

promotes migration toward experimental glioma. Cell Death and Differentiation 2011,18:853-863.

- [20] Kim SK, Choi SA, Hwang SK, et al. Therapeutic efficacy and safety of TRAIL-producing human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells against experimental brainstem glioma.

Neuro-Oncology 2011,13:61-69.

- [21] Wang WX, Tu HJ, Hu JT, et al. Bone marrow stromal cell versus neural stem cell transplantation in a C6 glioma rat model. Neural Regeneration Research 2010,5:502-507.

## 调节性 T 细胞与胶质瘤免疫研究进展

韦浩 综述 陈春美 杨卫忠 审校

福建医科大学协和临床学院神经外科,福建 福州 350001

福建医科大学附属协和医院神经外科,福建 福州 350001

**摘要:**调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是一群具有抑制其他免疫细胞功能的负调控细胞, Treg 细胞通过多种机制抑制 CD4<sup>+</sup> T 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、NKT 细胞、B 淋巴细胞、树突状细胞以及单核细胞/巨噬细胞等的分化和效应功能,是肿瘤免疫逃逸的关键因素;同时肿瘤细胞可以通过分化、扩增或招募 Treg 细胞有效地抑制抗肿瘤免疫,所以 Treg 细胞在肿瘤的发生、发展过程中发挥着极为重要的作用,是免疫治疗新的有效靶点。文章就其近年来在胶质瘤免疫领域的研究进展做一综述。

**关键词:**调节性 T 细胞;胶质瘤;免疫逃逸;免疫治疗

早在 1980 年研究者就发现,荷瘤小鼠脾脏来源的细胞可以抑制抗肿瘤免疫效应,证实了抑制性 T 细胞对抗肿瘤免疫的抑制作用<sup>[1]</sup>,同时也验证了抑制性 T 细胞的存在。1995 年 Sakaguchi 等<sup>[2]</sup>的研究发现了一种组成性表达白细胞介素-2(IL-2)受体 α 链(CD25)的 CD4<sup>+</sup> T 细胞,它能抑制小鼠自身免疫性疾病的发生,被命名 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 免疫调节 T 细胞。近年来,因其在自身免疫性疾病、肿瘤免疫及器官移植耐受诱导中具有广泛的应用前景而备受瞩目。但是存在于肿瘤微环境中的肿瘤抗原和细胞因子可通过对 Treg 细胞的募集、扩展和诱导来削弱机体的抗肿瘤免疫反应。多项研究发现,在胃癌、食管癌、乳腺癌、卵巢癌等不同恶性肿瘤患者的外周血、淋巴结及肿瘤浸润组织中,均存在 Treg 细胞比例增高的现象<sup>[3]</sup>。随着研究的进一步深入,Treg 细胞在胶质瘤发展过程中的作用已经成为研究热点。本文就 Treg 细胞在胶质瘤免疫领域的新近进展做一综述。

### 1 Treg 细胞概述

#### 1.1 Treg 细胞分类、来源及其特性

Treg 细胞目前尚无统一的分类,有人将 Treg 细胞简略分为如下 4 类: CD4<sup>+</sup> Treg、CD8<sup>+</sup> Treg、自然杀伤细胞(natural killer T cell, NKT) Treg、双阴性 Treg(Double Negative Treg, DN Treg)细胞等 4 大类。其中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 是目前研究的热点。根据 CD4<sup>+</sup> Treg 的起源可将其分为天然 Treg 和诱导性 Treg。其来源如下:①天然 Treg 由胸腺 T 细胞自然分化而来,胚胎早期和新生期正常胸腺可持续不断产生,也可由 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T 细胞在特定条件下转化而来。其表型主要为 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, 转录因子 Foxp3(forkhead/winged helix transcription factor)是参与其发育和功能的关键分子。用携带 Foxp3 逆转录病毒载体向初始 T 细胞导入 Foxp3,可促使初始 T 细胞向 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞转化<sup>[4]</sup>。②诱导性 Treg 主要包括 1 型 Treg(Tr1)和辅助性 T 细胞 3(Th3)等,由静息 T 细胞在特定微环境和某些细胞

