Treg与传统T细胞之间存在差异表达的分子,但发现针对Treg细胞的特异性靶点仍极大地限制了其在临床研究中的应用。因此,对于Treg特异表达分子以及Treg在肿瘤中的发育分化和生物学功能尚需更深入的研究。

参考文献

- [1] Tekguc M, Wing JB, Osaki M, et al. Treg-expressed CTLA-4 depletes CD80/CD86 by trogocytosis, releasing free PD-L1 on antigen-presenting cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(30): e2023739118
- [2] Saraiva M, Vieira P, O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med*, 2020, 217(1): e20190418
- [3] Tanaka A, Sakaguchi S. Targeting Treg cells in cancer immunotherapy. *Eur J Immunol*, 2019, 49(8): 1140-1146
- [4] Savage PA, Klawon DEJ, Miller CH. Regulatory T cell development. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38(1): 421-453
- [5] Waickman AT, Keller HR, Kim TH, et al. The cytokine receptor IL-7R α impairs IL-2 receptor signaling and constrains the in vitro differentiation of Foxp3⁺ treg cells. *iScience*, 2020, 23(8): 101421
- [6] Shevach EM, Thornton AM. tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences. *Immunol Rev*, 2014, 259(1): 88-102
- [7] Kanamori M, Nakatsukasa H, Okada M, et al. Induced regulatory T cells: their development, stability, and applications. *Trends Immunol*, 2016, 37(11): 803-811
- [8] Barbi J, Pardoll D, Pan F. Treg functional stability and its responsiveness to the microenvironment. *Immunol Rev*, 2014, 259(1): 115-139
- [9] Bacchetta R, Barzaghi F, Roncarolo MG. From IPEX syndrome to *FOXP3* mutation: a lesson on immune dysregulation. *Ann NY Acad Sci*, 2018, 1417(1): 5-22
- [10] Pan F, Yu H, Dang EV, et al. Eos mediates foxp3-dependent gene silencing in CD4⁺ regulatory T cells. *Science*, 2009, 325(5944): 1142-1146
- [11] Marangoni F, Zhakyp A, Corsini M, et al. Expansion of tumor-associated Treg cells upon disruption of a CTLA-4-

- dependent feedback loop. *Cell*, 2021, 184(15): 3998-4015
- [12] Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A, et al. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature*, 2010, 463(7282): 808-812
- [13] Dong Y, Yang C, Pan F. Post-translational regulations of Foxp3 in Treg cells and their therapeutic applications. *Front Immunol*, 2021, 12: 626172
- [14] Nie H, Zheng Y, Li R, et al. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF- α in rheumatoid arthritis. *Nat Med*, 2013, 19(3): 322-328
- [15] Bettini ML, Pan F, Bettini M, et al. Loss of epigenetic modification driven by the Foxp3 transcription factor leads to regulatory T cell insufficiency. *Immunity*, 2012, 36(5): 717-730
- [16] Liu Y, Wang L, Han R, et al. Two histone/protein acetyltransferases, CBP and p300, are indispensable for foxp3⁺ T-regulatory cell development and function. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(21): 3993-4007
- [17] Ni X, Kou W, Gu J, et al. TRAF6 directs FOXP3 localization and facilitates regulatory T-cell function through K63-linked ubiquitination. *EMBO J*, 2019, 38(9): e99766
- [18] Chen Z, Barbi J, Bu S, et al. The ubiquitin ligase Stub1 negatively modulates regulatory T cell suppressive activity by promoting degradation of the transcription factor Foxp3. *Immunity*, 2013, 39(2): 272-285
- [19] Beppu LY, Mooli RGR, Qu X, et al. Tregs facilitate obesity and insulin resistance via a Blimp-1/IL-10 axis. *JCI Insight*, 2021, 6(3): e140644
- [20] Worthington JJ, Kelly A, Smedley C, et al. Integrin $\alpha\beta 8$ -mediated TGF- β activation by effector regulatory T cells is essential for suppression of T-cell-mediated inflammation. *Immunity*, 2015, 42(5): 903-915
- [21] Shao Y, Yang WY, Saaoud F, et al. IL-35 promotes CD4⁺Foxp3⁺ Tregs and inhibits atherosclerosis via maintaining CCR5-amplified Treg-suppressive mechanisms. *JCI Insight*, 2021, 6(19): e152511
- [22] Yazdani Z, Rafiei A, Golpour M, et al. IL-35, a double-edged sword in cancer. *J Cell Biochem*, 2020, 121(3): 2064-2076
- [23] Sun B, Liu M, Cui M, et al. Granzyme B-expressing treg cells are enriched in colorectal cancer and present the potential to eliminate autologous T conventional cells. *Immunol Lett*, 2020, 217: 7-14
- [24] Barshesht Y, Wildbaum G, Levy E, et al. CCR8⁺ FOXP3⁺ Treg cells as master drivers of immune regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(23): 6086-6091
- [25] Li L, Liu X, Sanders KL, et al. TLR8-mediated metabolic control of human Treg function: a mechanistic target for cancer immunotherapy. *Cell Metab*, 2019, 29(1): 103-123
- [26] Scherm MG, Serr I, Zahm AM, et al. miRNA142-3p targets Tet2 and impairs Treg differentiation and stability in models of type 1 diabetes. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5697
- [27] Klein M, Bopp T. Cyclic AMP represents a crucial component of Treg cell-mediated immune regulation. *Front Immunol*, 2016, 7: 315
- [28] Muth S, Klaric A, Radsak M, et al. CD27 expression on Treg cells limits immune responses against tumors. *J Mol Med*, 2022, 100(3): 439-449
- [29] Mavin E, Nicholson L, Rafez Ahmed S, et al. Human regulatory T cells mediate transcriptional modulation of dendritic cell function. *J Immunol*, 2017, 198(1): 138-146
- [30] Tan W, Zhang W, Strasner A, et al. Tumour-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signalling. *Nature*, 2011, 470(7335): 548-553
- [31] Ma K, Li X, Lv J, et al. Correlations between CD4⁺ FoxP3⁺ Treg and expression of FoxM1 and Ki-67 in gastric cancer patients. *Asia-Pac J Clin Oncol*, 2021, 17(2): e63
- [32] Hu L, Zhu M, Shen Y, et al. The prognostic value of intratumoral and peritumoral tumor-infiltrating FoxP3⁺ Treg cells in of pancreatic adenocarcinoma: a meta-analysis. *World J Surg Oncol*, 2021, 19(1): 300
- [33] Spranger S, Spaepen RM, Zha Y, et al. Up-regulation of PD-L1, IDO, and Tregs in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8⁺ T cells. *Sci Transl Med*, 2013, 5(200): 200ra116
- [34] Carbó JM, León TE, Font-Díaz J, et al. Pharmacologic activation of LXR alters the expression profile of tumor-associated macrophages and the abundance of regulatory T cells in the tumor microenvironment. *Cancer Res*, 2021, 81(4): 968-985
- [35] Facciabene A, Peng X, Hagemann IS, et al. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and Treg cells. *Nature*, 2011, 475(7355): 226-230
- [36] Ji L, Qian W, Gui L, et al. Blockade of β -catenin-induced CCL28 suppresses gastric cancer progression via inhibition of treg cell infiltration. *Cancer Res*, 2020, 80(10): 2004-2016
- [37] Schlecker E, Stojanovic A, Eisen C, et al. Tumor-infiltrating monocytic myeloid-derived suppressor cells mediate CCR5-dependent recruitment of regulatory T cells favoring tumor growth. *J Immunol*, 2012, 189(12): 5602-5611
- [38] Ahmadzadeh M, Pasetto A, Jia L, et al. Tumor-infiltrating human CD4⁺ regulatory T cells display a distinct TCR repertoire and exhibit tumor and neoantigen reactivity. *Sci*

