

调节性 T 细胞免疫疗法在自身免疫疾病治疗和移植免疫中的应用

张温乐, 于怡萌, 雷轶, 戴雪喻, 李斌*

(上海交通大学医学院上海市免疫学研究所, 上海 200025)

[摘要] 调节性 T 细胞 (Treg) 在抑制靶向自身抗原的免疫细胞的活性以及控制自身免疫病导致的炎症中起到十分重要的作用, 通过 Treg 细胞扩增, 以及其免疫抑制功能的手段来治疗自身免疫疾病和器官移植颇具前景。目前, Treg 细胞疗法在移植抗宿主病 (GVHD)、自身免疫病的表现受到广泛关注, 其治疗潜力正在多项自身免疫病相关的临床试验中获得验证。通过对 Treg 细胞疗法在自身免疫病和器官移植中的应用进展进行综述, 以期 Treg 细胞疗法的研究提供参考。

[关键词] 调节性 T 细胞; 嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法; 自身免疫病; 移植抗宿主病

[中图分类号] R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2023) 01-0035-08

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2023.01.004

Application of Treg Cell Immunotherapy in the Treatment of Autoimmune Diseases and Transplantation Immunity

ZHANG Wenle, YU Yimeng, LEI Yi, DAI Xueyu, LI Bin

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

[Abstract] Regulatory T cells (Treg) play an important role in inhibiting the activity of immune cells targeting self-antigens and controlling inflammation caused by autoimmune diseases. Expanding Treg cells and taking advantage of their immunosuppressive function are promising means for the treatment of autoimmune diseases and organ transplantation. Currently, Treg cell therapy in graft-versus-host disease (GVHD) and autoimmune diseases has received wide attention, and its therapeutic potential is being verified in a number of clinical trials related to autoimmune diseases. The application advances of Treg cell therapy in autoimmune diseases and organ transplantation are reviewed in order to provide some reference for the research on Treg cell therapy.

[Key words] regulatory T cells; chimeric antigen receptor T cell immunotherapy; autoimmune disease; graft-versus-host disease

调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 是一类高表达白细胞介素 (interleukin, IL)-2 受体 α 链 (CD25) 和转录因子叉头状蛋白 P3 (forkhead box P3, FOXP3) 的 CD4⁺ T 淋巴细胞亚群。Treg 细胞能够调控中枢和外周耐受性, 抑制其他免疫细胞的免疫应答, 在维持机体免疫稳态中发挥重要作用^[1]。大量研究证实, Treg 细胞稳态和功能影响一系列自身免疫疾病、急性器官移植免疫排斥的发生、发展。现在 Treg 细胞疗法包括多克隆 Treg 细胞疗法、工程化 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR)-Treg 细胞

疗法和嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR)-Treg 细胞疗法等^[2]。目前研究认为, 抗原特异性 Treg 细胞具有抗原特异性, 更易于迁移到含有特异性抗原的靶器官, 抑制作用优于多克隆 Treg 细胞^[3]。此外, CAR-Treg 细胞由于其不受主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 限制, 对 IL-2 依赖性较低等优点也使得 Treg 细胞疗法的应用更为广泛^[4]。本文对 Treg 细胞疗法在自身免疫病和器官移植中的应用进行总结和讨论, 以期 Treg 细胞疗法的研究提供参考。

接受日期: 2022-09-10

* 通信作者: 李斌, 研究员, 博士生导师;

研究方向: T 细胞免疫调控机制、肿瘤免疫、自身免疫及抗感染免疫;

