

FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞介导机体的 肿瘤免疫逃逸研究进展

王雪梅 王丽萍

作者单位:130033 吉林市,吉林大学中日联谊医院病理科

通讯作者:王丽萍,E-mail:wangliping63@163.com

【摘要】 肿瘤的发生是通过多种途径引起机体免疫系统调节紊乱导致的,因此抗自身抗原的免疫反应保护机理可以使肿瘤细胞免于被自身免疫系统识别。而 FOXP3 作为 CD4⁺CD25⁺调节 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)表面的特征性标志,可以通过下调免疫活化细胞因子的表达和上调 Tregs 相关的细胞表面分子的表达赋予 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞免疫抑制功能,并有效抑制机体抗肿瘤免疫反应,参与肿瘤免疫逃逸。

【关键词】 FOXP3;CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞;免疫逃逸
doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.01.015

FOXP3 作为 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)表面的特征性标志物,是 Tregs 细胞发育和功能维持的关键因素,在维持机体免疫耐受和免疫应答稳态方面具有非常重要的作用。如果机体 FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞增多,则会导致机体免疫监视功能降低,肿瘤细胞发生抗免疫反应,从而导致肿瘤的发生、发展及转移。因此,本文就 FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞介导机体肿瘤免疫逃逸的研究进展作一综述。

1 免疫逃逸

自身免疫耐受是指机体的免疫系统具有识别、清除异己,而同时避免与机体本身的成份发生反应的能力^[1]。一些自身反应性 T 细胞能够逃避克隆消除,识别外周组织抗原,并且引起自身免疫反应^[2]。人体内 FOXP3 的突变导致 Tregs 细胞发育和功能受损,发生因免疫调节紊乱而引发系统性自身免疫病为特征的多种器官自身免疫功能紊乱综合征、甲状腺自身免疫性疾病、自身免疫性胃炎、炎症性肠病和 I 型糖尿病等^[3]。正常情况下,自身反应性 T 细胞出现在所有个体中,但仅有 5% 的人群发生自身免疫病,这是因为逃逸胸腺阴性选择的自身反应 T 细胞在外周进一步受到抑制,或以无变应性(功能性的不活化状态)存在,或与自身抗原相遇而被排除。体内有一类组织特异性抗原,其浓度不足以诱导初始 T 细胞发生耐受,不能导致应答克隆的消除,但其浓度足以活化效应性 T 细胞,而产生导致自身免疫性疾病的危险^[4]。这种自身应答 T 细胞克隆与相应组织抗原并存,在正常情况下,不引

起自身免疫性疾病的状态,称为免疫忽视。CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞是在机体整个免疫网络的负调节中发挥重要作用的一种 CD4⁺T 淋巴细胞亚群,CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞占胸腺和外周血 CD4⁺T 细胞的 5%~10%,该细胞对 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞的反应都有抑制作用,可抑制其增殖反应及杀伤功能^[5]。其在维持机体免疫自稳和防止自身免疫性疾病中发挥重要作用。过度的免疫忽视或免疫监控失调称之为免疫逃逸,是肿瘤发生的分子生物学基础。

2 FOXP3 基因及表达基因的调控

FOXP3 基因位于人染色体 Xp11.23-Xq13.3,属于叉头状/翼状螺旋转录调节因子家族成员,该家族的普遍特点是具有叉头状结构域,这个结构域是基因结合 DNA 的充分必要条件,其功能是参与对目的基因的调控^[6]。FOXP3 基因包含 11 个外显子和 10 个内含子,其 cDNA 全长 1869 bp,被看作是 Tregs 细胞的管家基因。

FOXP3 启动子 RACE 位于转录起始点上游约 6000 bp 处,是一个包含 TATA 和 CAAT 盒的 T 细胞特异性启动子。此外,FOXP3 启动子包含 6 个 NFAT/AP-1 结合位点,分别为 3 个 NF-κB 和 3 个 AP-1 结合位点,并且 FOXP3 启动子在人和其他不同种属中高度保守。该启动子经 TCR 驱动后促使启动子活化并表达 FOXP3。目前,虽然调控 FOXP3 基因表达的机制尚未完全阐明,但是多年来对 FOXP3 基因自身转录调节的研究还是取得了一定的成果。研究^[7]显示,TCR、IL-2R/STAT 信号通路、TGFβ/Smad 信号通路、NFAT 信号通路、前

列腺素 E2 等都可能通过不同途径影响 FOXP3 的表达。

3 FOXP3 编码蛋白结构与功能

FOXP3 基因的表达产物 FOXP3 蛋白 (又称 scurfin 蛋白), 相对分子质量约 48×10^3 , 由 431 个氨基酸组成。FOXP3 蛋白包含至少三个不同结构域: C 端有一个叉头状结构域, 叉头状结构域是 FOX 家族蛋白的共同特征, 对核定位和 DNA 结合起关键作用; N 末端有一个 C2H2 锌指蛋白、亮氨酸拉链序列和一个富含脯氨酸的区域。FOXP3 是 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的特异性生物标志物, 是 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞特异性的核转录因子, 并且是该细胞发育和行使功能的关键分子, 也是诱导 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞发育及生物学功能发挥的主调控因子, 具有下调免疫应答的功能。研究^[8]显示, FOXP3 可以通过下调免疫活化细胞因子 (IL-2、IL-4 和 IFN- γ 等) 的表达和上调 Tregs 细胞相关的细胞表面分子 (CD25、CTLA-4 和 GITR 等) 的表达来赋予 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞免疫抑制功能。