- [Immunol](#), 2019, 4(31): eaao4310
- [39] Vaupel P and Multhoff G. Hypoxia-/HIF-1 α -driven factors of the tumor microenvironment impeding anti-tumor immune responses and promoting malignant progression. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1072: 171-175
- [40] Szajnik M, Czystowska M, Szczepanski MJ, et al. Tumor-derived microvesicles induce, expand and up-regulate biological activities of human regulatory T cells (Treg). *PLoS One*, 2010, 5(7): e11469
- [41] Maj T, Wang W, Crespo J, et al. Oxidative stress controls regulatory T cell apoptosis and suppressor activity and PD-L1-blockade resistance in tumor. *Nat Immunol*, 2017, 18(12): 1332-1341
- [42] Pacella I, Procaccini C, Focaccetti C, et al. Fatty acid metabolism complements glycolysis in the selective regulatory T cell expansion during tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(28): E6546
- [43] Liu C, Chikina M, Deshpande R, et al. Treg cells promote the SREBP1-dependent metabolic fitness of tumor-promoting macrophages via repression of CD8⁺ T cell-derived interferon- γ . *Immunity*, 2019, 51(2): 381-397.e6
- [44] Field CS, Baixauli F, Kyle RL, et al. Mitochondrial integrity regulated by lipid metabolism is a cell-intrinsic checkpoint for Treg suppressive function. *Cell Metab*, 2020, 31(2): 422-437
- [45] Watson MLJ, Vignali PDA, Mullett SJ, et al. Metabolic support of tumour-infiltrating regulatory T cells by lactic acid. *Nature*, 2021, 591(7851): 645-651
- [46] Arce Vargas F, Furness AJS, Solomon I, et al. Fc-optimized anti-CD25 depletes tumor-infiltrating regulatory T cells and synergizes with PD-1 blockade to eradicate established tumors. *Immunity*, 2017, 46(4): 577-586
- [47] Solomon I, Amann M, Goubier A, et al. CD25-Treg-depleting antibodies preserving IL-2 signaling on effector T cells enhance effector activation and antitumor immunity. *Nat Cancer*, 2020, 1(12): 1153-1166
- [48] Zappasodi R, Serganova I, Cohen IJ, et al. CTLA-4 blockade drives loss of Treg stability in glycolysis-low tumours. *Nature*, 2021, 591(7851): 652-658
- [49] Romano E, Kusio-Kobialka M, Foukas PG, et al. Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells ex vivo by nonclassical monocytes in melanoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(19): 6140-6145
- [50] Gao Y, You M, Fu J, et al. Intratumoral stem-like CCR4⁺ regulatory T cells orchestrate the immunosuppressive microenvironment in HCC associated with hepatitis B. *J Hepatol*, 2022, 76(1): 148-159
- [51] Ureshino H, Kamachi K, Kimura S. Mogamulizumab for the treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leukemia*, 2019, 19(6): 326-331
- [52] Campbell JR, McDonald BR, Mesko PB, et al. Fc-optimized anti-CCR8 antibody depletes regulatory T cells in human tumor models. *Cancer Res*, 2021, 81(11): 2983-2994
- [53] Villarreal DO, L'Huillier A, Armington S, et al. Targeting CCR8 induces protective antitumor immunity and enhances vaccine-induced responses in colon cancer. *Cancer Res*, 2018, 78(18): 5340-5348
- [54] Kidani Y, Nogami W, Yasumizu Y, et al. CCR8-targeted specific depletion of clonally expanded Treg cells in tumor tissues evokes potent tumor immunity with long-lasting memory. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(7): e2114282119