Tel: 021-63846590-776785; E-mail: binli@shsmu.edu.cn

1 Treg 细胞的发育和抑制功能

1.1 Treg 细胞的可塑性和发育特征

随着单细胞测序技术的发展, Treg 细胞被发现在发育过程、组织微环境中具有高度异质性, 不

同的亚群具有其特殊的分子标志物和状态特征。研究显示, 脂肪 Treg 细胞中高表达 ST2 或 CD73 亚型, 在脂肪组织响应胰岛素信号和胰岛素抵抗糖尿病发生、发展中发挥重要作用^[5]。根据细胞发育与组织分布特征, 体内 Treg 细胞可以分为胸腺中的 tTreg 细胞, 在外周中的由 Tcon 细胞分化来的 pTreg 细胞, 以及在细胞因子 IL-2 和转化生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β) 存在时, 经由抗原诱导产生的 iTreg 细胞^[6]。相比于其他效应 T 细胞通过糖酵解途径分化和维持其特定功能, Treg 细胞的分化和成熟需要经历 FOXP3 介导的代谢重编程, 从而利用脂肪酸氧化途径产生代谢物和能量^[7]。除此以外, Treg 细胞中 FOXP3 的多个转录、表观遗传机制影响 FOXP3 的转录和蛋白稳定性, 例如 *FOXP3* 基因上保守的非编码序列 CNS2, 其中的 Treg 特异性去甲基化区域能招募 FOXP3、CREB 等转录因子来稳定 FOXP3 自身的转录, 而乙酰化、泛素化等翻译后修饰机制也能够影响 FOXP3 的功能和稳定性, 从而影响 Treg 细胞的发育和正常抑制功能^[8]。

1.2 Treg 细胞的抑制功能

Treg 细胞能通过直接抑制和旁观抑制的方式发挥免疫耐受作用。在直接抑制中, Treg 细胞以抗原特异性的方式抑制靶细胞; 在旁观抑制中, 由于与抗原特异性应答的距离很近, 针对一种抗原的特异性 Treg 细胞也能抑制针对其他抗原的免疫应答, 这种抗炎反应能够恢复免疫耐受并维持免疫稳态^[9-10]。Treg 细胞的抑制功能主要通过细胞间接触依赖的作用机制以及分泌抑制性细胞因子来实现, 如通过细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)、淋巴细胞活化基因 3 蛋白 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 等抑制受体直接接触靶细胞或分泌抗炎细胞因子 IL-10、IL-35 和 TGF- β 来抑制免疫反应, Treg 细胞也通过表面 IL-2 高亲和力受体 CD25 与效应 T 细胞竞争性地结合 IL-2, 导致效应 T 细胞缺失存活必需的 IL-2 信号, 进而发生凋亡^[11]。另有研究发现, Treg 细胞还能通过作用于树突状细胞 (dendritic cell, DC), 影响 DC 细胞的成熟和功能表达, 干扰 T 细胞的激活,

从而介导免疫抑制^[12]。

2 Treg 细胞治疗

2.1 Treg 细胞回输疗法

Treg 细胞回输治疗是将自体 Treg 细胞体外扩增后回输至患者疾病部位, 从而更好地发挥免疫抑制功能以治疗相关疾病。Treg 细胞治疗需要大量的细胞进行改造与回输, 首要问题就是 Treg 细胞的来源、纯化与扩增。由于 pTreg 在 *Foxp3* 基因表观修饰和效应分子表达上稳定性更差, 并不适合作为细胞治疗的原料; 而通过初始 CD4 阳性 T 细胞 (Naive CD4⁺ T 细胞) 诱导得到的 iTreg 细胞以及 tTreg 细胞, 在体外也具有良好的增殖能力和稳定的抑制功能, 多用于适合细胞治疗的体外扩增, 从而获得大量具有抑制功能的 Treg 细胞, 实现细胞回输治疗^[13-17]。自体 Treg 细胞回输已经被证实能改善溃疡性结肠炎和胆管炎疾病症状^[18]; 而在 1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM)、系统性红斑狼疮等多种自身免疫疾病中进行的临床试验也证实, 回输体外扩增的 Treg 细胞在体内依然具有稳定的抑制能力并能够缓解组织炎症^[19-20]。

然而, 多克隆 Treg 细胞回输也存在着一些弊端。首先, 为达到相同的治疗效果, 相较于单克隆 Treg 回输, 多克隆 Treg 细胞的回输需要更多的细胞数量; 其次, 由于多克隆 Treg 细胞不针对某一特定的抗原, 因此其可能对机体整体的免疫水平产生破坏, 从而导致感染或肿瘤风险的增加^[21]。如何在保证 Treg 细胞回输治疗疗效的前提下, 确保 Treg 细胞回输的安全性仍然是一个不小的挑战。