收稿日期:2011-08-14;修回日期:2011-11-29

作者简介:韦浩(1987-),男,硕士研究生,主要研究方向:神经外科微创技术。

通讯作者:陈春美,男,副教授,副主任医师,主要研究方向:胶质瘤免疫治疗和脊髓脊柱微创外科技术。

杨卫忠,男,教授,主任医师,主要研究方向:脑血管病基础与临床研究。

因子诱导下分化而成。如外周含有转化生长因子 $\beta 1$  (transforming growth factor $\beta 1$ , TGF- $\beta 1$ ) 可以诱导初生  $CD4^+ CD25^-$  T 细胞表达 FOXP3, 使初生  $CD4^+ CD25^-$  T 细胞转化为 Treg<sup>[5]</sup>。③可能来源于自身增殖, 但机制仍未明确。Sasaki 等<sup>[6]</sup>发现原发性胆汁性肝硬化 (primary biliary cirrhosis, PBC) 患者胆管炎症区  $CD4^+ CD25^+$  Treg 数量增加, 增加程度与炎症损害程度相关, 从而推测 PBC 患者体内  $CD4^+ CD25^+$  Treg 存在一定的代偿增殖能力。

$CD4^+ CD25^+$  Treg 具有免疫无能性和免疫抑制性两大特性: 前者表现为接受抗原刺激后, 表现在其对于 IL-2 以及共刺激分子的作用呈低反应; 后者表现为经 TCR 刺激活化后能抑制其他的  $CD4^+$  T 和  $CD8^+$  T 细胞亚群及 B 细胞的活化和细胞因子的分泌。所以其在自然条件下处于无能状态, 而且由于其本身在免疫应答中发挥的负调节作用, 可以维持自身免疫耐受。但是, 一旦  $CD4^+ CD25^+$  Treg 被活化之后, 就可以抑制  $CD8^+$  T 细胞的活化、增殖, 并且这种抑制作用是非抗原特异性的<sup>[7]</sup>; 同时, 这种免疫抑制性不具 MHC 限制性, 与  $CD4^+ CD25^+$  Treg 的低反应状态矛盾之处是, 它们介导的抑制作用是对抗原敏感的。 $CD4^+ CD25^+$  Treg 可通过细胞与细胞之间直接接触或通过分泌细胞因子发挥调节作用, 从而发挥免疫抑制效应; 其抑制作用与细胞表面的细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 (cytotoxic T lymphocyte associate antigen, CTLA) 和糖皮质激素诱导肿瘤坏死因子受体 (glucocorticoid induced tumor necrosis factor receptor, GITR) 的表达密切相关。

## 1.2 Treg 细胞免疫抑制作用的机制

很多体内外研究已经证明, Treg 细胞具有免疫抑制作用, Treg 细胞能抑制  $CD4^+$  T 和  $CD8^+$  T 淋巴细胞、NKT 细胞、B 淋巴细胞、树突状细胞以及单核/巨噬细胞的分化和效应功能, 能够促使肿瘤细胞发生免疫耐受和逃逸<sup>[8,9]</sup>。目前主要以为 Treg 细胞通过以下几种途径发挥作用<sup>[10-12]</sup>: ①体外主要通过细胞-细胞接触依赖机制发挥作用: CTLA-4 表达于 Treg 细胞表面与靶细胞上的相应受体结合, 降低靶细胞对 IL-2 的反应性从而抑制效应 T 细胞的增殖。②体内调节主要依靠抑制性细胞因子: 如 TGF- $\beta 1$ 、IL-10 等在 Treg 细胞的抑制效应中发挥了重要作用。③Treg 细胞还可通过与抗原提呈细胞的相互作用来调节机体的免疫应答。④抑制免疫效应细胞向肿瘤局部微环境聚集。有研究表明, 活

