



## 调节性T细胞与外周免疫耐受： 从发现到精准免疫调控\*

肖腾<sup>1)</sup> 陈梦禹<sup>1)</sup> 易磊<sup>1)</sup> 熊炜<sup>2)</sup> 王芙艳<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup> 中南大学湘雅基础医学院, 长沙 410013;

<sup>2)</sup> 中南大学肿瘤研究所, 国家卫生健康委癌变原理重点实验室和教育部癌变与侵袭原理重点实验室, 长沙 410078)

**摘要** 调节性T细胞 (regulatory T cells, Treg cells) 的发现从根本上重构了传统免疫学框架, 其在维持机体免疫稳态和外周免疫耐受中的作用至关重要。自 Shimon Sakaguchi 首次鉴定出分化簇 (cluster of differentiation, CD) 4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 表型的抑制性T细胞亚群后, Mary E. Brunkow 与 Fred Ramsdell 团队进一步通过对关键转录因子叉头蛋白P3 (forkhead box protein P3, Foxp3) 的鉴定与功能解析, 明确了Treg细胞发挥免疫调控作用的分子机制。Treg细胞通过多种途径调控免疫功能, 主要包括分泌抑制性细胞因子、代谢调控、介导细胞表面分子间的相互作用。此外, 组织驻留型Treg细胞在促进组织修复和维持局部微环境稳态方面具有非经典作用。近年来, 基于Treg细胞的免疫治疗策略已成为自身免疫性疾病、移植排斥反应及肿瘤免疫治疗领域的研究热点。本文系统梳理了Treg细胞的起源、发育分化调控、核心功能机制及在重大疾病中的作用机制, 在总结当前Treg细胞疗法的现状、技术瓶颈与挑战的基础上, 进一步提出了优化策略与发展方向, 为未来精准免疫治疗的研究与临床转化提供理论基础。

**关键词** 调节性T细胞, 外周免疫耐受, 免疫稳态, 自身免疫性疾病, CAR-Treg疗法

中图分类号 R392

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0460

CSTR: 32369.14.pibb.20250460

免疫系统作为机体抵御外界病原体入侵的核心防御体系, 其核心任务是识别并清除细菌、病毒和寄生虫等外来入侵者, 同时严格规避对自身组织成分的攻击, 以维持机体生理功能的稳定。这种防止对免疫系统自身成分产生病理性免疫反应的保护机制称为免疫耐受, 其中中枢耐受和外周耐受是维持免疫耐受的两种关键互补机制, 共同构成了维持免疫耐受的核心网络。免疫耐受的第一道防线是中枢耐受, 它发生在中枢免疫器官胸腺和骨髓中: 在胸腺中, 未成熟T细胞通过阴性选择过程接受严格筛选, 当T细胞表面的T细胞受体 (T cell receptor, TCR) 与胸腺基质细胞表面呈现的自身抗原肽发生高亲和力结合时, 该T细胞会被诱导发生凋亡, 从而被清除或实现功能重编程。在骨髓中, 未成熟B细胞同样通过类似的阴性选择机制, 清除对自身抗原具有高亲和力的细胞克隆。中枢免疫耐受从源头大幅减少了自身反应性淋巴细胞的产生, 是免疫耐受建立的基础<sup>[1]</sup>。然而中枢耐受机制并非完美无

缺, 仍然有部分自身反应性淋巴细胞得以逃逸并进入外周循环系统<sup>[2]</sup>。因此, 机体必然还会依赖外周免疫耐受机制作为补充防线, 避免自身免疫性疾病的出现。

长期以来, 外周免疫耐受的核心机制作为免疫学领域的研究难点一直困扰着研究人员。直到20世纪80~90年代, Sakaguchi等<sup>[3]</sup>通过一系列开创性实验, 为这一领域带来了突破性认知。他们首次从外周免疫器官中鉴定出一类具有特异性免疫抑制功能的淋巴细胞亚型, 并将其正式命名为调节性T细胞 (regulatory T cell, Treg cell)。2001年, Bennett等<sup>[4]</sup>在研究免疫失调-多内分泌腺病-肠病-X连锁综合征 (immune dysregulation- polyendocrinopathy-enteropathy-X-linked syndrome,

\* 湖南省自然科学基金 (2025JJ50711) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 18153880528, E-mail: wfy4010@csu.edu.cn

收稿日期: 2025-10-26, 接受日期: 2025-12-04

IPEX syndrome) 的致病机制时取得了重大突破：他们证实该病的致病基因是一种新型的叉头盒蛋白P3 (Forkhead box protein P3, Foxp3) 基因。后来的研究发现，Foxp3是Treg细胞发育的关键调节因子，在保持谱系稳定性和免疫抑制调控中发挥重要作用。

2025年诺贝尔生理学或医学奖授予了Mary E. Brunkow、Fred Ramsdell和Shimon Sakaguchi，以表彰他们在外周免疫耐受机制研究中的开创性贡献。他们的工作不仅确立了Treg在维持外周耐受中的核心地位，也奠定了现代免疫调节研究的基石。如今，Treg已被证实在多种生理与病理过程中发挥关键作用，涵盖自身免疫病、器官移植、肿瘤免疫逃逸、感染控制及组织稳态维持等多个领域。其通过多种机制抑制过度免疫反应，防止免疫系统攻击自身或引发慢性炎症。本文将系统地阐述外周

免疫耐受的基本机制，以及Treg细胞的生物学特性和功能调节网络及其在主要疾病中的作用，并全面回顾基于Treg的治疗研究的最新进展及其未来的挑战。

## 1 外周免疫耐受的历史渊源

免疫系统通过一种称为外周免疫耐受的机制，来防止成熟淋巴细胞在离开中枢免疫器官后，对自身组织抗原产生异常免疫应答。这一精密调控的复杂网络对于预防自身免疫性疾病 (autoimmune disease, AD) 及维持免疫稳态至关重要。外周免疫耐受的研究最早可追溯至20世纪中叶。通过一系列里程碑式的发现 (图1)，对外周免疫耐受机制的理解不断深化，最终形成了当今所掌握的完整理论框架。

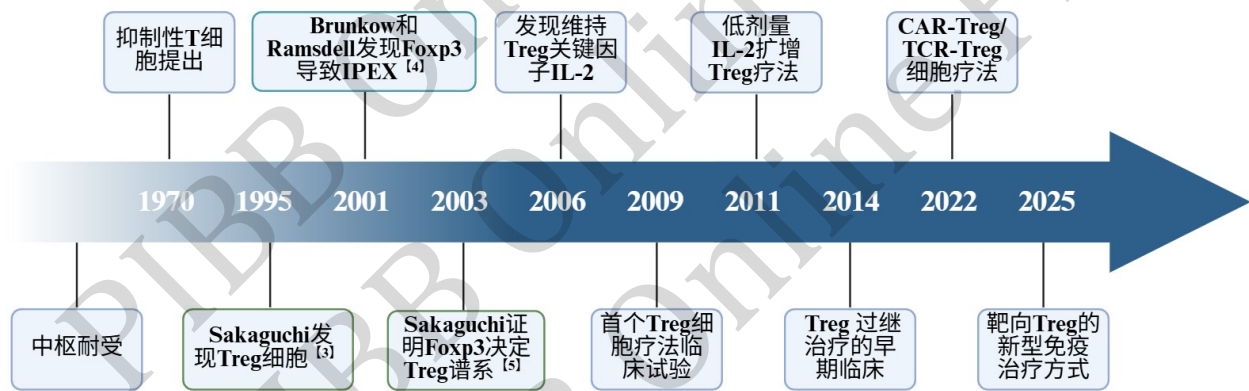


Fig.1 The history and clinical applications of Treg cells and peripheral immune tolerance

图1 Treg细胞和外周免疫耐受的历史与临床应用 ( <https://BioRender.com> )

CAR-Treg: 嵌合抗原受体调节性T细胞 (chimeric antigen receptor regulatory T cells), TCR-Treg: T细胞受体调节性T细胞 (T-cell receptor regulatory T cells), Foxp3: 叉头框蛋白P3 (forkhead box P3), IL-2: 白介素-2 (interleukin-2), IPEX: 免疫失调-多内分泌腺病-肠病-X连锁综合征 (immune dysregulation-polyendocrinopathy-enteropathy-X-linked syndrome)。

### 1.1 获得性免疫耐受的提出

Owen<sup>[5]</sup>在1945年观察双卵双胞胎小牛后首次提出免疫耐受。他发现这些共享胎盘血液循环的小牛成年后不会对彼此的红细胞产生免疫排斥反应。这项研究意味着在免疫系统发育过程中早期接触同种异体抗原可诱导耐受性。这一观察为进一步的实验研究奠定了基础。

1953年，Billingham等<sup>[6]</sup>通过实验证实了获

得性免疫耐受理论。他们将异体细胞注射到新生小鼠体内，发现这些小鼠成年后能够接收来自同一供体的皮肤移植，而不会产生排斥。这项开创性的研究表明，免疫耐受不是一种内在特征，而是在个体发育过程中建立的一种获得性状态。这些早期研究的主要焦点是在中枢免疫器官中产生中枢耐受性，即在淋巴细胞发育和成熟过程中去除对自身抗原具有高亲和力的细胞。

## 1.2 外周耐受机制的探索

然而, 中枢耐受机制并不是万无一失的, 存在一种外周耐受机制能够清除逃逸到外周的自身反应性淋巴细胞。

克隆无能是外周耐受的关键机制, 该概念最初由 Nossal 等<sup>[7]</sup> 在 B 淋巴细胞中提出。Jenkins 等<sup>[8]</sup> 后来发现了 T 细胞中的类似现象。他们发现 T 细胞活化需要两条信号通路。第一个信号是当 TCR 识别抗原时产生的, 第二个信号是来自抗原呈递细胞 (antigen-presenting cell, APC) 表面的共刺激分子。若 T 细胞仅接收第一信号而缺乏共刺激信号, 不仅无法激活, 反而会进入长期失活状态。这一发现从分子层面阐释了外周 T 细胞如何对自身抗原保持沉默。

除了克隆无能以外, 机体还能诱导自身反应性淋巴细胞发生凋亡从而达到外周耐受。这一过程主要通过活化诱导的细胞死亡来实现。当 T 细胞被持续或反复地暴露于高浓度的自身抗原时, 它们会高水平表达死亡受体 (Fas) 及其配体 (FasL)。FasL 与 Fas 的结合会启动细胞内的胱天蛋白酶 (cysteine aspartic acid specific protease, caspase) 级联反应, 最终导致细胞凋亡。这个机制不仅用于清除外周的自身反应性细胞, 也是在正常免疫应答结束后, 清除大量扩增的效应 T 细胞、恢复免疫系统稳态的重要方式。

尽管克隆无能与清除机制共同构建起外周耐受的重要防线, 它们仍不足以应对所有潜在风险。Treg 细胞的发现与深入研究, 正是理解外周耐受全貌的关键转折。

## 1.3 Treg 细胞的发现

尽管克隆无能等机制部分解释了外周耐受, 但当时人们坚定地认为免疫系统必然还存在一种更为主动的抑制方式。20 世纪 90 年代, 日本免疫学家 Sakaguchi 等<sup>[3]</sup> 的研究颠覆了学界认知。

在 20 世纪 80~90 年代, Shimon Sakaguchi 就开始了 Treg 细胞的研究。他最初主要想研究胸腺在 T 细胞发育过程中的作用, 通过手术将从刚出生小鼠体内移除胸腺, 原本以为这些小鼠会表现虚弱, 并只能产生少量 T 细胞, 结果却发现这些小鼠的免疫系统表现出过度活跃且失控, 小鼠随后出现了一系列自身免疫疾病。为了弄清楚其中的原因, Sakaguchi 等<sup>[3]</sup> 从与上述遗传背景相同的正常小鼠身上提取成熟的 T 细胞, 注射到移除胸腺的小鼠体内, 这些患病小鼠随后恢复了健康。他们推测来自

健康小鼠的 T 细胞中可能存在某些特殊类型的 T 细胞, 能够起到免疫抑制的功能。经过十余年的不懈努力, Sakaguchi 等<sup>[3]</sup> 于 1995 年首次鉴定出了一类特殊的 T 细胞亚群, 即 Treg。这类细胞表面表达分化簇 (cluster of differentiation, CD) 4 和 CD25 分子, 能够有效抑制其他免疫细胞的活化, 从而防止自身免疫病的发生。Sakaguchi 等<sup>[3]</sup> 将同时携带 CD4 和 CD25 受体分子的 T 细胞注射到 AD 小鼠的体内时, 患病小鼠可恢复健康, 而只注射携带 CD4 受体分子的 T 细胞时, 这些患病小鼠病情无缓解, 因此 Sakaguchi 等<sup>[3]</sup> 得出结论, 认为同时携带 CD4 和 CD25 受体分子的 Treg 是抑制小鼠 AD 发生的关键成分。