2.2 CAR-Treg 细胞疗法

CAR 是一种人工受体, 它的基本结构由可以特异性结合抗原的胞外段和可以进行信号转导的胞内段组成。近年来, 随着人们对 T 细胞的工程化改造的深入研究, CAR 的结构越来越复杂, 功能也逐渐强大。CAR 最常见的胞外段是单链可变区片段 (ScFv), 它是由一段连接肽连接起抗体的轻链、重链可变区组成^[22]。然而, 单链抗体获得的难度较大, 限制了上述 CAR 的应用, 因此有研究人员设计了胞外段为自然抗体构型的 CAR, 它由两条链组成,

被称作双链 CAR (dcCAR), 包含了免疫球蛋白轻链、重链及其恒定区, 在一些情况下, 这种 dcCAR 比含单链可变区的 CAR 更为稳定^[23]。此外, 最近有研究提出了一种新型的抗原识别区域可变的 CAR, 即 SUPRA CAR, 它可以实现在不重新设计 CAR 的情况下切换抗原识别区域, 从而变更靶细胞; SUPRA CAR 应用了一个转接器-标签系统, 靶向抗原的特异性抗体上连有通用的标签 (往往是生物素 /FITC/亮氨酸拉链), 而胞外段 CAR 则是这些标签特异性的抗体, 充当“转接器”的作用, 通过调节 CAR 分子对标签的亲和力, 可以对其介导的细胞激活强度进行微调^[24]。除了对胞外段的改造, 发挥信号转导作用的胞内段也经历了更新与优化。第一代 CAR 的胞内段只包含 CD3 ζ 结构域, 第二代 CAR 在此基础上增添了一个额外的共刺激结构域 (CD28 或 CD137), 而第三代 CAR 则结合了 CD28 和 CD137 两个共刺激结构域, 激活信号由 CD3 ζ 产生, 而共刺激分子则增强了 T 细胞因子的产生、生存和进一步增殖的能力。第四代 CAR 在第三代 CAR 原有功能的基础上还额外增加了调节 T 细胞分泌细胞因子的功能, 作用于 CAR-Treg, TGF- β , IL-10 等细胞因子, 从而增强 Treg 细胞抑制功能^[3,25]。

CAR 结构的改造对 CAR-Treg 细胞的体外增殖和功能表达同样有重要意义。在嵌合抗原受体-传统 T 细胞 (chimeric antigen receptor-conventional T cell therapy, CAR-Tconv) 的应用中, 抗原非依赖性信号转导会导致进行性的 CAR-T 失活与耗竭, 从而限制 CAR-T 的功能; 在 CAR-Treg 中, 4-1BB 共刺激结构域 (co-stimulatory domains, CSD) 相关的抗原非依赖性信号转导在细胞激活和增殖方面会产生比 CAR-Tconv 更显著的影响, 且与 CD28 CAR-Treg 相比, 4-1BB CAR-Treg 表现出谱系稳定性和抑制能力的下降, 但若将 4-1BB CAR-Treg 在体外扩增过程中短暂暴露于 mTOR 抑制剂和维生素 C 中, 则可以改善 4-1BB CAR-Treg 在体内的功能和过继转移后的增殖效果, 降低抗原非依赖性信号带来的负面影 响^[26]。另外, 与自体回输 Treg 细胞疗法一样, CAR-Treg 细胞疗法除了需要工程化改造 Treg 细胞外, 也需要对 Treg 细胞进行体外诱导和增殖。相关

研究表明, 在体内 CD4⁺ CD25^{hi} CD127^{low} Treg 细胞中存在 CD45RA⁺ 和 CD45RO⁺ 两群 Treg 细胞, 表达 CD45RO 的细胞在后续体外的增殖、诱导过程中的效率和稳定性都强于表达 CD45RA 的 Treg 细胞^[27]。嵌合抗原受体改造 Treg 细胞治疗过程及关键点, 见图 1。

3 Treg 细胞疗法在自身免疫疾病中的应用

自身免疫病是指由于免疫细胞识别自身抗原, 从而导致免疫耐受和免疫稳态被破坏的疾病。多个研究已经证实, Treg 细胞在系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、T1DM 等自身免疫病中起着至关重要的作用^[28-29]。研究发现, Treg 细胞主要调控因子 FOXP3 突变而影响 Treg 功能, 导致免疫功能失调、多发性内分泌病、炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 及免疫失调-多内分泌腺病-肠病-X 连锁综合征 (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome, IPEX) 等严重的自身免疫疾病^[30]。因此, Treg 细胞疗法在自身免疫疾病的治疗中具有极为重要的意义, 近年来有较多研究聚焦于其在 T1DM 与 IBD 方面的应用。