研究^[9]资料证实, FOXP3 主要表达于天然的 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞, 但是 FOXP3 蛋白也在肿瘤细胞中表达, 主要分布在肿瘤细胞核以及核周的胞浆内。逆转录病毒转导的 FOXP3 异位表达能够使 CD4⁺CD25⁺T 细胞获得 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的表型和功能。FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞能够抑制 TCR 介导的其他 CD4⁺T 细胞亚群的增殖和细胞因子的产生, 所以 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞是一类具有免疫抑制功能的 T 淋巴细胞亚群, 这些 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞对维持外周免疫耐受和防止自身免疫性疾病的发生占有重要地位。

4 FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的抑制作用机制

恶性肿瘤通过多种途径侵袭免疫系统, 一方面, 他们的异常生长使机体自身受到免疫系统的攻击和破坏; 另一方面, 他们来源于人体自身组织, 因此, 抗自身抗原的免疫反应保护机理可以使肿瘤细胞免于被自身免疫系统识别。CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Tregs 细胞在肿瘤患者体内显著增多, 并有效抑制了抗肿瘤免疫反应, 参与肿瘤免疫逃逸。

目前研究^[10-12]认为, FOXP3⁺Tregs 细胞发挥作用的可能机制有: 1) nTregs 细胞通过分泌 TGF- β 和 IL-10 等抑制性细胞因子的方式和细胞接触依赖的抑制途径, 发挥免疫抑制功能; 2) “空间竞争” 即通过与效应性细胞竞争性结合 IL-2, 或直接作用, 抑制其增殖并促进其无功能; 3) 通过表达颗粒酶、穿孔素直接杀伤免疫效应细胞 (T 细胞和 B 细胞); 4) “传染耐受” 诱导抗原提呈细胞, 向免疫耐受的方向发展; 5) 抑制免疫效应细胞向肿瘤局部微环境聚集, CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞对抗肿瘤免疫反应的整个过程都可能起一定的作用, 肿瘤局部微环境中聚集 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的是微环境免疫抑制网络形成的重要机制之一。多数肿瘤患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的数量显著升高, 从而强烈地抑制了机体的抗肿瘤免疫反应。

5 FOXP3⁺Tregs 细胞与肿瘤的发生、发展及预后

肿瘤通过众多途径破坏宿主体内的免疫监视和免疫清除功能。许多这样的机理最终可以导致肿瘤功能性 FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞在肿瘤组织局部的聚集。CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞具有抑制抗肿瘤免疫反应的功能, 在肿瘤患者外周血中, 其数量显著升高^[13]。所以, CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞数量升高的程度可以预示肿瘤患者生存期缩短的程度。

2001 年, Woo 等^[14]首次报道 Tregs 细胞在非小细胞肺癌及卵巢癌中比例增高及抑制效应细胞。到目前为止, 已经陆续发现胃癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌等众多恶性肿瘤组织及外周血中 Tregs 细胞增多的现象, 并且发现 Tregs 细胞与肿瘤的发生、发展、转移及预后相关^[15-17]。同样, FOXP3⁺Tregs 细胞在甲状腺髓样癌患者的外周血中升高有显著意义, 其免疫组化结果在淋巴结、甲状腺组织及癌组织中得到证实^[18]。Sato 等^[19]运用免疫组化方法对 117 例上皮细胞卵巢癌患者的肿瘤浸润淋巴细胞亚群进行分析发现, CD8⁺Tregs 细胞比例越高, 患者的预后生存期越长。Ladoire 等^[20]在对 56 例乳腺癌患者辅助化疗前后的 Tregs 细胞水平检测中发现, 只有那些化疗前 FOXP3⁺T 细胞低下和 CD8⁺T 细胞高的患者对辅助化疗才有良好的反应, 可见 Tregs 细胞对于肿瘤的预后也有着重要意义。Gao 等^[21]也对 302 例肝细胞癌患者的手术切除后组织进行免疫组化分析并做了相关预后生存分析, 发现肿瘤组织内的 Tregs 细胞与细胞毒性 T 细胞的比例平衡是预后能否复发的一个重要指标, 并提出手术后再进行去除 Tregs 细胞治疗并同时刺激效应性 T 细胞增殖反应的联合免疫治疗可能有利于减少复发和提高生存率。

越来越多的临床数据显示, 设法删除或阻断 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的功能是新型抗肿瘤免疫治疗策略中不可或缺的重要组成部分。众多研究资料已经证实, FOXP3 在 Tregs 细胞中主要表现为免疫抑制调节作用, 而 Tregs 细胞无疑直接或间接参与了肿瘤免疫逃逸过程的始末。