## 1.4 Foxp3 的发现

虽然 Shimon Sakaguchi 的发现开创了一个新的研究领域, 但当时并不为人所重视。直到 21 世纪初, Mary E. Brunkow 和 Fred Ramsdell 的研究才揭示了 Treg 背后的遗传开关。他们通过对一种名为 Scurfy 的突变小鼠进行研究, 发现这些小鼠因严重的免疫失调而早夭。Brunkow 等<sup>[9]</sup> 将这一突变基因定位到了 X 染色体上一个名为 Foxp3 的转录因子。Shimon Sakaguchi 注意到该项关于 Foxp3 的研究, 认为 Treg 细胞的形成与 Foxp3 基因密切相关。经过一年多的工作, Fontenot 等<sup>[10]</sup> 证实, Foxp3 基因是 Treg 细胞形成的关键调节基因。Foxp3 基因突变将导致携带 CD4 和 CD25 受体分子的 Treg 细胞发育受损或缺陷, 这将损害外周免疫耐受性, 并在人类中产生 IPEX 综合征。随后, 越来越多的研究证实了 Foxp3 基因与 Treg 细胞之间的关联。随着 Foxp3 的发现, Treg 细胞的鉴定从表型水平提高到分子遗传学水平, 为 Treg 的研究和使用提供了强有力的理论基础。

## 2 Treg 细胞的生物学特性

Treg 作为一类高度特化的免疫细胞亚群, 其核心功能在于维持免疫稳态和介导外周耐受。它们通过独特的表型、明确的发育路径以及高度的可塑性来适应不同的生理和病理环境。

### 2.1 Treg 细胞的起源与分化

Treg 细胞的发育来源于胸腺和外周淋巴组织, 据此可分为胸腺来源的 Treg (thymus-derived Treg, tTreg) 和外周来源的 Treg (peripheral Treg, pTreg) (图 2)<sup>[11]</sup>。Thornton 等<sup>[12]</sup> 发现, 转录因子 Helios 在 tTreg 中富集并建议将其用于区分 tTreg 与

pTreg。随后的研究很快发现，Helios在T细胞活化和增殖时也会被诱导，提示其并非专一的发育来源标志<sup>[13]</sup>。此外，强诱导条件、不同抗体克隆、流式门控策略、物种与取样组织差异都会导致Helios表达被误判为胸腺来源<sup>[14]</sup>。直接的TCR谱系和功能研究也显示Helios高低并不能一一对应tTreg、

pTreg两类克隆，如在炎症或肿瘤微环境中，原本被认为是tTreg的亚群也可能丧失或下调Helios表达，反之外周诱导的Treg在某些条件下可上调Helios<sup>[15]</sup>。因此当前证据更支持把Helios视为反映Treg稳定性状态的标志之一，而非单独判定来源的金标准。

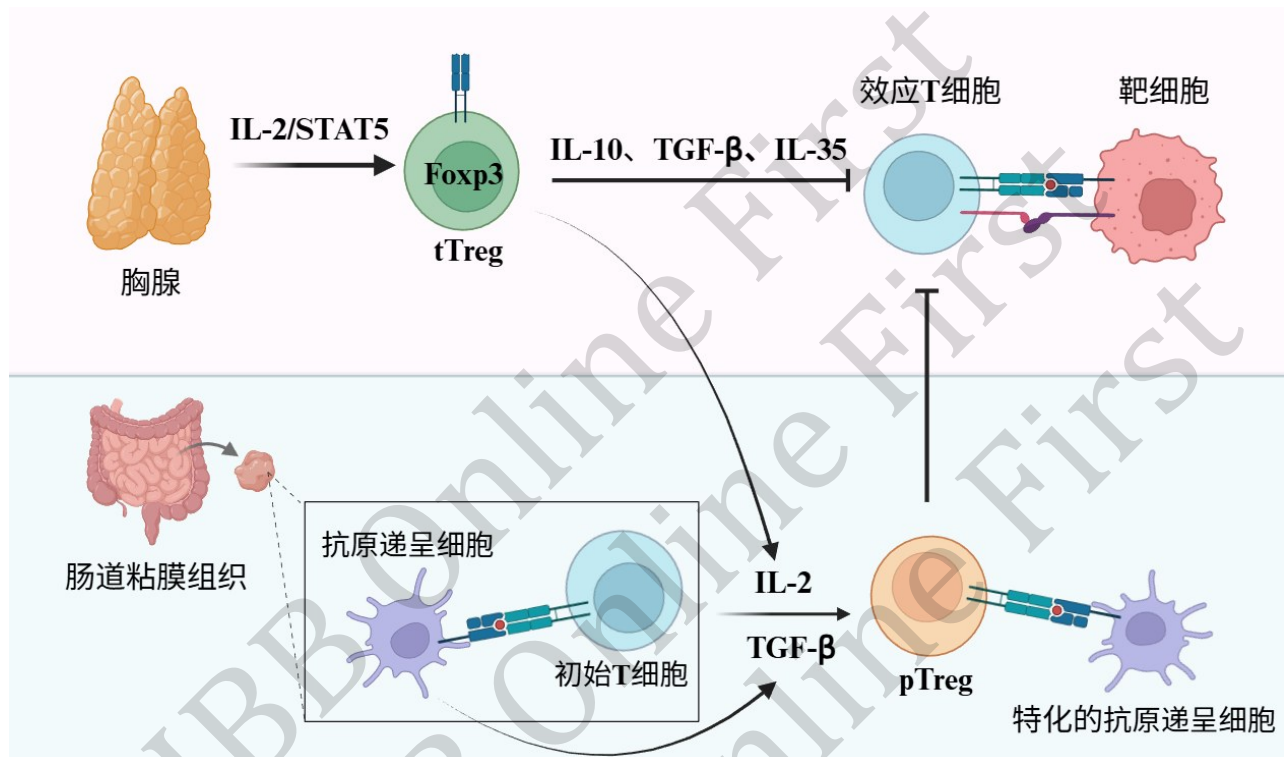


Fig.2 Treg cells are divided into thymus-derived and peripheral-derived types

图2 Treg细胞分为胸腺来源和外周来源

胸腺中，IL-2/STAT5信号通路通过Foxp3诱导tTreg细胞的产生。在肠道黏膜等外周组织中，APC与初始T细胞相互作用，通过IL-2和TGF-β诱导pTreg细胞的产生。IL：白介素（interleukin），STAT5：信号转导与转录激活因子5（signal transducer and activator of transcription 5），TGF-β：转化生长因子-β（transforming growth factor-beta），Foxp3：叉头框蛋白P3（forkhead box protein P3），tTreg：胸腺来源调节性T细胞（thymic regulatory T cells），pTreg：外周诱导调节性T细胞（peripheral regulatory T cells）。(https://BioRender.com)

tTreg细胞在胸腺内由CD4<sup>+</sup>胸腺细胞分化而来，这一过程对建立中枢免疫耐受至关重要<sup>[16]</sup>。TCR对自身抗原的高亲和力信号是促使胸腺细胞进入Treg分化通路的关键决定因素。除了TCR信号转导之外，共刺激分子CD28和细胞因子，如白介素（interleukin, IL）-2对诱导Foxp3表达及产生tTreg不可或缺<sup>[17]</sup>。环指蛋白213能够特异性地促进CD4<sup>+</sup>T细胞向Treg细胞分化，并以叉头框蛋白O1（forkhead box protein O1, FOXO1）依赖的方式减弱自身免疫性疾病的进展。机制上，环指蛋白213与FOXO1相互作用，并通过K63连接的泛素

化促进FOXO1的核转位。值得注意的是，CD4<sup>+</sup>T细胞中的环指蛋白213表达可被β干扰素（interferon-β, IFN-β）诱导，并在IFN-β治疗多发性硬化（multiple sclerosis, MS）的疗效中发挥关键作用<sup>[18]</sup>。pTreg细胞在胸腺外的周围淋巴器官中由初始CD4<sup>+</sup>T细胞遭遇特异性抗原后分化而来。pTreg分化的诱导通常发生在肠道等黏膜组织中，对于建立共生微生物群和食物抗原等非自身但无害抗原的耐受至关重要<sup>[19]</sup>。转化生长因子-β（transforming growth factor-β, TGF-β）是诱导外周初始T细胞表达Foxp3并分化为pTreg的关键细胞

因子<sup>[20]</sup>。转录因子Klf2对于pTreg细胞的转化至关重要, 缺失Klf2会阻断pTreg的诱导产生, 但一旦Foxp3表达稳定, 维持已形成的pTreg不需要Klf2。利用该小鼠模型, 消除pTreg足以延缓肿瘤恶性进展, 且不会引起自身免疫<sup>[21]</sup>。除此之外, 若是在体外培养条件下, 将常规CD4<sup>+</sup>T细胞在特定细胞因子如TGF- $\beta$ 和IL-2等存在的环境中, 通过抗原刺激诱导产生的Treg细胞, 称之为诱导性Treg细胞(induced Treg, iTreg)。将外源性iTreg局部递送至小鼠受损的骨骼、肌肉和皮肤可显著增强组织愈合。从机制上讲, 外源性iTreg会响应受损的组织微环境, 迅速呈现损伤特异性表型, 上调参与免疫调节和组织愈合的基因<sup>[22]</sup>。

Treg细胞的分化受到Foxp3基因座内多个保守非编码序列(conserved non-coding sequence, CNS) 0~3和启动子元件的严格调控(图3)。研究表明, 这些保守的非编码序列富含未甲基化的CpG位点, 表明它们为调节Foxp3基因表达的转录因子提供了结合位点<sup>[23]</sup>。位于Foxp3转录起始位点上游的CNS0受到CpG甲基化状态和组蛋白修饰共同调控, 在tTreg细胞发育和pTreg细胞维持中均发挥作用<sup>[24]</sup>。CNS0可与特殊富含AT序列结合蛋

白1(special AT-rich sequence binding protein 1, SATB1)结合, 并在Treg特异性去甲基化区域内发生去甲基化, 其中SATB1的表达早于Foxp3<sup>[25]</sup>。此外, CNS0与混合谱系白血病4(mixed lineage leukemia 4, MLL4)、含溴结构域蛋白9(bromodomain-containing protein 9, BRD9)和信号转导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT) 5等调控因子相互作用<sup>[26-28]</sup>。其缺失会损害TCR和IL-2/STAT5诱导的Foxp3表达, 并阻碍iTreg的产生<sup>[29]</sup>。CNS1位于Foxp3基因的第一内含子内, 虽非tTreg分化所必需, 但对TGF $\beta$ 诱导的Foxp3表达及pTreg发育至关重要<sup>[30]</sup>。CNS2同样位于第一内含子, 是调控Treg谱系分化及稳定Foxp3表达的关键元件。高水平Foxp3表达的维持依赖于强TCR信号激活NFAT与CNS2结合, 从而增强CNS2-Foxp3启动子间的相互作用。CNS3位于第二个内含子内, 对诱导胸腺中Foxp3表达至关重要, 但其维持成熟Treg功能的作用有限<sup>[31]</sup>。该元件通过允许低亲和力TCR受体的Treg细胞发育, 从而拓宽Treg细胞的TCR受体谱系。

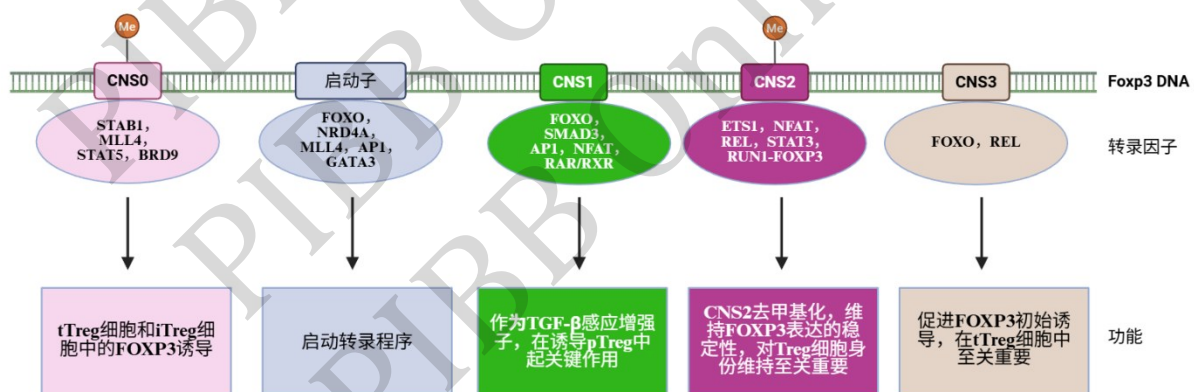


Fig.3 Multiple conserved non coding sequences ( CNS0~3 ) and promoter elements within the Foxp3 locus