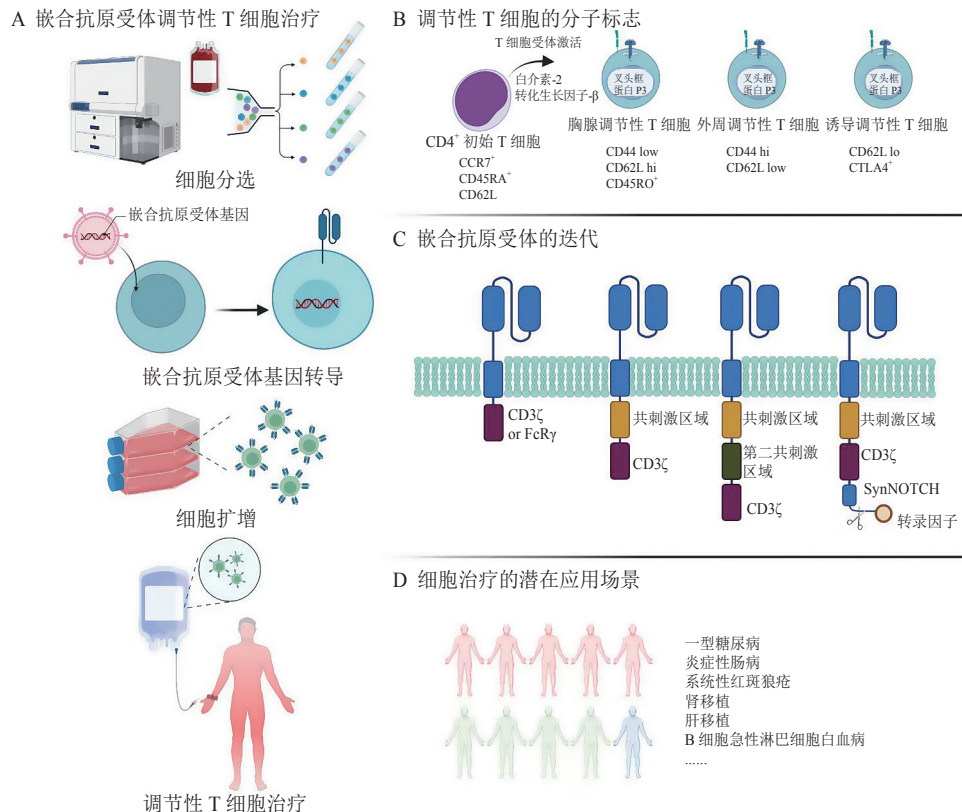
3.1 1 型糖尿病

T1DM 是一种由于自身免疫细胞识别并破坏胰岛 β 细胞, 导致胰岛素缺乏而产生的自身免疫病。多项研究表明, 在非肥胖糖尿病 (non-obese diabetic, NOD) 小鼠中, 胰岛素为自身免疫细胞识别的主要靶标^[31]。在 T1DM 患者中也发现, Treg 细胞的免疫抑制功能有一定程度的降低^[32]。在 NOD 小鼠构建的 T1DM 模型中发现, Treg 细胞的发育、功能以及谱系稳定性均发生改变, 从而导致了 Treg 细胞的失能; NOD 小鼠胰岛中浸润的主要细胞群 Tbet⁺Treg 细胞的缺失会加速糖尿病的发生, 提示其在抗胰岛自身免疫治疗中可能发挥重要作用^[33]。

Treg 细胞疗法在 T1DM 的治疗中前景广阔。在 T1DM 动物模型中, 输注扩增的抗原特异性 Treg 细胞在阻断和逆转糖尿病方面显示出良好的效果^[34]。另有研究利用 TCR 改造的 Treg 细胞回输, 证实了特异性 TCR (如谷氨酸脱羧酶、胰岛特异性等) 的

Treg 细胞回输能抑制抗原特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的增殖^[35]。但由于 TCR 改造的 Treg 细胞疗法的应用受到 MHC 限制, 因此后续研究多集中于开发针对其他糖尿病抗原的 CAR-Treg 细胞疗法。通过将第二代 CAR 和 *FOXP3* 基因转导到 CD4⁺ T 细胞的方式可制备胰岛素特异性 CAR-Treg 细胞。胰岛