化后的  $CD4^+ CD25^+$  Treg 可表达颗粒酶 A, 在细胞互相接触基础上, 可以通过穿孔素依赖的细胞毒作用杀伤免疫效应细胞<sup>[13]</sup>。

## 2 Treg 细胞对肿瘤免疫治疗的意义

一段时间以来, 各位学者对恶性肿瘤的免疫治疗研究主要集中在如何将肿瘤抗原最有效的提呈给特异性 T 细胞, 例如: 树突状细胞 (DC) 疫苗, 利用各种刺激因子 (IL-2、IL-12 或 IFN- $\alpha$ ) 来增强机体的抗肿瘤免疫应答, 或者采用过继性免疫治疗。然而, 就目前所取得临床治疗效果却不令人满意。其中主要原因是由于肿瘤特异性抗原的缺乏, 其次是由于肿瘤细胞可以通过分化、扩增或招募 Treg 细胞有效地抑制抗肿瘤免疫。抗肿瘤免疫治疗不仅需要有效的 T 细胞活化方式, 更需要解决肿瘤微环境免疫耐受问题。因此, 我们可以通过减少患者体内 Treg 细胞的数量或干预其功能来提高机体抗肿瘤免疫治疗能力, 在肿瘤的治疗方面将会有重要意义。

## 3 胶质瘤免疫学特性及其免疫逃逸机制

### 3.1 中枢神经系统的免疫学基础

长期以来, 中枢神经系统被认为是一个免疫特区, 主要是因为脑内存在血脑屏障, 脑组织的淋巴引流缺如等。但这只是相对而言, 中枢神经系统存在着一定免疫反应基础<sup>[14,15]</sup>: ①在多种病理情况下血脑屏障受到破坏可使淋巴细胞进入中枢发挥免疫作用; 其次, 活化的 T 细胞也可以通过血脑屏障进入中枢神经系统发挥作用。②脑脊液与颈部淋巴结之间存在联系。③星形胶质细胞可表达少量的主要组织相容性复合物 (MHC)。④小胶质细胞可以表达一些巨噬细胞相关表面标志物, 其中包括 MHC 抗原, 因此, 在脑组织中小胶质细胞可作为 APC 发挥作用。⑤中枢神经系统内存在微量的 DC。这些均说明中枢神经系统存在着免疫反应的物质基础。

### 3.2 胶质瘤免疫反应性缺陷

胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 发病率高, 呈侵袭性生长, 手术无法全切除, 放射治疗和化疗效果不佳, 近年来, 免疫治疗已经成为治疗胶质瘤的新方向。研究证实, 胶质瘤显示出一定的免疫反应性缺陷, 这与以下几个原因有关<sup>[16-17]</sup>: ①胶质瘤细胞的免疫原性弱, 可以通过点突变积累造成细胞表面抗原不再被特异性细胞毒 T 细胞识别。②胶质瘤细胞分泌大量的免疫抑制因子, 如

TGF- $\beta$ 、IL-10 等,降低免疫细胞活性及抗原提呈作用。③胶质瘤生长诱导 Treg 细胞数量增多,从而抑制抗原提呈细胞的功能并抵抗 T 细胞介导的免疫反应。④肿瘤细胞的主要组织相容性复合物 (major histocompatibility complex, MHC) 和共刺激分子 B7 的表达障碍。⑤促进免疫器官胸腺的萎缩,在肿瘤发展过程中,肿瘤可使胸腺细胞凋亡增加、增殖减弱,胸腺发育停滞。正是由于胶质瘤存在以上的免疫反应缺陷,胶质瘤可不断生长,所以我们可以干预肿瘤的免疫逃逸途径来增强机体抗肿瘤免疫反应。

#### 4 Treg 细胞与胶质瘤免疫治疗

肿瘤微环境中 Treg 细胞的数量明显增多,并且 Treg 细胞的数量与肿瘤的预后呈负相关<sup>[18]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 在肿瘤免疫治疗中的研究越来越多,基本上都是试图通过降低 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 的免疫抑制作用。主要通过以下几种策略:降低 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 数量,抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 的功能,通过与其他方法联合治疗。但目前在胶质瘤领域中,Treg 细胞和胶质瘤的关系研究较少。