图3 Foxp3基因座内多个保守非编码序列 ( CNS0~3 ) 和启动子元件

显示了Foxp3基因座的调控区域, 包括启动子CNS1、CNS2、CNS3和最近发现的CNS0。显示了与每个调节区域结合的转录因子以及每个调节区域的功能。CNS: 保守非编码序列(conserved non-coding sequence), Foxp3DNA: Foxp3基因DNA(Foxp3 gene DNA), FOXO: 叉头盒O蛋白(forkhead box O), STAB1: 稳定蛋白(stability protein), NR4A: 核受体亚家族4A(nuclear receptor subfamily 4 group A), ETS1: E26转录因子1(E26 transformation-specific 1), NFAT: 活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells), MLL4: 混合谱系白血病蛋白4(mixed lineage leukemia 4), SMAD3: Smad家族蛋白3(smud family member 3), AP1: 激活蛋白1(activator protein 1), REL: Rel原癌基因(Rel proto-oncogene), STAT: 信号转导与转录激活因子(signal transducer and activator of transcription), BRD9: 溴结构域蛋白9(bromodomain-containing protein 9), GATA3: GATA结合蛋白3(GATA binding protein 3), RAR: 视黄酸受体(retinoic acid receptor), RXR: 视黄酸X受体(retinoid X receptor), RUNX1: Runt相关转录因子1(Runt-related transcription factor 1), FOXP3: 叉头框蛋白P3(forkhead box P3), tTreg: 胸腺来源调节性T细胞(thymic regulatory T cells), iTreg: 诱导型调节性T细胞(induced regulatory T cells), pTreg: 外周诱导调节性T细胞(peripheral regulatory T cells)。(https://BioRender.com)

## 2.2 Treg细胞的鉴定与标志

因为大多数 Treg 细胞属于 CD4<sup>+</sup> T 细胞群体，所以 Treg 细胞的鉴定通常以 CD4 分子为准。基于

此，一系列更具特异性的标记物被用于区分 Treg 细胞与其他 T 细胞类型（表1）。

Table 1 Identification markers of Treg cells

表1 Treg细胞鉴定的标志分子

标志物	表达方向	用途	参考文献
CD25	高表达	最早用于鉴定Treg，单独使用特异性差，常与CD127联合用于分选	[32]
Foxp3	核内高表达	Treg发育与功能的核心转录因子，IPEX突变确证其特异性，需固定透膜检测	[4]
CD127	低/缺失	与Foxp3负相关，CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD127 <sup>low/-</sup> 常用于活细胞分选	[33]
CTLA-4 (CD152)	组成性高表达	抑制性受体，通过与APC上CD80/CD86结合发挥抑制功能	[34]
GITR	高表达	在胸腺Treg和外周Treg中高表达；与活化和功能相关	[35]
TNFR2	高表达于抑制能力强的亚群	在高抑制性亚群富集，TNF- $\alpha$ 信号促进Treg扩增与稳定	[36]
CD39 / CD73	高表达	参与ATP $\rightarrow$ 腺苷代谢通路，标志功能型Treg	[37]
ICOS	高表达	组织驻留与IL-10产生相关，活化型/组织型Treg标志	[38]
PD-1	可高表达	在组织驻留或耗竭型Treg中表达，检查点研究常分析	[39]
Helios	常在tTreg中高表达（争议）	tTreg稳定性或发育标志，但在人类中可被活化诱导，存在争议	[40]
Neuropilin-1	小鼠tTreg特异（人类存在差异）	区分tTreg与iTreg的小鼠标志，在人类中并非特异，存在物种差异	[41]

最早被发现的 Treg 细胞标志物之一是 CD25，它是 IL-2 受体的亲和力  $\alpha$  链。根据初步研究，表达 CD25 的 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群具有抑制 AD 的能力<sup>[3]</sup>。Foxp3 是一种关键的转录因子，被认为在 Treg 细胞的生长和功能中起着重要作用。研究表明，人类 Foxp3 基因突变可能导致 IPEX<sup>[4]</sup>。这一发现确立了 Foxp3 作为 Treg 细胞特异性标志物的地位。由于 Foxp3 是一种核内蛋白质，需要对细胞进行固定和破核膜处理才能进行染色检测，这限制了其在活细胞分选中的应用<sup>[42]</sup>。IL-7 的受体  $\alpha$  链 CD127 在效应 T 细胞上大量表达，并在 Treg 细胞上显著下调。研究发现，CD127 是一种非常有用的阴性筛选标记，因为其低表达或缺失与 Foxp3 的高表达呈负相关<sup>[43]</sup>。因此，“CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low/-</sup>”组合标记经常用于选择高纯度的活 Treg 细胞，以防止 Foxp3 鉴定引起的细胞死亡。

除上述基本指标外，许多其他分子对于各种 Treg 细胞亚群的识别、维持和分化至关重要。Treg 细胞组成性表达抑制性受体细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 -4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4, CTLA-4)。它通过与 APC 上的 CD80/CD86 结合，竞争性地抑制效应 T 细胞的活化。CTLA-4 对于维持免疫稳态和 Treg 细胞介导的抑制作用至关重要。研究表明，CTLA-4 在 Treg 细胞和常规 T 细胞中均发挥作用，以共同预防多器官自身免疫<sup>[44]</sup>。糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (glucocorticoid-

induced tumor necrosis factor receptor, GITR) 在 Treg 细胞上高表达，并且在 tTreg 细胞的分化以及 pTreg 细胞的扩增中起着关键作用。GITR 的表达与 Treg 细胞的活化状态和抑制功能相关，使其成为鉴定功能性 Treg 细胞的一个重要标志物<sup>[45]</sup>。肿瘤坏死因子受体 2 (tumor necrosis factor receptor 2, TNFR2) 在 Treg 细胞抑制作用最强的亚群上高度富集<sup>[36]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 通过与 Treg 细胞上的 TNFR2 结合，特别是在肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 中，TNF- $\alpha$  可以增强 Treg 细胞的生长和功能稳定性<sup>[46]</sup>。因此，TNFR2 被认为是 Treg 细胞的一个关键标志物。除此之外，还有许多其他分子也被用于 Treg 细胞的鉴定和功能研究，包括诱导型 T 细胞共刺激分子 (inducible T-cell costimulator, ICOS)、程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1)、CD39 和 CD73 等。这些标志物的表达往往与 Treg 细胞的活化状态、组织定位和特定的抑制机制相关。

Treg 细胞的鉴定面临的主要挑战在于许多标志物并非 Treg 细胞所独有，活化的效应 T 细胞也可能表达这些分子，如 CD25 和 GITR<sup>[35]</sup>。因此，在鉴定 Treg 细胞时，通常需要联合使用多个标志物，并结合功能性实验来进行综合判断。例如使用一种靶向人 CD25 和 T 细胞免疫受体酪氨酸抑制基序 (T cell immunoreceptor with immunoglobulin and

ITIM domains, TIGIT) 的双特异性抗体 NSWh7216, 该抗体在体外能优先清除 CD25<sup>+</sup>TIGIT<sup>+</sup>双阳性细胞, 而非单阳性细胞。与亲代单药疗法相比, NSWh7216在CD25人源化小鼠中表现出更强的抗肿瘤活性, 且未出现 pTreg 细胞毒性<sup>[47]</sup>。

### 2.3 Treg细胞的异质性与组织适应性

Treg细胞的遗传多样性和功能可塑性对于保持免疫稳态至关重要。Treg细胞通过高度特化的发育程序来精确调节各种免疫反应, 并且它们的转录调控网络经常与它们抑制的某些T细胞亚群相关联。由于这种适应性分化机制, Treg细胞能够特异性地迁移到特定的炎症环境<sup>[48]</sup>。例如, IFN- $\gamma$ 信号在I型免疫反应期间触发STAT1, 从而诱导Treg细胞中谱系定义转录因子T-box转录因子(T-box expressed in T cells, T-bet)的表达。通过控制趋化因子受体C-X-C趋化因子受体3(C-X-C chemokine receptor type 3, CXCR3), T-bet表达不仅提供了抑制辅助性T细胞1(T helper cell, Th1)的能力, 而且还引导Treg细胞精确地移动到Th1主导的炎症区域<sup>[49]</sup>。类似的, 表达GATA结合蛋白3(GATA binding protein 3, GATA3)、RAR相关孤儿受体 $\gamma$ t(RAR-related orphan receptor gamma t, ROR $\gamma$ t)和B细胞淋巴瘤6(B-cell lymphoma 6, Bcl6)的Treg细胞亚群分别浸润于Th2、Th17和生发中心, 以控制相应的免疫反应<sup>[50-53]</sup>。

皮肤、骨骼肌、内脏脂肪组织和中枢神经系统是最近发现含有不同组织驻留Treg细胞(tissue-resident Treg, TR-Treg)群体的非淋巴组织之一。这些细胞具有不同的T细胞受体组合和遗传改变, 除了经典的IL-2信号转导途径之外, 组织特异性微环境信号还控制其存活和活性<sup>[54]</sup>。TR-Treg细胞和循环Treg细胞具有不同的TCR库, 并且每个淋巴结都包含独特的驻留Treg细胞克隆亚群<sup>[55]</sup>。转录因子如基本亮氨酸拉链转录因子ATF样蛋白(basic leucine zipper ATF-like transcription factor, BATF)和干扰素调节因子4(interferon regulatory factor 4, IRF4)共同激活组织中特定重要分子的表达, 例如IL-1受体ST2, 其可直接影响TR-Treg细胞的组织适应性<sup>[56]</sup>。重要的是, TR-Treg细胞已进化出超越免疫抑制的非传统功能, 能够直接参与组织功能和修复。例如, 在内脏脂肪组织中, 表达ST2的Treg细胞可以检测到脂肪细胞产生的IL-33信号。这些信号与TCR信号协同工作, 以激活转

录网络, 包括GATA3, 控制全身胰岛素敏感性和局部脂质代谢<sup>[57-58]</sup>。骨骼肌Treg细胞分泌的两性霉素直接与肌肉干细胞表面的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)相互作用, 促进其增殖和分化, 加速肌肉再生<sup>[59]</sup>。此外, T细胞上白介素6受体 $\alpha$ (interleukin-6 receptor alpha, IL6R $\alpha$ )信号通路在调控Treg细胞与肌肉细胞相互作用, 从而控制肌肉功能和再生方面发挥的关键作用<sup>[60]</sup>。皮肤中的Treg细胞则分布于毛囊干细胞, 通过调控局部炎症因子, 如抑制CXCL5-IL-17轴来调控毛囊干细胞的分化方向, 从而实现免疫监视与毛发再生周期以及屏障修复<sup>[61-62]</sup>。这些发现极大地拓展了对Treg细胞生物学功能的认知, 表明它们不仅是免疫系统的调节者, 也是组织稳态和修复过程的重要参与者。

## 3 Treg细胞多样化的免疫抑制机制

Treg细胞的抑制作用是由一个复杂且协调良好的调控网络介导的, 该网络由多个过程而不是单一途径组成。这些过程可以大致分为3类: 细胞表面分子介导的抑制、抑制性分子分泌和细胞代谢调节(图4)。为了保证准确有效地调节免疫反应, 这些系统可以单独运行, 也常常在特定的微环境中协同作用, 以确保对免疫反应进行精确而有效的控制。

### 3.1 分泌抑制性分子

Treg细胞能够分泌多种抑制分子, 这些分子作用于免疫微环境中的多种细胞, 从而抑制炎症反应。

IL-10是一种强效的抗炎细胞因子。由Treg细胞分泌的IL-10直接作用于效应T细胞, 抑制其增殖和细胞因子产生。值得注意的是, IL-10还能作用于APC, 通过激活其Janus激酶1(Janus kinase 1, JAK1)和酪氨酸激酶2(tyrosine kinase 2, TYK2), 引发STAT3的磷酸化与激活。活化的STAT3二聚体转运至细胞核, 刺激一系列靶基因的表达, 如E3泛素连接酶膜相关环指蛋白1(membrane-associated RING-CH1, MARCH1), 该酶介导主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-II类分子及CD86等共刺激分子的内吞作用与降解, 显著削弱APC激活T细胞的能力<sup>[63]</sup>。TGF- $\beta$ 是Treg分泌的另一重要细胞因子。Treg不仅分泌可溶性TGF- $\beta$ , 还将其表达于细胞膜表面。膜结合型TGF- $\beta$ 通过细胞间接触直接抑制邻近效应T细胞的活化和增殖。