素特异性 CAR-Treg 细胞具有与天然 Treg 细胞相似的表型, 并且也能在体外抑制抗原特异性 T 细胞, 但其回输至 NOD 小鼠后未在体内发现 CAR-Treg 细胞^[36]。因此如何改造 Treg 细胞, 使得 CAR-Treg 细胞回输后保持稳定性和有效的抑制能力仍需进一步探索。



CCR7: 趋化因子受体 7; CTLA4: 细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4

A: 嵌合抗原受体调节性 T 细胞治疗流程图; B: CD4 阳性 T 细胞的分子标志; C: 嵌合抗原受体结构的发展; D: Treg 细胞疗法的潜在应用场景

图 1 嵌合抗原受体改造 Treg 细胞治疗

Figure 1 Chimeric antigen receptor-modified Treg cell therapy

综上所述, 基于 Treg 细胞的免疫治疗能够重新平衡免疫系统, 逆转 T1DM 的疾病表型, 但如何解决 Treg 细胞功能的复杂性和稳定性, 以及找到效果更好、更安全的 CAR-Treg 细胞疗法仍是未来需要解决的难题。

3.2 炎症性肠病

IBD 是以胃肠道慢性炎症为特征的自身免疫病。其中, 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 是最常见的 IBD 类型。在 CD 中, 整个胃肠道的所有层都可能受到炎症的

影响, 而在 UC 中, 炎症主要发生在结肠黏膜中^[37]。研究表明, 肠道菌群与免疫反应之间的失衡可能是造成 IBD 的重要诱因^[38]; 其中, Treg 细胞在维持肠道免疫稳态中发挥重要作用, 而肠道中 Treg 细胞数量减少与 IBD 无明显相关性, 但是 Treg 细胞抑制活性缺乏的小鼠更容易产生肠道炎症^[39]。

在小鼠肠炎模型中, Treg 细胞回输治疗取得了良好的疗效, 靶向肠炎抗原的 Treg 细胞不仅在体外有效抑制了效应 T 细胞增殖, 也在回输治疗后减轻了肠炎症状并且延长了小鼠生存期^[40]。癌胚抗原

(carcinoembryonic antigen, CEA) 是在结肠炎和结肠癌中表达的抗原。有研究构建了 CEA 特异性的 CAR-Treg 细胞, 用于治疗结直肠癌和结直肠癌癌症, 发现 CEA 特异性 CAR-Treg 在体外能保持稳定性和抑制功能, 回输后归巢至结直肠部位并减轻了小鼠结直肠癌症状, 延长了小鼠生存期^[41]。在临床试验中, 目前 IBD 细胞疗法主要是自体 Treg 回输治疗, CAR-Treg 细胞回输还不多见。目前, 有两项正在开展的临床试验 (NCT04691232 和 NCT03185000) 用于评估 Treg 细胞治疗 IBD 的安全性和有效性, 方案是通过自体 Treg 细胞体外扩增后回输^[42]。

4 Treg 细胞疗法在器官移植排斥中的应用

器官移植是许多器质性疾病后期治疗的最终手段, 能够使病人获得更好的预后和生存周期。由于移植器官的免疫原性, 受体的免疫系统往往会识别出移植体的非己特征, 效应细胞发起针对异体器官的排斥和清除, 破坏移植体的结构与机体的稳态; 同时, 移植物的免疫细胞也会攻击宿主, 产生移植体抗宿主病 (graft versus host disease, GVHD)。

为了获得更好的生存周期与预后, 免疫抑制药物被广泛应用于器官移植的免疫耐受维持。免疫抑制药物主要靶向效应 T 细胞的激活过程——抗原呈递细胞 (antigen presenting cell, APC) 识别与第一激活信号、APC 识别与第二激活信号、APC 识别与扩增信号等 3 个环节, 从而抑制效应 T 细胞的活化、增殖及杀伤功能, 但在抑制 CTL 和 T_H17 细胞的同时, Treg 细胞也可能相同地受到影响, 无法实现精准治疗^[43-45]。后续研究中, CD25 单抗、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 抑制剂等药物也逐步被作为移植相关的免疫抑制药物, 从而增强 Treg 细胞的抑制功能, 提示毒性更低的 Treg 细胞治疗具有治疗器官移植的可行性和前景^[43,46-48]。