综上所述, FOXP3 在肿瘤患者外周血、癌组织及癌旁组织和转移淋巴结中的表达是有差异的, 如果通过测定其含量来对疾病的发生、发展、转归及预后进行预测, 那么将会给患者带来巨大的益处。FOXP3 对 CD4⁺CD25⁺Tregs 细胞的结构及功能的重要性是明确的, 但是 FOXP3 发挥作用的分子机制及功能还有待进一步探讨。

6 参考文献

- Xu YJ, Jiang CL, Zhang C, et al. Screening of candidate proteins interacting with Foxp382 by yeast two-hybrid system. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 2010, 26: 642-645.
- Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, et al. Liver involvement in patients with systemic autoimmune diseases. Maedica (Buchar), 2013, 8: 394-397.

3 Morris GP, Brown NK, Kong YC. Naturally-existing CD4 (+)CD25 (+)Foxp3 (+)regulatory T cells are required for tolerance to experimental autoimmune thyroiditis induced by either exogenous or endogenous autoantigen. *J Autoimmun*, 2009, 33:68-76.

4 Ziegler SF, Buckner JH. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect*, 2009, 11:594-598.

5 Pan XD, Mao YQ, Zhu LJ, et al. Changes of regulatory T cells and FoxP3 gene expression in the aging process and its relationship with lung tumors in humans and mice. *Chin Med J (Engl)*, 2012, 125: 2004-2011.

6 Gong XD, Yuan HH, Wang JY, et al. Effects of AG1478 on the expression of FOXM1 gene via FOXO3a in non-small cell lung cancer cells. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2013, 35:572-578.

7 Horwitz DA, Pan S, Ou JN, et al. Therapeutic polyclonal human CD8+ CD25+ Fox3+ TNFR2+ PD-L1+ regulatory cells induced ex-vivo. *Clin Immunol*, 2013, 149:450-463.

8 Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol*, 2005, 6:331-337.

9 Wang L, Xie Y, Zhu LJ, et al. An association between immunosenescence and CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells: a systematic review. *Biomed Environ Sci*, 2010, 23:327-322.

10 Hossain DM, Panda AK, Manna, et al. FoxP3 acts as a cotranscription factor with STAT3 in tumor-induced regulatory T cells. *Immunity*, 2013, 39:1057-1069.

11 Emamgholipour S, Emamgholipour S, Hossein-nezhad A, et al. Adipocytokine profile, cytokine levels and foxp3 expression in multiple sclerosis: a possible link to susceptibility and clinical course of disease. *PLoS One*, 2013, 8:e76555.

12 He YQ, Bo Q, Yong W, et al. FoxP3 genetic variants and risk of non-small cell lung cancer in the Chinese Han population. *Gene*, 2013, 531:422-425.

13 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, 39:272-285.

14 Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, et al. Regulatory CD4(+)/CD25(+) T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. *Cancer Res*, 2001, 61:4766-4772.

15 Hiraoka N, Onozato K, Kosuge T, et al. Prevalence of FOXP3+ regulatory T cells increases during the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma and its premalignant lesions. *Clin Cancer Res*, 2006, 12:5423-5434.

16 Miller AM, Lundberg K, Ozenci V, et al. CD4+CD25+high T cells are enriched in the tumor and peripheral blood of prostate cancer patients. *J Immunol*, 2006, 177:7398-7405.

17 Gokmen-Polar Y, Thorat MA, Sojitra P, et al. FOXP3 expression and nodal metastasis of breast cancer. *Cell Oncol (Dordr)*, 2013, 36: 405-409.

18 Müller S, Poehnert D, Müller JA, et al. Regulatory T cells in peripheral blood, lymph node, and thyroid tissue in patients with medullary thyroid carcinoma. *World J Surg*, 2010, 34:1481-1487.

19 Sato E, Olson SH, Ahn J, et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102:18538-18543.

20 Ladoire S, Amould L, Apetoh L, et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating foxp3+ regulatory T cells. *Clin Cancer Res*, 2008, 14:2413-2420.

21 Gao Q, Qiu SJ, Fan J, et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J Clin Oncol*, 2007, 25:2586-2593.

(收稿日期:2014-01-17)

(本文编辑:张志成)

(上接第 20 页)

795-801.

10 蒋海兵, 刘鹏, 盘利莉. 血清 CA19-9、CA242、CA125 及 CEA 检测在胆管癌中的诊断价值. *湖南师范大学学报 (医学版)*, 2011, 8: 59-61.

11 霍蓉晖, 吴静, 刘雄昌. 胆管癌的影像学、组织细胞学及肿瘤标记

物检测的对比性研究. *中国医学理论与实践*, 2006, 7:39-43.

12 Rattanasinganchan P, Leelawat K, Treepongkaruna S-a, et al. Establishment and characterization of a cholangiocarcinoma cell line (RMCCA-1) from a Thai patient. *World Journal of Gastroenterology*, 2006, 40:6500-6506.

(收稿日期:2014-01-26)

(本文编辑:陈淑莲)