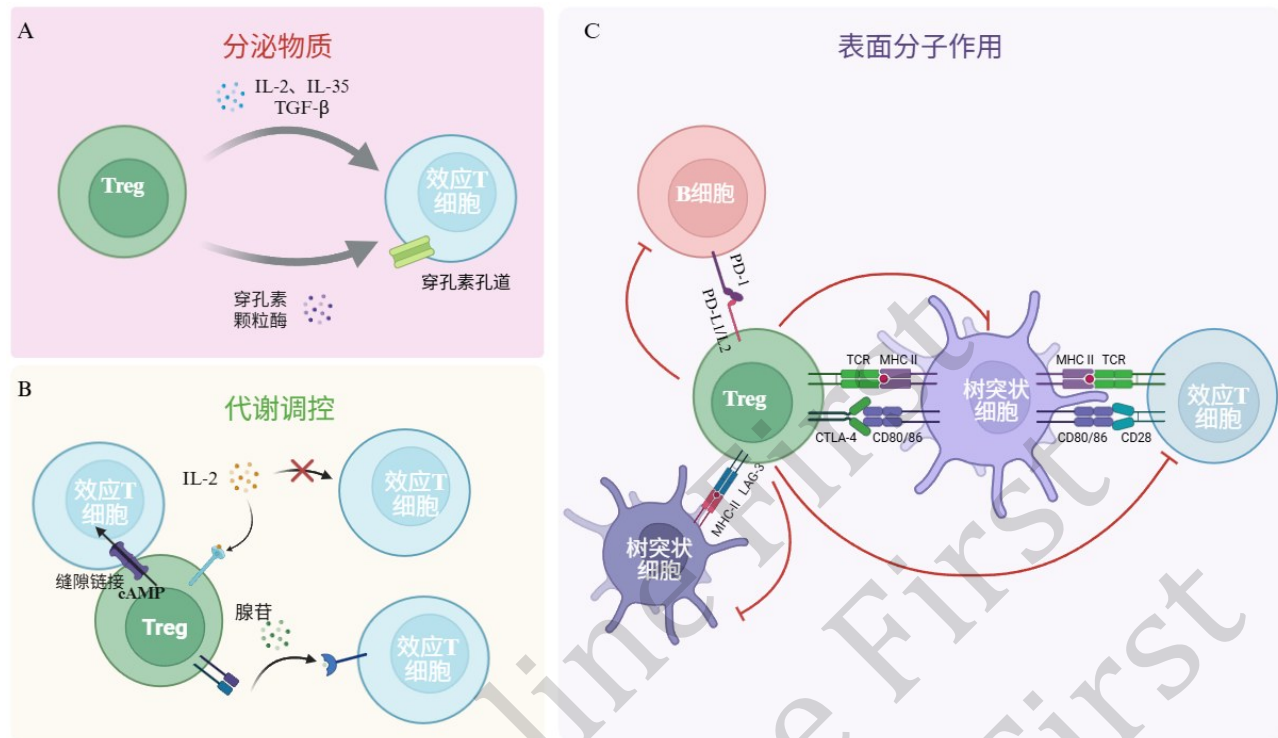


Fig.4 Treg cells maintain peripheral immune tolerance through multi-level mechanisms

图4 Treg细胞通过多层次机制维持外周免疫耐受

(a) Treg细胞可分泌抑制性细胞因子(如IL-10、IL-35、TGF- $\beta$ )或释放穿孔素和颗粒酶直接抑制效应T细胞;(b) Treg通过竞争性摄取IL-2、调节腺苷代谢及经缝隙连接转移cAMP等代谢途径,改变局部免疫微环境并限制效应T细胞功能;(c) 依赖CTLA-4、PD-1/PD-L1、LAG-3等表面分子与树突状细胞或B细胞发生接触,降低其共刺激与抗原呈递能力,从而间接抑制效应T细胞活化。IL: 白介素(interleukin), TGF- $\beta$ : 转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor-beta), Treg: 调节性T细胞(regulatory T cells), PD-1: 程序性死亡受体-1(programmed cell death-1), TCR: T细胞受体(T-cell receptor), MHCII: 主要组织相容性复合体II类分子(major histocompatibility complex class II), CTLA-4: 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4), CD: 分化簇(cluster of differentiation), cAMP: 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate)。(https://BioRender.com)

而可溶性TGF- $\beta$ 通过与T细胞等免疫细胞表面的TGF- $\beta$ I型和II型受体结合,激活经典SMAD信号通路,抑制相关免疫细胞的作用。此外,在Treg细胞中,磷酸化后的SMAD2/3与SMAD4形成复合物还可转运至细胞核,直接结合Foxp3基因的CNS1区域,这一过程是外周初始CD4<sup>+</sup>T细胞分化为pTreg的关键事件<sup>[64]</sup>。

IL-35是由EB病毒诱导蛋白3(Epstein-Barr virus-induced gene 3 protein, EBV3)和IL-12p35亚基组成的异二聚体细胞因子,其通过与T细胞表面的IL-12R $\beta$ 2和gp130组成的异二聚体受体结合,激活一个独特的STAT1/STAT4信号转导通路<sup>[65]</sup>。与IL-10和TGF- $\beta$ 不同,IL-35主要通过作用于其他T细胞,诱导其转化为具有抑制功能的Treg细胞(称为iTr35细胞),这些iTr35细胞自身也能够高效分泌IL-35,但不依赖于Foxp3的表达,从而将抑

制信号传递给周围的其他T细胞,极大地放大了初始的免疫抑制效应<sup>[66]</sup>。此外,Treg细胞还能分泌颗粒酶B和穿孔素,通过释放这些细胞毒性颗粒,直接杀伤效应T细胞、B细胞甚至APC,从而快速清除免疫反应中的关键参与者<sup>[67]</sup>,颗粒酶B对肿瘤的转移也至关重要<sup>[68]</sup>。

### 3.2 细胞表面分子作用

Treg细胞通过其表面表达的抑制性受体,基于细胞间通讯机制直接调控靶细胞。CTLA-4是Treg细胞中最关键的抑制性分子之一,它通过共刺激分子CD80/CD86与APC结合,其亲和力远高于效应T细胞上的激活受体CD28<sup>[69]</sup>。通过这种竞争性结合,CTLA-4有效阻断了效应T细胞存活和激活所必需的第二信号。更重要的是,Treg细胞上的CTLA-4通过跨胞吞作用清除APC表面的CD80/CD86,被胞吞的CD80/CD86随后被引导至溶酶体



通路进行降解, 从而削弱 APC 呈递抗原的能力<sup>[70]</sup>。淋巴细胞活化基因 3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 是 Treg 细胞表面表达的另一种抑制性受体, 能与 APC 表面的 MHC-II 类分子结合。这种相互作用不仅抑制效应 T 细胞的活化, 还会向 APC 传递抑制信号, 阻碍其功能成熟<sup>[71]</sup>。LAG3 突变改变了与代谢过程相关的基因, 尤其是 Myc 靶基因。在 LAG3 突变的 Treg 细胞中, Myc 的表达水平升高至与传统 Th1 型效应细胞相当的水平, 并且与其代谢特征和体内抑制功能直接相关。在 LAG3 突变型 Treg 细胞中, PI3K-Akt-Rictor 通路被激活, 其通过调节 Myc 依赖的代谢程序来支持 Treg 细胞的抑制功能<sup>[72]</sup>。此外, Treg 细胞还可以抑制自身反应性 B 细胞并抑制它们产生自身抗体, 这种抑制大部分是通过 PD-1 介导的。PD-1 缺乏会增强 STAT5 信号转导, 进而导致 Treg 细胞上 CD30 受体的上调, 从而推动 Treg 细胞功能增加<sup>[73]</sup>。

### 3.3 细胞代谢调控

通过改变免疫微环境的代谢状态, Treg 细胞可以阻止效应 T 细胞发挥其功能。首先, IL-2 是效应 T 细胞增殖分化和存活所需的关键生长因子, Treg 细胞表达由 CD25、CD122 和 CD132 组成的异源三聚体高亲和力 IL-2R, 有效吸收和消耗微环境中极低浓度的 IL-2, 从而抑制效应 T 细胞的功能<sup>[74]</sup>。其次, Treg 细胞通过腺苷代谢通路发挥抑制作用。Treg 细胞表面高表达两种重要的细胞外核苷酸酶 CD39 和 CD73, 这两种酶是其发挥免疫抑制作用的重要分子基础。炎症或 TME 中, 许多受损或死亡细胞会释放 ATP, 作为一种强效促炎分子, ATP 可激活局部炎症反应。但 Treg 细胞通过 CD39 将 ATP 和 ADP 水解为腺苷一磷酸 (adenosine monophosphate, AMP), 随后 CD73 进一步对 AMP 去磷酸化产生腺苷。作为一种强大的免疫抑制代谢物, 腺苷与其靶细胞 (如效应 T 细胞) 表面的腺苷 A2A 受体 (adenosine A2A receptor, A2AR) 结合, 激活下游 G 蛋白偶联的腺苷酸环化酶, 并导致细胞内第二信使环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 急剧升高。cAMP 的大量积累继而激活蛋白激酶 A 信号通路, 最终抑制 TCR 下游的信号转导以及核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T-cells, NFAT) 等关键转录因子的活化, 从而全面抑制效应细胞的增殖、细胞因子

分泌和细胞毒性功能<sup>[75]</sup>。除腺苷代谢通路外, Treg 细胞还可通过细胞间间隙连接对靶细胞发挥代谢控制作用。例如, Treg 细胞借助间隙连接中的通道蛋白将自身细胞内大量 cAMP 直接传递到邻近效应 T 细胞的细胞质中。这种依赖于细胞间直接接触的新型通信模式避免了常规的受体-配体相互作用和可溶性因子分泌, 可快速、精准地传递抑制性第二信使 cAMP, 直接干扰和破坏靶细胞的激活信号级联<sup>[76]</sup>。最近的研究还发现, Treg 细胞的增殖依赖于由葡萄糖或乳酸驱动的脂肪酸合成酶, Treg 细胞的抑制功能依赖于不饱和脂肪酸的合成<sup>[77]</sup>。

细胞中的代谢产物也可反过来调控 Treg 细胞。TME 中乳酸水平升高可增强人 Treg 细胞的增殖、抑制能力和氧化磷酸化。乳酸通过上调  $\alpha$ -1, 3-甘露糖糖蛋白 2- $\beta$ -N-乙酰氨基葡萄糖转移酶转录并促进其向线粒体的转位, 在人 Treg 细胞代谢中发挥积极的调控作用<sup>[78]</sup>。

## 4 Treg 细胞失衡在疾病中的作用

Treg 细胞作为机体维持免疫稳态的核心免疫细胞, 在多种疾病的发生发展中发挥关键调控作用。Treg 细胞的免疫抑制功能失衡, 无论是抑制作用过强还是过弱, 均会诱发相应疾病: 当免疫反应对机体造成损害时 (如 AD、移植排斥反应), Treg 细胞的抑制作用可起到保护机体的积极效果。反之, 当免疫应答具有保护作用时 (如抗肿瘤免疫), Treg 细胞的过度抑制则会削弱免疫应答能力, 对疾病预后产生不利影响。

### 4.1 自身免疫病

AD 是因免疫系统异常活化, 错误攻击自身组织器官, 导致组织损伤和持续性炎症的一类疾病。在这类疾病中, Treg 细胞的免疫抑制功能对遏制异常的免疫炎症反应至关重要。研究表明, Treg 细胞的数量下降或功能障碍与 AD 的发病密切相关。即便 Foxp3 基因未发生突变, 其表达也可能因多重因素而受损: 例如, 在 MS 患者的 Treg 细胞中, PR 结构域蛋白 1 (PR domain 1, PRDM1) 的剪接异构体水平升高会破坏 Foxp3 的稳定性, 从而导致 Treg 细胞功能障碍<sup>[79]</sup>。此外, Foxp3 基因座的表观遗传变化已被证实是影响其表达的关键因素。异常的 DNA 甲基化或组蛋白修饰会直接影响 Foxp3 的持续表达, 破坏 Treg 细胞的谱系稳定性。这种稳定性破坏不仅会削弱 Treg 细胞的免疫抑制功能, 还会促进促炎性 Th1 或 Th17 细胞的分化, 从而加

刷自身免疫攻击<sup>[80-81]</sup>。

在1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)及MS在内的多种AD患者体内,均观察到循环Treg细胞显著降低,或其抑制功能出现明显受损的现象<sup>[82-83]</sup>。例如,SLE患者的Treg细胞在抑制自身反应性T细胞和自身反应性B细胞活化方面存在显著缺陷,这种缺陷与IL-2和TGF- $\beta$ 等关键细胞因子信号的减弱有关<sup>[84]</sup>。此外,抗原呈递细胞(如巨噬细胞、树突状细胞)上肿瘤坏死因子受体超家族成员4配体(OX40L)等分子异常过表达,与Treg细胞上OX40结合,直接抑制Treg细胞活性,并降低Foxp3表达,从而打破机体原有的免疫抑制平衡,加剧自身免疫反应<sup>[85]</sup>。在T1DM的发生发展中,Treg细胞无法有效遏制自身反应性T细胞对胰岛 $\beta$ 细胞的攻击,是导致胰岛 $\beta$ 细胞损伤的重要原因之一。已有研究证明,T1DM患者存在Treg细胞死亡增加、Foxp3表达稳定性降低以及IFN- $\gamma$ 、IL-17等促炎性细胞因子分泌增加的现象<sup>[86]</sup>。此外,微小RNA(microRNA, miRNA)对Treg细胞的功能调控也参与T1DM的发病机制<sup>[87]</sup>,例如,患者hsa-miRNA-320a通过下调IL-10并干扰PI3K-AKT-FOXO1轴,间接削弱Treg的抑制功能<sup>[88]</sup>。