Treg 细胞作为免疫负调控细胞, 能够广泛地抑制先天免疫和适应性免疫的过度活化。多项临床前试验探究了 Treg 细胞治疗器官移植排斥与 GVHD 的抑制效果与安全性^[49-52]。Trzonkowski 等^[49]发表了首例 Treg 细胞治疗 GVHD 的研究,

采集患者外周血中后分离 T 细胞, 体外扩增并按照 CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 的标准筛选后回输到急性与慢性 GVHD 患者体内, 从而证实细胞治疗对慢性 GVHD 患者的治疗效果与优势更加明显, 急性 GVHD 患者症状仅短暂减缓但仍然强于免疫抑制药物。Brunstein 等^[50]利用第三方的脐带血诱导扩增获得 Treg 细胞, 并扩大了移植实验的例数, 证实在脐带血移植的成人中输注 Treg 细胞不仅不会增加机会性感染和血液系统恶性肿瘤复发的风险, 反而提高了患者的生存率, 降低了 GVHD 的发生率。在 Treg 细胞治疗器官移植的临床前试验中, 无论是否利用特异抗原在体外进行扩增刺激, 输注到体内的 T 细胞均会通过 TCR 受体与体内特异性抗原识别, 从而产生特异性的筛选与扩增^[53]。然而, 多克隆 Treg 和单克隆 Treg 群体的治疗效果仍然有所不同, 具有同种抗原识别位点的单克隆 Treg 相比于多克隆 Treg 具有更强的抑制移植排斥的能力^[54-55]。

CAR-T 技术的发展促进了利用 CAR-Treg 细胞治疗移植免疫排斥的临床试验的展开。HLA-A2 是引起免疫排斥的主要分子靶点, CAR-HLA-A2 Treg 能够显著减弱移植体引起的炎症与排斥, 促进机体对移植体的免疫耐受, 并且在防止供体 T 细胞引起的 GVHD 方面优于多克隆 Treg 细胞, 表明在避免移植排斥方面 CAR-Treg 细胞治疗具有优势^[56-57]。然而, 目前利用 Treg 细胞治疗器官移植的适应人群仍然有限, 如果受体发生过供体抗原的初次免疫, 移植器官作为二次刺激将引起更强的免疫排斥, 此时的 CAR-Treg 细胞治疗无法减弱再次免疫的强度^[56]。相似地, Treg 细胞治疗实验中发现了同样现象, 记忆 T 细胞的存在阻止了 Treg 细胞抑制炎症的作用和耐受建立, 而 Treg 细胞治疗与免疫抑制药物的联用成功减少了排斥反应^[58]。

研究显示, Treg 细胞治疗能够与传统的免疫抑制药物产生协同作用, 通过减少药物的剂量、种类等来降低不良反应, 实现药物的早期戒断, 为患者提供可持续性的、低毒性的治疗方案^[53,58-59]。目前, CAR Treg 治疗已经得到较大发展, Sangamo Therapeutics 公司快速推动了 HLA-A2 CAR-Treg 细胞——TX200 产品的在体试验, TX200 在人源化小

鼠上的皮肤移植实验中得到了 3 个月追踪的良好结果, 获得了移植物的免疫耐受并且 CAR-Treg 细胞表型稳定, 近期已开展检测 TX200 有效性和安全性的临床试验^[60-61]。目前, 其他开展的 Treg 细胞疗法相关临床试验如表 1 所示。

表 1 部分 Treg 细胞疗法相关临床试验

Table 1 Some clinical trials related to Treg cell therapy

疾病种类	临床试验阶段	来源
肌萎缩侧索硬化症	I/II 期	NCT04055623
1 型糖尿病	II 期	NCT02691247
1 型糖尿病	I/II 期	NCT02932826
克罗恩病	I/II 期	NCT03185000
克罗恩病	II 期	NCT02327221
COVID-19	I 期	NCT04468971
肝移植	I 期	NCT02166177
肝移植	I/II 期	NCT05234190
肾移植	I 期	NCT04817774
肾移植	I 期	NCT02711826
急性 GVHD	I 期	NCT00602693