EL Andaloussi 等<sup>[19]</sup>首次报道在胶质母细胞瘤组织中 FOXP3<sup>+</sup>Treg 细胞的浸润明显增加,外周血中 FOXP3<sup>+</sup>Treg 细胞数目也同时增多。同时,Andaloussi 等<sup>[20]</sup>又在 C57 小鼠的恶性神经胶质瘤动物模型中,应用不同剂量的抗 CD25 单克隆抗体来降低 Treg 细胞的数量,结果发现去除 Treg 细胞后,机体肿瘤组织中浸润的淋巴细胞的杀伤作用增强;而且,Treg 细胞去除越完全肿瘤免疫治疗效果越好。这也解释了胶质瘤中为什么存在细胞免疫反应缺陷,说明了 Treg 细胞对胶质瘤的免疫反应具有一定的抑制作用。张冠华等<sup>[21]</sup>采用免疫组织化学双标记的方法检测 135 例胶质瘤组织和 15 例正常脑组中 TGF- $\beta$ 1 和 Treg 细胞 (CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) 的表达,结果:与正常脑组织相比,胶质瘤组织中 TGF- $\beta$ 1 表达、Treg 细胞的浸润明显增多,而且高级别胶质瘤组织中 TGF- $\beta$ 1 和 Treg 细胞的表达显著高于低级别,其总生存率也显著低于低水平组。说明 TGF- $\beta$ 1 和 Treg 细胞对胶质瘤患者的生存时间具有重要影响,胶质瘤组织中 TGF- $\beta$ 1 表达与 Treg 细胞的数量呈正相关,提示 TGF- $\beta$ 1 可能是胶质瘤组织中 Treg 细胞聚集的一个诱导因子或者是 Treg 细胞抑制肿瘤免疫所释放的一种免疫抑制因子;总之,失活 TGF- $\beta$ 1 可能为治疗胶质瘤提供一种新的

方法。Grauer 等<sup>[22]</sup>在鼠胶质瘤模型研究中发现,随着脑胶质瘤的不断生长,CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>Treg 在脑胶质瘤组织中也可以逐渐增多,还可以使 CD25、CTLA-4、GITR 和 CXCR 的表达上调;同时发现应用抗 CD25 单克隆抗体,可以使 CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>Treg 数量减少并增强 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞对胶质瘤细胞的杀伤作用。说明 CD4<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>Treg 可以通过抑制 T 细胞在胶质瘤免疫中的作用,其在体内的增多对肿瘤的免疫逃逸具有很大的影响。Jordan 等<sup>[23]</sup>通过 ELISA (酶联免疫吸附试验) 检测到胶质瘤可以分泌趋化因子 CCL2 并高表达趋化因子受体 CCR4;还证实了趋化因子 CCL2 和 CCL22 可以募集和扩增 Treg 细胞,但由于受到了实验取材的限制,欠缺一定的说服力;另外, Jordan 等还将化疗药物替莫唑胺和卡莫斯汀应用于 U-87 细胞的培养当中,ELISA 结果显示 CCL2 和 Treg 细胞数量都大量减少。所以,运用免疫疗法和化疗相结合的方法,可能对胶质瘤病人的治疗效果会更好。总之,Treg 细胞在胶质瘤领域中研究较少,其在胶质瘤免疫治疗中的应用还有待深入研究。