#### 4.2 肿瘤免疫

与AD截然相反,在对抗肿瘤的过程中,强大的免疫应答是清除癌细胞的关键。然而,肿瘤细胞进化出多种机制来逃避免疫系统的监视和攻击,其中之一便是利用Treg细胞来营造一个免疫抑制性的TME。

肿瘤细胞及其周围的基质细胞会分泌多种趋化因子,精准地将Treg细胞招募至肿瘤局部。其中,C-C基序趋化因子22-趋化因子受体4(C-C motif chemokine 22-chemokine receptor 4, CCL22-CCR4)是最经典的招募轴之一。多种实体瘤(如卵巢癌、胃癌)中的肿瘤细胞和肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)高表达CCL22,而肿瘤浸润的Treg细胞则高表达其受体CCR4,介导Treg细胞向肿瘤部位的高效迁移<sup>[89]</sup>。在这种免疫抑制网络中,髓系抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)和TAM可以促进Treg的免疫抑制功能。MDSC通过分泌IL-10、TGF- $\beta$ 、表达精氨酸酶1(arginase-1, Arg-1)/诱导型一氧

化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)/吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)以及产生活性氧类(reactive oxygen species, ROS)和一氧化氮(nitric oxide, NO)等代谢产物直接抑制效应T细胞功能,同时这些分子信号能诱导常规CD4<sup>+</sup>T细胞上调FOXP3并向调节性表型分化<sup>[90]</sup>。此外,某些MDSC亚群通过表达CCR5等受体或分泌相应配体直接招募Treg并通过细胞接触(例如CD40-CD40L)促进其扩增,形成互为促进的抑制回路<sup>[91]</sup>。TAM,尤其是偏向M2样表型的巨噬细胞,通过分泌IL-10、TGF- $\beta$ 、CCL22/CCL18等分子,不仅抑制抗肿瘤的CD8<sup>+</sup>T细胞和树突状细胞功能,还通过化学趋化与促分化因子直接招募并维持Treg。同时,Treg分泌的TGF- $\beta$ 与IL-10又反过来促进TAM向更强抑制性的M2极化并上调表达PD-L1、IDO等抑制分子,二者在代谢与免疫检查点路径上协同放大免疫抑制,从而削弱免疫治疗的有效性<sup>[92]</sup>。

TME通常具有缺氧、低pH和营养物质匮乏的特点。Treg细胞展现出强大的代谢适应性,它们主要依赖脂质氧化而非糖酵解来供能,这使得它们能在与效应T细胞的资源争夺中占据优势<sup>[93]</sup>。在TME中部分Th1型辅助性T细胞在IFN- $\gamma$ 表达后,在TGF- $\beta$ 信号的作用下转化为带有T-bet表型并高表达CD39的Treg细胞,这些Th向Treg细胞的转换对抑制CD8<sup>+</sup>T细胞的抗肿瘤活性至关重要<sup>[94]</sup>。

鉴于Treg在肿瘤免疫逃逸中的关键角色,多种方法正在探索用于抑制或调控肿瘤内Treg,以增强抗肿瘤免疫(表2)。但广泛清除Treg会导致自身免疫问题,如何选择性针对肿瘤内或者肿瘤特异性的Treg仍是目前治疗肿瘤的关键。

#### 4.3 移植免疫与移植物抗宿主病

器官和造血干细胞移植中免疫系统面临的主要障碍是识别和攻击供体抗原,这可能导致移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)。通过有效鉴定供体同种异体抗原,Treg细胞可以阻止效应T细胞激活和增殖,从而限制对移植物的攻击或减轻GVHD的严重程度。Treg细胞的富集和功能维持对于移植耐受至关重要。

Treg释放免疫抑制细胞因子,降低Th1/Th17细胞反应并产生外周耐受。在异体移植环境中,IL-10通过抑制树突状细胞成熟和IL-12产生,降低Th1型细胞因子分泌,从而减轻移植物局部炎症<sup>[100]</sup>。此外,Treg表达的CD39/CD73可将ATP转

Table 2 Clinical trials on targeting Treg cells in cancer therapy

表2 关于靶向Treg细胞在肿瘤治疗中的临床试验

靶点	模型	试验阶段	关键结果	参考文献
抗 CCR4 抗体	实体瘤	临床Ib期	在外周血中高效耗除CCR4 <sup>+</sup> Treg, 安全可控; 客观缓解率为10.5%, 疾病控制率为36.8%	[95]
抗 GITR 抗体	晚期实体瘤	临床I/Ib期	安全性良好, 在部分患者中观察到肿瘤内 Treg 减少, CD8 增加和激活信号提升	[96]
抗 CCR8 抗体	各类实体瘤	临床前期	在TME中选择性耗除 Treg, 增强 CD8 <sup>+</sup> T 细胞浸润与抗肿瘤反应	[97]
CCR8 拮抗剂	肝癌模型	临床前期	诱导性肿瘤浸润Treg的抑制表型向较低抑制能力转变, 抑制肿瘤增长	[98]
抗 CCR4 抗体	既往治疗失败的 T 细胞淋巴瘤	临床I/II期	显著降低 CCR4 <sup>+</sup> Treg, 具有部分临床活性	[99]

化为免疫抑制性腺苷, 后者经 A2A 受体抑制效应 T 细胞和自然杀伤细胞活化, 进一步降低移植部位的炎症应答<sup>[75]</sup>。在移植模型中, Treg 能诱导耐受相关巨噬细胞和耐受型树突状细胞形成, 通过 IL-10/TGF- $\beta$  轴重塑组织微环境, 从而促进移植重建与长期存活<sup>[101-102]</sup>。Treg 细胞还可分泌组织修复相关分子 (如双调蛋白), 在器官移植中参与损伤后的再生过程, 这一功能在肝、肺、肾等模型中均已被验证<sup>[103-104]</sup>。

总的来看, Treg 细胞在移植免疫耐受的建立中的作用既有免疫抑制, 又可以进行组织修复。它们通过 CTLA-4 介导的共刺激抑制、IL-10/TGF- $\beta$  介导的免疫平衡、CD39/CD73 介导的代谢调控及组织保护机制, 共同构建了抑制排斥反应、促进长期容受的多层防线, 增强 Treg 细胞功能或数量可以显著延长移植存活时间并减轻 GVHD 的严重程度。

## 5 基于Treg细胞的治疗策略

### 5.1 多克隆Treg细胞的过继性治疗

多克隆 Treg 细胞的过继性治疗是最直接的 Treg 细胞疗法, 其基本流程是从患者或供者外周血中分离出 Treg 细胞, 在体外进行大规模扩增, 然后将扩增后的细胞回输至患者体内。

这种方法已在多种疾病的 I/II 期临床试验中显示出良好的安全性。在预防和治疗造血干细胞移植后的 GVHD 方面, 多项研究证实了其可行性和初步疗效<sup>[105-106]</sup>。在 T1DM 的治疗中, 回输的 Treg 细胞能够维持其表型稳定并表现出一定的免疫调节作用<sup>[107]</sup>。过继移植的 Treg 细胞亚群寿命较长, 移植后 1 年仍保留高达峰值水平的 25%<sup>[108]</sup>。在实体器

官移植中, Treg 细胞疗法被期望能减少对传统免疫抑制剂的依赖, 从而降低长期用药带来的毒副作用。研究者们从冻存的脐带血中富集的 Treg 细胞回输到 GVHD 患者, 与接受相同治疗的 108 例未接受 Treg 治疗的历史对照相比, II-IV 级 GVHD 的发生率降低 (43% vs 61%,  $P=0.05$ ), 且对感染、复发或早期死亡风险无不利影响<sup>[109]</sup>。

这种疗法使用的 Treg 细胞是多克隆的, 意味着它们的 TCR 能够识别多种抗原, 而非特异性地靶向致病抗原。这可能导致其在病灶部位的归巢效率和抑制效力有限, 通常需要输注大量的细胞才能达到治疗效果。

### 5.2 基因工程改造Treg细胞

研究人员正在利用基因工程技术修饰 Treg 细胞, 使其具有更高的特异性, 稳定性和活性, 以克服多克隆 Treg 的缺点 (图 5)。Treg 细胞治疗最有希望的领域是构建抗原特异性 Treg (CAR-Treg 与 TCR-Treg)。Treg 细胞经过基因修饰, 装载一个可以识别特定抗原的导航系统。

嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) 是一种人工设计的受体。其细胞外结构域可以直接识别特定的细胞表面抗原。研究发现一种基于过表达 Foxp3 并携带抗 CD19-CAR 的 Treg (Fox19CAR-Treg) 的治疗策略。Fox19CAR-Treg 可在体外有效抑制 B 细胞的增殖和活性, 这与 SLE 的发病机制相关。在人源化 SLE 小鼠模型中, 单次输注 Fox19CAR-Treg 可抑制自身抗体的产生, 延缓淋巴细胞减少, 并恢复淋巴器官中的人体免疫系统组成, 且无可检测的毒性。Fox19CAR-Treg 细胞可以打破导致自身免疫和持续性组织损伤的恶性循环, 代表一种有效且安全的策略, 可以恢复 SLE

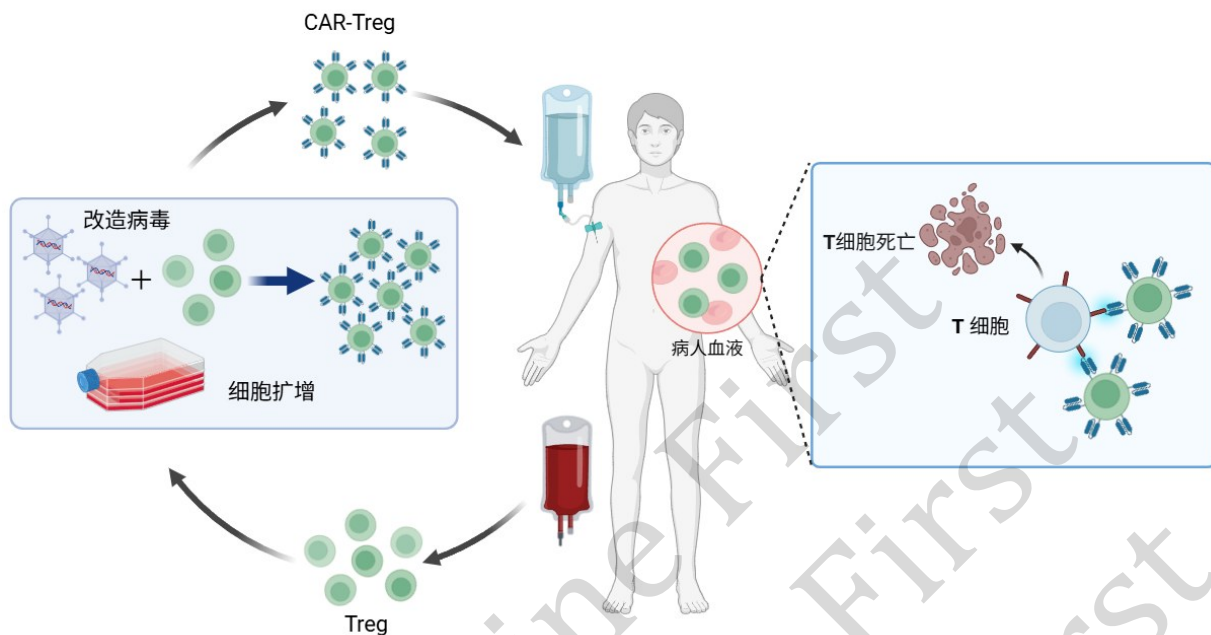


Fig. 5 The basic process of CAR Treg cell therapy

图5 CAR-Treg细胞治疗的基本流程

从患者外周血中分离获得Treg，通过携带CAR的改造病毒对Treg进行基因修饰，获得CAR-Treg细胞。经体外扩增后，将CAR-Treg细胞回输至患者体内。CAR-Treg能够特异性识别并抑制针对特定抗原的效应T细胞，从而诱导免疫耐受，防止组织损伤或移植排斥反应。CAR-Treg：嵌合抗原受体调节性T细胞（chimeric antigen receptor regulatory T cells），Treg：调节性T细胞（regulatory T cells）。(https://BioRender.com)

的体内平衡<sup>[110]</sup>。TCR将识别特定自身抗原（如T1DM中针对胰岛细胞的抗原）的TCR基因转入Treg细胞，可以使其精准地抑制驱动自身免疫反应的T细胞<sup>[111]</sup>。

Treg细胞在强烈的炎症微环境中可能失去Foxp3表达，变得不稳定，甚至转化为促炎细胞。利用CRISPR-Cas9等基因编辑技术，可以敲除某些影响Treg稳定性的基因，如染色质重塑复合物成员Brd9，或对Foxp3基因本身进行修饰，从而控制Treg细胞的抑制表型，使其在恶劣的炎症环境中也能保持强大的功能<sup>[112]</sup>。利用大量CD4<sup>+</sup>T细胞构建Treg细胞疗法，如胃神经内分泌肿瘤（gastric neuroendocrine tumor, GNTI）细胞能够稳定表达FOXP3，靶向胰腺及其引流淋巴结。GNTI-122细胞维持了与Treg表型和功能一致的表达谱。针对相应的抗原，GNTI-122可直接或间接抑制来自T1DM患者的多克隆胰岛特异性效应T细胞。在T1DM过继转移小鼠模型中，GNTI-122的小鼠工程化Treg类似物可迁移至胰腺，减轻胰岛炎的严

重程度，并阻止糖尿病的进展<sup>[113]</sup>。

### 5.3 靶向Treg细胞的小分子或抗体药物

除了细胞疗法外，利用药物来调控体内Treg细胞的数量和功能也是一种重要的治疗策略。使用药物来增强Treg功能可用于AD。如Treg细胞高表达高亲和力的IL-2受体，因此对IL-2的浓度变化极为敏感。给予低剂量的IL-2，可以优先激活和扩增体内的Treg细胞，而不会显著激活效应T细胞。这一策略已在治疗SLE、GVHD和斑秃等多种自身免疫相关疾病的临床试验中取得了良好疗效<sup>[114-115]</sup>。IL-2还可驱动不同的Treg细胞亚群，这些细胞可以归巢至肠道、皮肤或炎症部位<sup>[116]</sup>。此外，抑制或清除Treg细胞功能可用于肿瘤免疫。如靶向CTLA-4的抗体不仅能阻断Treg细胞抑制信号，更重要的是，其Fc段能够介导抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用，从而特异性地清除TME中高表达CTLA-4的Treg细胞，打破免疫抑制，释放抗肿瘤免疫应答<sup>[117]</sup>。使用CCR抗体可减少肿瘤浸润性CCR8<sup>+</sup>Treg细胞，并在人CCR8基因敲入的荷瘤小

鼠模型中诱导出强大的抗肿瘤活性<sup>[97]</sup>, 联合使用 CD25×TIGIT 双特异性抗体通过选择性清除肿瘤内 Treg 细胞诱导抗肿瘤活性<sup>[47]</sup>。值得注意的是, 由于 Treg 细胞高表达 CD25, 使用抗 CD25 抗体可以直接消耗 Treg 细胞。然而, 由于活化的效应 T 细胞也表达 CD25, 这种策略的特异性面临挑战, 可能同时损伤抗肿瘤的效应细胞。

## 6 结论与展望

Treg 细胞的发现, 不仅揭示了免疫系统先天具备的自我调节的基本原理, 更打破了传统免疫学对免疫耐受的认知局限, 为解析外周免疫耐受的分子机制提供了一个新的理论框架。自 Sakaguchi 团队首次鉴定出 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞以及 Brunkow 与 Ramsdell 团队发现其关键转录因子 Foxp3 以来, Treg 细胞的研究逐渐将免疫学理论从单一的保护模型向免疫动态平衡理论的转变。Treg 细胞通过各种机制维持免疫反应的动态平衡, 包括抑制性细胞因子的分泌、生长因子的竞争、刺激信号的调节和微环境的转变。它们的功能不仅限于免疫抑制, 还包括组织恢复, 代谢平衡和炎症缓解等生理过程, 使它们成为免疫调节和组织平衡之间的重要桥梁。

然而, Treg 细胞的数量和功能异常都会引起相应疾病。在 AD (如 SLE、RA) 中, Treg 细胞数量减少或功能缺陷会导致免疫耐受失衡, 引发免疫系统对自身组织的攻击; 在移植排斥反应中, Treg 细胞可通过增强移植部位的局部免疫耐受, 显著降低移植排斥反应的发生风险。然而, 对于肿瘤和慢性炎症微环境中, Treg 细胞会阻碍抗肿瘤免疫应答的启动与效应发挥, 导致炎症反应迁延不愈, 加重组织损伤。这种双向调控特性表明在不同病理背景下精确控制 Treg 细胞的数量和功能是实现干预和治疗相关疾病的关键。近年来, 单细胞组学、多组学联合分析和代谢重新编程研究的新进展逐渐揭示了 Treg 细胞系及其组织特异性功能的异质性, 为定向干预提供了理论基础。

未来 Treg 细胞的研究将朝着更高精度与应用灵活性的方向突破。首先, 深入阐明 Foxp3 转录网络与表观遗传修饰对 Treg 谱系的稳定性与功能可逆性的调控机制, 为精准干预 Treg 细胞命运提供分子靶点。其次, 基因修饰的 Treg 细胞 (如 CAR-Treg 和 TCR-Treg) 疗法在器官移植排斥反应、自身免疫病及炎症性疾病领域展现出巨大应用潜力, 通过其精准识别与局部抑制能力有望实现个性化治

疗。最后, 开发更高效的 Treg 细胞调控策略如低剂量 IL-2 治疗、代谢率调节及靶向抑制性受体的抗体应用, 可提升体内 Treg 细胞数量与功能调控的可控性与安全性。

总体而言, Treg 细胞研究正从传统的描述性生物学阶段, 全面迈入机制性解析与干预性应用并重的新阶段。不再局限于“单纯抑制免疫应答”或“过度激活免疫应答”的三元模式, 而是通过精准重构免疫耐受网络, 恢复机体免疫稳态平衡。以 Treg 细胞研究为代表的免疫学理论与技术革新, 正引领免疫学领域进入从精细调控再到自主平衡的全新发展纪元, 为攻克自身免疫病、肿瘤、移植排斥等重大免疫相关疾病提供了前所未有的机遇。

## 参考文献

- [1] Griesemer A D, Sorenson E C, Hardy M A. The role of the thymus in tolerance. *Transplantation*, 2010, **90**(5): 465-474
- [2] Gallegos A M, Bevan M J. Central tolerance: good but imperfect. *Immunol Rev*, 2006, **209**(1): 290-296
- [3] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, *et al*. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$ -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*, 1995, **155**(3): 1151-1164
- [4] Bennett C L, Christie J, Ramsdell F, *et al*. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet*, 2001, **27**(1): 20-21
- [5] Owen R D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science*, 1945, **102**(2651): 400-401
- [6] Billingham R E, Brent L, Medawar P B. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature*, 1953, **172**(4379): 603-606
- [7] Nossal G J, Pike B L. Clonal anergy: persistence in tolerant mice of antigen-binding B lymphocytes incapable of responding to antigen or mitogen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, **77**(3): 1602-1606
- [8] Jenkins M K, Schwartz R H. Antigen presentation by chemically modified splenocytes induces antigen-specific T cell unresponsiveness *in vitro* and *in vivo*. *J Exp Med*, 1987, **165**(2): 302-319
- [9] Brunkow M E, Jeffery E W, Hjerrild K A, *et al*. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet*, 2001, **27**(1): 68-73
- [10] Fontenot J D, Gavin M A, Rudensky A Y. Foxp3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2003, **4**(4): 330-336
- [11] Shevach E M, Thornton A M. tTregs, pTregs, and iTregs:

- similarities and differences. *Immunol Rev*, 2014, **259**(1): 88-102
- [12] Thornton AM, Korty PE, Tran D Q, *et al.* Expression of helios, an ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced Foxp3<sup>+</sup> T regulatory cells. *J Immunol*, 2010, **184**(7): 3433-3441
- [13] Akimova T, Beier UH, Wang L, *et al.* Helios expression is a marker of T cell activation and proliferation. *PLoS One*, 2011, **6**(8): e24226
- [14] Elkord E. Helios should not be cited as a marker of human thymus-derived tregs. commentary: helios(+) and helios(-) cells coexist within the natural FOXP3<sup>+</sup> T regulatory cell subset in humans. *Front Immunol*, 2016, **7**: 276
- [15] Szurek E, Cebula A, Wojciech L, *et al.* Differences in expression level of helios and neuropilin-1 do not distinguish thymus-derived from extrathymically-induced CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *PLoS One*, 2015, **10**(10): e0141161
- [16] Tai X, Indart A, Rojano M, *et al.* How autoreactive thymocytes differentiate into regulatory versus effector CD4<sup>+</sup> T cells after avoiding clonal deletion. *Nat Immunol*, 2023, **24**(4): 637-651
- [17] Caruso B, Weeder B R, Thompson R F, *et al.* PD-1 limits IL-2 production and thymic regulatory T cell Development. *Immunohorizons*, 2024, **8**(3): 281-294
- [18] Yang X, Zhu X, Sheng J, *et al.* RNF213 promotes Treg cell differentiation by facilitating K63-linked ubiquitination and nuclear translocation of FOXO1. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 5961
- [19] Kim C H. Complex regulatory effects of gut microbial short-chain fatty acids on immune tolerance and autoimmunity. *Cell Mol Immunol*, 2023, **20**(4): 341-350
- [20] Chen W, Jin W, Hardegen N, *et al.* Conversion of peripheral CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> naive T cells to CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells by TGF- $\beta$  induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*, 2003, **198**(12): 1875-1886
- [21] Hossain M M, King P, Hackett J, *et al.* Peripheral-derived regulatory T cells contribute to tumor-mediated immune suppression in a nonredundant manner. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, **121**(36): e2404916121
- [22] Nayer B, Tan J L, Alshoubaki Y K, *et al.* Local administration of regulatory T cells promotes tissue healing. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 7863
- [23] Xie X, Stubbington M J, Nissen J K, *et al.* The regulatory T cell lineage factor Foxp3 regulates gene expression through several distinct mechanisms mostly independent of direct DNA binding. *PLoS Genet*, 2015, **11**(6): e1005251
- [24] Lee W, Lee G R. Transcriptional regulation and development of regulatory T cells. *Exp Mol Med*, 2018, **50**(3): e456
- [25] Kitagawa Y, Ohkura N, Kidani Y, *et al.* Guidance of regulatory T cell development by Satb1-dependent super-enhancer establishment. *Nat Immunol*, 2017, **18**(2): 173-183
- [26] Akamatsu M, Mikami N, Ohkura N, *et al.* Conversion of antigen-specific effector/memory T cells into Foxp3-expressing T<sub>reg</sub> cells by inhibition of CDK8/19. *Sci Immunol*, 2019, **4**(40): eaaw2707
- [27] Loo C S, Gatchalian J, Liang Y, *et al.* A genome-wide CRISPR screen reveals a role for the non-canonical nucleosome-remodeling BAF complex in Foxp3 expression and regulatory T cell function. *Immunity*, 2020, **53**(1): 143-157.e8
- [28] Placek K, Hu G, Cui K, *et al.* MLL4 prepares the enhancer landscape for Foxp3 induction via chromatin looping. *Nat Immunol*, 2017, **18**(9): 1035-1045
- [29] Dikiy S, Li J, Bai L, *et al.* A distal Foxp3 enhancer enables interleukin-2 dependent thymic Treg cell lineage commitment for robust immune tolerance. *Immunity*, 2021, **54**(5): 931-946.e11
- [30] Schuster C, Jonas F, Zhao F, *et al.* Peripherally induced regulatory T cells contribute to the control of autoimmune diabetes in the NOD mouse model. *Eur J Immunol*, 2018, **48**(7): 1211-1216
- [31] Huehn J, Beyer M. Epigenetic and transcriptional control of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Semin Immunol*, 2015, **27**(1): 10-18
- [32] Yang T T, Liu P J, Sun Q Y, *et al.* CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells *ex vivo* generated from autologous naive CD4<sup>+</sup> T cells suppress EAE progression. *Sci Rep*, 2024, **14**(1): 6262
- [33] Zhao Y, Nicholson L, Wang H, *et al.* Intra-graft memory-like CD127hiCD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs maintain transplant tolerance. *JCI Insight*, 2024, **9**(6): e169119
- [34] Lax B M, Palmeri J R, Lutz E A, *et al.* Both intratumoral regulatory T cell depletion and CTLA-4 antagonism are required for maximum efficacy of anti-CTLA-4 antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, **120**(31): e2300895120
- [35] Wegrzyn A S, Kedzierska A E, Obojski A. Identification and classification of distinct surface markers of T regulatory cells. *Front Immunol*, 2022, **13**: 1055805
- [36] Mensink M, Verleng L J, Schrama E, *et al.* Tregs from human blood differentiate into nonlymphoid tissue-resident effector cells upon TNFR2 costimulation. *JCI Insight*, 2024, **9**(5): e172942
- [37] Wu X, Chen P I, Whitener R L, *et al.* CD39 delineates chimeric antigen receptor regulatory T cell subsets with distinct cytotoxic & regulatory functions against human islets. *Front Immunol*, 2024, **15**: 1415102
- [38] Panneton V, Mindt B C, Bouklouch Y, *et al.* ICOS costimulation is indispensable for the differentiation of T follicular regulatory cells. *Life Sci Alliance*, 2023, **6**(4): e202201615
- [39] Kim M J, Kim K, Park H J, *et al.* Deletion of PD-1 destabilizes the lineage identity and metabolic fitness of tumor-infiltrating regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2023, **24**(1): 148-161
- [40] Cruz-Morales E, Hart A P, Fossett G M, *et al.* Helios<sup>+</sup> and ROR $\gamma$ <sup>+</sup> Treg populations are differentially regulated by MHCII, CD28, and ICOS to shape the intestinal Treg pool. *Mucosal Immunol*, 2023, **16**(3): 264-274
- [41] Poschel D B, Klement J D, Merting A D, *et al.* PD-L1 restrains PD-1+Nrp1<sup>+</sup> Treg cells to suppress inflammation-driven colorectal tumorigenesis. *Cell Rep*, 2024, **43**(10): 114819
- [42] Law J P, Hirschhorn D F, Owen R E, *et al.* The importance of Foxp3 antibody and fixation/permeabilization buffer combinations in identifying CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Cytometry A*, 2009, **75**(12): 1040-1050
- [43] Liu W, Putnam A L, Xu-Yu Z, *et al.* CD127 expression inversely

- correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4<sup>+</sup> T reg cells. *J Exp Med*, 2006, **203**(7): 1701-1711
- [44] Muthana M M, Du X, Liu M, *et al.* CTLA-4 antibody-drug conjugate reveals autologous destruction of B-lymphocytes associated with regulatory T cell impairment. *eLife*, 2023, **12**: RP87281
- [45] Ronchetti S, Ricci E, Petrillo M G, *et al.* Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor-related protein: a key marker of functional regulatory T cells. *J Immunol Res*, 2015, **2015**: 171520
- [46] Qu Y, Wang X, Bai S, *et al.* The effects of TNF- $\alpha$ /TNFR2 in regulatory T cells on the microenvironment and progression of gastric cancer. *Int J Cancer*, 2022, **150**(8): 1373-1391
- [47] Wei X, Zhao L, Yang F, *et al.* A CD25  $\times$  TIGIT bispecific antibody induces anti-tumor activity through selective intratumoral Treg cell depletion. *Mol Ther*, 2024, **32**(11): 4075-4094
- [48] Moreno Ayala M A, Campbell T F, Zhang C, *et al.* CXCR3 expression in regulatory T cells drives interactions with type I dendritic cells in tumors to restrict CD8<sup>+</sup> T cell antitumor immunity. *Immunity*, 2023, **56**(7): 1613-1630.e5
- [49] Koch M A, Tucker-Heard G, Perdue N R, *et al.* The transcription factor T-bet controls regulatory T cell homeostasis and function during type I inflammation. *Nat Immunol*, 2009, **10**(6): 595-602
- [50] Chung Y, Tanaka S, Chu F, *et al.* Follicular regulatory T cells expressing Foxp3 and Bcl-6 suppress germinal center reactions. *Nat Med*, 2011, **17**(8): 983-988
- [51] Sawant D V, Sehra S, Nguyen E T, *et al.* Bcl6 controls the Th2 inflammatory activity of regulatory T cells by repressing Gata3 function. *J Immunol*, 2012, **189**(10): 4759-4769
- [52] Wohlfert E A, Grainger J R, Bouladoux N, *et al.* GATA3 controls Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell fate during inflammation in mice. *J Clin Invest*, 2011, **121**(11): 4503-4515
- [53] Yang B H, Hagemann S, Mamareli P, *et al.* Foxp3<sup>+</sup> T cells expressing ROR $\gamma$ t represent a stable regulatory T-cell effector lineage with enhanced suppressive capacity during intestinal inflammation. *Mucosal Immunol*, 2016, **9**(2): 444-457
- [54] Burton O T, Bricard O, Tareen S, *et al.* The tissue-resident regulatory T cell pool is shaped by transient multi-tissue migration and a conserved residency program. *Immunity*, 2024, **57**(7): 1586-1602.e10
- [55] Kaminski A, Hager F T, Kopplin L, *et al.* Resident regulatory T cells reflect the immune history of individual lymph nodes. *Sci Immunol*, 2023, **8**(89): eadj5789
- [56] Sun R, Zhao H, Gao D S, *et al.* Amphiregulin couples IL1RL1<sup>+</sup> regulatory T cells and cancer-associated fibroblasts to impede antitumor immunity. *Sci Adv*, 2023, **9**(34): eadd7399
- [57] Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, *et al.* Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nat Med*, 2009, **15**(8): 930-939
- [58] Campbell C, Rudensky A. Roles of regulatory T cells in tissue pathophysiology and metabolism. *Cell Metab*, 2020, **31**(1): 18-25
- [59] Burzyn D, Kuswanto W, Kolodin D, *et al.* A special population of regulatory T cells potentiates muscle repair. *Cell*, 2013, **155**(6): 1282-1295
- [60] Becker M, Joseph S S, Garcia-Carrizo F, *et al.* Regulatory T cells require IL6 receptor alpha signaling to control skeletal muscle function and regeneration. *Cell Metab*, 2023, **35**(10): 1736-1751.e7
- [61] Ali N, Zirak B, Rodriguez R S, *et al.* Regulatory T cells in skin facilitate epithelial stem cell differentiation. *Cell*, 2017, **169**(6): 1119-1129.e11
- [62] Cohen J N, Gouirand V, Macon C E, *et al.* Regulatory T cells in skin mediate immune privilege of the hair follicle stem cell niche. *Sci Immunol*, 2024, **9**(91): eadh0152
- [63] Asseman C, Mauze S, Leach M W, *et al.* An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med*, 1999, **190**(7): 995-1004
- [64] Nakamura K, Kitani A, Strober W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med*, 2001, **194**(5): 629-644
- [65] Pylayeva-Gupta Y. Molecular pathways: interleukin-35 in autoimmunity and cancer. *Clin Cancer Res*, 2016, **22**(20): 4973-4978
- [66] Collison L W, Chaturvedi V, Henderson A L, *et al.* IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nat Immunol*, 2010, **11**(12): 1093-1101
- [67] Grossman W J, Verbsky J W, Barchet W, *et al.* Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. *Immunity*, 2004, **21**(4): 589-601
- [68] Tibbs E, Kandy R R K, Jiao D, *et al.* Murine regulatory T cells utilize granzyme B to promote tumor metastasis. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, **72**(9): 2927-2937
- [69] Frijlink E, Bosma D M T, Busselaar J, *et al.* PD-1 or CTLA-4 blockade promotes CD86-driven Treg responses upon radiotherapy of lymphocyte-depleted cancer in mice. *J Clin Invest*, 2024, **134**(6): e171154
- [70] Xu X, Dennett P, Zhang J, *et al.* CTLA4 depletes T cell endogenous and trogocytosed B7 ligands *via* cis-endocytosis. *J Exp Med*, 2023, **220**(7): e20221391
- [71] Andrews L P, Cillo A R, Karapetyan L, *et al.* Molecular pathways and mechanisms of LAG3 in cancer therapy. *Clin Cancer Res*, 2022, **28**(23): 5030-5039
- [72] Kim D, Kim G, Yu R, *et al.* Inhibitory co-receptor Lag3 supports Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell function by restraining Myc-dependent metabolic programming. *Immunity*, 2024, **57**(11): 2634-2650.e5
- [73] Lim J X, McTaggart T, Jung S K, *et al.* PD-1 receptor deficiency enhances CD30<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> cell function in melanoma. *Nat Immunol*, 2025, **26**(7): 1074-1086
- [74] Efe O, Gassen R B, Morena L, *et al.* A humanized IL-2 mutein expands Tregs and prolongs transplant survival in preclinical models. *J Clin Invest*, 2024, **134**(5): e173107
- [75] Deaglio S, Dwyer K M, Gao W, *et al.* Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med*, 2007, **204**(6): 1257-

- 1265
- [76] Bopp T, Becker C, Klein M, *et al.* Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. *J Exp Med*, 2007, **204**(6): 1303-1310
- [77] de Kivit S, Mensink M, Kostidis S, *et al.* Immune suppression by human thymus-derived effector Tregs relies on glucose/lactate-fueled fatty acid synthesis. *Cell Rep*, 2024, **43**(9): 114681
- [78] Zhou J, Gu J, Qian Q, *et al.* Lactate supports Treg function and immune balance *via* MGAT1 effects on N-glycosylation in the mitochondria. *J Clin Invest*, 2024, **134**(20): e175897
- [79] Sumida T S, Lincoln M R, He L, *et al.* An autoimmune transcriptional circuit drives FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cell dysfunction. *Sci Transl Med*, 2024, **16**(762): eadp1720
- [80] Helmin K A, Morales-Nebreda L, Torres Acosta M A, *et al.* Maintenance DNA methylation is essential for regulatory T cell development and stability of suppressive function. *J Clin Invest*, 2020, **130**(12): 6571-6587
- [81] Teghanemt A, Misel - Wuchter K, Heath J, *et al.* DNA demethylation fine - tunes IL - 2 production during thymic regulatory T cell differentiation. *EMBO Rep*, 2023, **24**(5): EMBR202255543
- [82] Dominguez-Villar M, Hafler D A. Regulatory T cells in autoimmune disease. *Nat Immunol*, 2018, **19**(7): 665-673
- [83] Su R, Li B, Wu R, *et al.* Stratified distribution of Th17 and Treg cells in patients with multi-stage rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2023, **25**(1): 55
- [84] Nocentini G, Alunno A, Petrillo M G, *et al.* Expansion of regulatory GTR+CD25 low/-CD4<sup>+</sup> T cells in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Res Ther*, 2014, **16**(5): 444
- [85] Vu M D, Xiao X, Gao W, *et al.* OX40 costimulation turns off Foxp3<sup>+</sup> tregs. *Blood*, 2007, **110**(7): 2501-2510
- [86] Marwaha A K, Panagiopoulou C, Biggs C M, *et al.* Pre-diagnostic genotyping identifies T1D subjects with impaired Treg IL-2 signaling and an elevated proportion of FOXP3<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup> cells. *Genes Immun*, 2017, **18**(1): 15-21
- [87] Sebastiani G, Grieco G E, Bruttini M, *et al.* A set of circulating microRNAs belonging to the 14q32 chromosome locus identifies two subgroups of individuals with recent-onset type 1 diabetes. *Cell Rep Med*, 2024, **5**(6): 101591
- [88] Nizam R, Malik M Z, Jacob S, *et al.* Circulating hsa-miR-320a and its regulatory network in type 1 diabetes mellitus. *Front Immunol*, 2024, **15**: 1376416
- [89] Nishikawa H, Koyama S. Mechanisms of regulatory T cell infiltration in tumors: implications for innovative immune precision therapies. *J Immunother Cancer*, 2021, **9**(7): e002591
- [90] Park M J, Lee S H, Kim E K, *et al.* Interleukin-10 produced by myeloid-derived suppressor cells is critical for the induction of Tregs and attenuation of rheumatoid inflammation in mice. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 3753
- [91] Akhtar S, Sagar K, Roy A, *et al.* CCR5-mediated homing of regulatory T cells and monocytic-myeloid derived suppressor cells to dysfunctional endothelium contributes to early atherosclerosis. *Immunology*, 2024, **173**(4): 712-729
- [92] Ji Z Z, Chan M K, Chan A S, *et al.* Tumour-associated macrophages: versatile players in the tumour microenvironment. *Front Cell Dev Biol*, 2023, **11**: 1261749
- [93] Pu J, Liu T, Zhou Y, *et al.* T cells in cancer: mechanistic insights and therapeutic advances. *Biomark Res*, 2025, **13**(1): 97
- [94] Tan S N, Hao J, Ge J, *et al.* Regulatory T cells converted from Th1 cells in tumors suppress cancer immunity *via* CD39. *J Exp Med*, 2025, **222**(4): e20240445
- [95] Hong D S, Rixe O, Chiu V K, *et al.* Mogamulizumab in combination with nivolumab in a phase I/II study of patients with locally advanced or metastatic solid tumors. *Clin Cancer Res*, 2022, **28**(3): 479-488
- [96] Davar D, Zappasodi R, Wang H, *et al.* Phase IB study of G1TR agonist antibody TRX518 singly and in combination with gemcitabine, pembrolizumab, or nivolumab in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res*, 2022, **28**(18): 3990-4002
- [97] Roider H G, Hoff S, Tseng S Y, *et al.* Selective depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells with BAY 3375968, a novel Fc-optimized anti-CCR8 antibody. *Clin Exp Med*, 2024, **24**(1): 122
- [98] Nagira Y, Nagira M, Nagai R, *et al.* S-531011, a novel anti-human CCR8 antibody, induces potent antitumor responses through depletion of tumor-infiltrating CCR8-expressing regulatory T cells. *Mol Cancer Ther*, 2023, **22**(9): 1063-1072
- [99] Duvic M, Pinter-Brown L C, Foss F M, *et al.* Phase 1/2 study of mogamulizumab, a defucosylated anti-CCR4 antibody, in previously treated patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*, 2015, **125**(12): 1883-1889
- [100] Aviña A E, De Paz D, Huang S C, *et al.* IL-10 modified mRNA monotherapy prolongs survival after composite facial allografting through the induction of mixed chimerism. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2023, **31**: 610-627
- [101] Cao Q, Wang Y, Zheng D, *et al.* IL-10/TGF-beta-modified macrophages induce regulatory T cells and protect against adriamycin nephrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2010, **21**(6): 933-942
- [102] DeBerge M, Schroth S, Du F, *et al.* Hypoxia inducible factor 2 $\alpha$  promotes tolerogenic macrophage development during cardiac transplantation through transcriptional regulation of colony stimulating factor 1 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, **121**(26): e2319623121
- [103] Arpaia N, Green J A, Moltedo B, *et al.* A distinct function of regulatory T cells in tissue protection. *Cell*, 2015, **162**(5): 1078-1089
- [104] Savage T M, Fortson K T, de los Santos-Alexis K, *et al.* Amphiregulin from regulatory T cells promotes liver fibrosis and insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis. *Immunity*, 2024, **57**(2): 303-318.e6
- [105] Brunstein C G, Miller J S, McKenna D H, *et al.* Umbilical cord blood-derived T regulatory cells to prevent GVHD: kinetics, toxicity profile, and clinical effect. *Blood*, 2016, **127**(8): 1044-1051
- [106] Lysandrou M, Kefala D, Christofi P, *et al.* Study protocol: Phase I/