#### 5 小结

Treg 细胞以其独特的免疫抑制作用,在肿瘤的防治上有着巨大的价值。目前,对于 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 和肿瘤免疫之间的关系仍在探索之中。明确肿瘤机体内 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 增多的机制,以及寻找一条既能降低 Treg 细胞的免疫抑制作用,又能避免自身免疫性疾病发生的方法,是肿瘤免疫治疗上的一个重要问题。因此,研究机体肿瘤微环境的变化、Treg 细胞数量增高的原因、Treg 细胞抑制免疫攻击的机制以及寻找抑制或清除 Treg 细胞的有效方法是目前的重点。更进一步的研究可能会涉及蛋白质组学的研究,而不仅仅限于基因和细胞表型的分析上。目前在胶质瘤免疫治疗方面的研究还不完善,需要基础和临床的深入研究,进一步提高胶质瘤免疫治疗的疗效,而联合使用疫苗和化疗或许也会为胶质瘤的治疗带来新的进展。

#### 参 考 文 献

- [1] Berendt MJ, North RJ. T cell mediated suppression of anti-tumor immunity. An explanation for progressive growth of an immunogenic tumor. *J Exp Med*, 1980, 151 (1): 69-80.
- [2] 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.
- [3] Curiel TJ. Regulatory T cells and treatment of cancer. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20:241-246.
- [4] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, 2003, 299(5609):1057-1061.
- [5] 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.
- [6] Sasaki M, Ikeda H, Sawada S, et al. Naturally-occurring regulatory T cells are increased in inflamed portal tracts with cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol*, 2007, 60(10):1102-1107.
- [7] Thornton AM, Piccirillo CA, Shevach EM. Activation requirements for the induction of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cell suppressor function. *Eur J Immunol*, 2004, 34(2):366-376.
- [8] Oh KH, Lee C, Lee SW, et al. Activation of natural killer T cells inhibits the development of induced regulatory T cells via IFN $\gamma$ . *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 411(3):599-606.
- [9] Braga M, Quecchia C, Cavallucci E, et al. T regulatory cells in allergy. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24(1):55-64.
- [10] Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(4):263-274.
- [11] Shevach EM, DiPaolo RA, Andersson J, et al. The lifestyle of naturally occurring CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells. *Immunol Rev*, 2006, 212:60-73.
- [12] Enarsson K, Johnsson E, Lindholm C, et al. Differential mechanisms for T lymphocyte recruitment in normal and neoplastic human gastric mucosa. *Clin Immunol*, 2006, 118(1):24-34.
- [13] Grossman WJ, Verbsky JW, 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.
- [14] Liao LM, Prins RM, Kiertscher SM, et al. Dendritic cell vaccination in glioblastoma patients induces systemic and intracranial T-cell responses modulated by the local central nervous system tumor microenvironment. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(15):5515-5525.
- [15] Griffin DE. Immune responses to RNA-virus infections of the CNS. *Nature Reviews Immunology*, 2003, 3(6):493-502.
- [16] Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol*, 2005, 6(4):331-337.
- [17] Carrier R, Altman NH, Lopez DM. Downregulation of interleukin-7 and hepatocyte growth factor in the thymic microenvironment is associated with thymus involution in tumor-bearing mice. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58:2059-2072.
- [18] Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer. *Blood*, 2006, 108(3):804-811.
- [19] EL Andaloussi A, Lesniak MS. An increase in CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in tumor-infiltrating lymphocytes of human glioblastoma multiforme. *Neuro-Oncology*, 2006, 8(3):234-243.
- [20] EL Andaloussi A, Han Y, Lesniak MS. Prolongation of survival following depletion of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in mice with experimental brain tumors. *J Neurosurg*, 2006, 105(3):430-437.
- [21] 张冠华, 蒋小兵, 张湘衡等. 人脑胶质瘤组织中转化生长因子  $\beta 1$  表达与 Treg 浸润的关系. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(6):680-682.
- [22] Grauer OM, Nierkens S, Bennis E, et al. CD4<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells gradually accumulate in gliomas during tumor growth and efficiently suppress antitumor immune responses in vivo. *Int J Cancer*, 2007, 121:95-105.
- [23] Jordan JT, Sun W, Hussin SF, et al. Preferential migration of regulatory T cells mediated by glioma-secreted chemokines can be blocked with chemotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57:123-131.