- II trial of induced HLA-G<sup>+</sup> regulatory T cells in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation from an HLA-matched sibling donor. *Front Med: Lausanne*, 2023, **10**: 1166871
- [107] Bender C, Wiedeman A E, Hu A, *et al.* A phase 2 randomized trial with autologous polyclonal expanded regulatory T cells in children with new-onset type 1 diabetes. *Sci Transl Med*, 2024, **16** (746): eadn2404
- [108] Bluestone J A, Buckner J H, Fitch M, *et al.* Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med*, 2015, **7**(315): 315ra189
- [109] Brunstein C G, Miller J S, Cao Q, *et al.* Infusion of *ex vivo* expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. *Blood*, 2011, **117** (3): 1061-1070
- [110] Doglio M, Ugolini A, Bercher-Brayer C, *et al.* Regulatory T cells expressing CD19-targeted chimeric antigen receptor restore homeostasis in Systemic Lupus Erythematosus. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 2542
- [111] Spanier J A, Fung V, Wardell C M, *et al.* Tregs with an MHC class II peptide-specific chimeric antigen receptor prevent autoimmune diabetes in mice. *J Clin Invest*, 2023, **133**(18): e168601
- [112] Sato Y, Hanawa Y, Tsubota A. CRISPR/Cas9-mediated RELA and RELC knockout in human regulatory T cells abrogates FOXP3 expression and suppressive function. *Clin Immunol Commun*, 2024, **6**: 15-25
- [113] Uenishi G I, Repic M, Yam J Y, *et al.* GNTI-122: an autologous antigen-specific engineered Treg cell therapy for type 1 diabetes. *JCI Insight*, 2024, **9**(6): e171844
- [114] Wobma H, Kapadia M, Kim H T, *et al.* Real-world experience with low-dose IL-2 for children and young adults with refractory chronic graft-versus-host disease. *Blood Adv*, 2023, **7**(16): 4647-4657
- [115] Barde F, Lorenzon R, Vicaut E, *et al.* Induction of regulatory T cells and efficacy of low-dose interleukin-2 in systemic sclerosis: interventional open-label phase 1-phase 2a study. *RMD Open*, 2024, **10**(2): e003500
- [116] Raeber M E, Caspar D P, Zurbuchen Y, *et al.* Interleukin-2 immunotherapy reveals human regulatory T cell subsets with distinct functional and tissue-homing characteristics. *Immunity*, 2024, **57**(9): 2232-2250.e10
- [117] Knorr D A, Blanchard L, Leidner R S, *et al.* FcγRIIB is an immune checkpoint limiting the activity of treg-targeting antibodies in the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Res*, 2024, **12**(3): 322-333

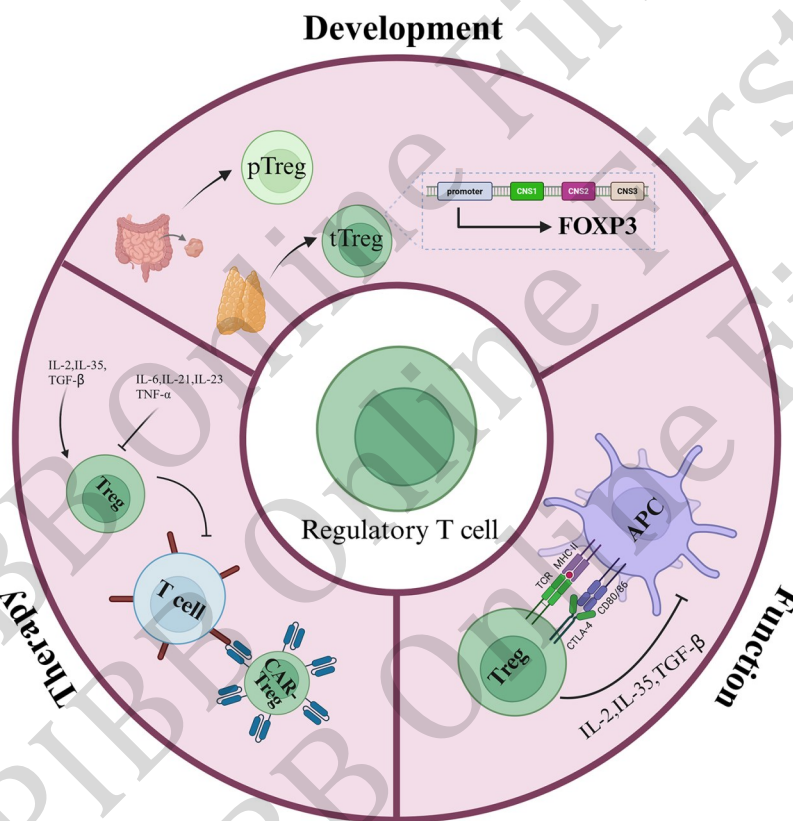
## Treg Cells and Peripheral Immune Tolerance: From Discovery to Precise Immune Regulation\*

XIAO Teng<sup>1)</sup>, CHEN Meng-Yu<sup>1)</sup>, YI Lei<sup>1)</sup>, XIONG Wei<sup>2)</sup>, WANG Fu-Yan<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup>Xiangya School of Basic Medicine, Central South University, Changsha 410013, China;

<sup>2)</sup>NHC Key Laboratory of Carcinogenesis and Key Laboratory of Carcinogenesis and Cancer Invasion of the Chinese Ministry of Education, Cancer Research Institute, Central South University, Changsha 410078, China)

### Graphical abstract



**Abstract** Regulatory T cells (Treg cells) have reshaped modern immunology by establishing the conceptual and mechanistic foundation of peripheral immune tolerance. Since the pioneering identification of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> suppressive T cells by Shimon Sakaguchi and the subsequent discovery of the lineage-defining transcription factor Forkhead box P3 (Foxp3) by Mary E. Brunkow and Fred Ramsdell, Treg cells have been recognized as indispensable guardians of immune homeostasis. These advances collectively clarified that central tolerance alone is insufficient to eliminate all self-reactive lymphocytes, and peripheral tolerance—critically mediated by Treg cells—serves as a second barrier preventing pathological autoimmunity. Contemporary research has therefore

\* This work was supported by a grant from Hunan Provincial Natural Science Foundation (2025JJ50711).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-18153880528, E-mail: wfy4010@csu.edu.cn

Received: October 26, 2025 Accepted: December 4, 2025

expanded the functional and therapeutic significance of Treg cells across the fields of autoimmunity, cancer, transplantation, and tissue repair. Treg cells originate from two major developmental pathways: thymus-derived Treg (tTreg) cells, which arise from high-affinity self-reactive TCR interactions in the thymus, and peripheral Treg (pTreg) cells, which are induced in mucosal and other peripheral tissues via antigen stimulation under tolerogenic cytokine cues such as IL-2 and TGF- $\beta$ . Their differentiation is orchestrated by a multilayered transcriptional and epigenetic network within the *Foxp3* locus, including CNS0 – CNS3 elements that integrate TCR, cytokine and environmental signals to support lineage stability. Treg cells are identified by a combination of surface and intracellular markers—CD25, CD127<sup>low/-</sup>, CTLA-4, GITR, TNFR2, CD39/CD73, and *Foxp3*—although marker specificity varies with context, activation state, and species. Their notable heterogeneity enables Treg cells to adopt Th1-, Th2-, Th17- or Tfh-like programs through transcription factors such as T-bet, GATA3, ROR $\gamma$ t and Bcl6, thereby permitting precise suppression of corresponding effector responses. Tissue-resident Treg subsets in adipose tissue, skin, skeletal muscle and the CNS have emerged as highly specialized regulators that integrate local metabolic and stromal signals, contributing not only to immunosuppression but also to tissue regeneration. Mechanistically, Treg cells maintain tolerance through three synergistic strategies: (1) secretion of suppressive cytokines (IL-10, TGF- $\beta$ , IL-35) and cytotoxic mediators (granzyme B, perforin); (2) cell-contact – dependent interactions via CTLA-4, PD-1/PD-L1, and LAG-3 to limit dendritic cell maturation and T-cell activation; and (3) metabolic regulation including IL-2 consumption, adenosine production via CD39/CD73, cAMP transfer through gap junctions, and adaptation to hypoxic or nutrient-restricted microenvironments. Dysregulation of Treg cell quantity or function contributes directly to pathogenesis across a spectrum of diseases. In autoimmune diseases such as type 1 diabetes, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and multiple sclerosis, impaired *Foxp3* stability, epigenetic abnormalities, defective IL-2 signaling or inflammatory cytokine exposure undermine Treg suppressive capacity, facilitating excessive autoreactive T- and B-cell activation. In contrast, within the tumor microenvironment, Treg cells are often enriched through chemokine axes such as CCL22 – CCR4 and reinforced by interaction with myeloid-derived suppressor cells and tumor-associated macrophages. Their enhanced metabolic fitness and suppressive phenotype enable tumors to evade immune destruction. In transplantation, Treg cells are essential for promoting graft tolerance, restraining effector T-cell activation, and facilitating tissue repair after injury. Rapid therapeutic progress has been driven by Treg-based immunomodulation. Polyclonal Treg adoptive transfer has demonstrated safety and preliminary efficacy in type 1 diabetes, autoimmune disorders, solid-organ transplantation, and graft-versus-host disease. Gene-engineered Treg therapies, including antigen-specific CAR-Treg and TCR-Treg platforms, offer superior precision and stability, enabling targeted suppression at disease sites. Additional strategies—including low-dose IL-2 therapy, small-molecule modulation, and selective depletion of intratumoral Treg using antibodies against CCR4, CCR8, CTLA-4 or CD25 $\times$ TIGIT bispecifics—further expand the translational landscape. Collectively, advances in Treg biology—from lineage ontogeny and molecular regulation to specialized functions and therapeutic engineering—highlight Treg cells as central orchestrators of immune equilibrium. Continued integration of single-cell multi-omics, systems immunology and gene-editing technologies is expected to accelerate the development of highly specific, durable and safe Treg-centered therapies, ultimately enabling precision control of immune tolerance in autoimmunity, transplantation and cancer.

**Key words** regulatory T cells (Treg), peripheral immune tolerance, immune homeostasis, autoimmune diseases, CAR Treg therapy

**DOI:** 10.3724/j.pibb.2025.0460

**CSTR:** 32369.14.pibb.20250460