COVID-19: 新型冠状病毒感染; GVHD: 移植物抗宿主病

综上所述, 受体对再次免疫的移植物有较强的免疫识别与清除能力, 这使得 Treg 细胞治疗效果不

显著, 这一现象强调了术前针对移植受体的抗原提呈细胞、记忆细胞、特异性抗体等免疫指标的多方面检测与评估的重要性和必要性。

5 结语与展望

目前, 免疫细胞疗法已经在多种疾病的治疗中崭露头角, 尤其是 CAR-T 细胞疗法在血液瘤治疗中凸显了巨大潜力, CAR-T 的技术正在经历优化与提高, 其中可替换抗原识别区域的通用的 SUPRA-CAR 和 CRISPR/Cas9 技术也为 CAR-T 的发展提供了新的方向。Treg 细胞疗法在自身免疫性疾病和 GVHD 中显示出的疗效和独特地位使其成为当前免疫细胞疗法研究中的热点。现有的 CAR-Treg 细胞疗法除了需要解决安全性、稳定性等问题之外, 也应该考虑 CAR-Treg 细胞在特定微环境中的效应情况。未来对 CAR-Treg 细胞疗法的研究应当根据不同疾病特点, 组合不同共刺激因子或细胞因子结构域, 调整 CAR-Treg 细胞的持续性和功能性, 从而达到安全、特异并且持续的免疫治疗效果。

[参考文献]

- [1] 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]. *J Immunol*, 1995, 155 (3): 1151-1164.
- [2] Arjomandnejad M, Kopec A L, Keeler A M. CAR-T regulatory (CAR-Treg) cells: engineering and applications[J/OL]. *Biomedicine*, 2022, 10 (2): 287[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8869296/>. DOI: 10.3390/biomedicine10020287.
- [3] Zhang Q, Lu W, Liang C L, et al. Chimeric antigen receptor (CAR) Treg: a promising approach to inducing immunological tolerance[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2359[2022-09-10]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02359>.
- [4] Rosado-Sanchez I, Levings M K. Building a CAR-Treg: going from the basic to the luxury model[J/OL]. *Cell Immunol*, 2020, 358: 104220[2022-09-10]. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2020.104220>.
- [5] Li Y, Lu Y, Lin S H, et al. Insulin signaling establishes a developmental trajectory of adipose regulatory T cells[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22 (9): 1175-1185.
- [6] Ohkura N, Sakaguchi S. Transcriptional and epigenetic basis of Treg cell development and function: its genetic anomalies or variations in autoimmune diseases[J]. *Cell Res*, 2020, 30 (6): 465-474.
- [7] Michalek R D, Gerriets V A, Jacobs S R, et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets[J]. *J Immunol*, 2011, 186 (6): 3299-3303.
- [8] Shi H, Chi H. Metabolic control of Treg cell stability, plasticity, and tissue-specific heterogeneity[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2716[2022-09-10]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02716>.
- [9] Miller A, Lider O, Weiner H L. Antigen-driven bystander suppression after oral administration of antigens[J]. *J Exp Med*, 1991, 174 (4): 791-798.
- [10] Thornton A M, Shevach E M. CD4⁺ CD25⁺ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production[J]. *J Exp Med*, 1998, 188 (2): 287-296.
- [11] Wing J B, Tanaka A, Sakaguchi S. Human FOXP3(+) regulatory T cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer[J]. *Immunity*, 2019, 50 (2): 302-316.
- [12] Muth S, Klaric A, Radsak M, et al. CD27 expression on Treg cells limits immune responses against tumors[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2022, 100 (3): 439-449.

- [13] Kanamori M, Nakatsukasa H, Okada M, *et al.* Induced regulatory T Cells: their development, stability, and applications[J]. *Trends Immunol*, 2016, 37 (11): 803–811.
- [14] Sakaguchi S, Vignali D, Rudensky A, *et al.* The plasticity and stability of regulatory T cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6): 461–467.
- [15] Dawson N a J, Levings M K. Antigen-specific regulatory T cells: are police CARs the answer?[J]. *Transl Res*, 2017, 187: 53–58.
- [16] Schmidl C, Delacher M, Huehn J, *et al.* Epigenetic mechanisms regulating T-cell responses[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142 (3): 728–743.
- [17] Motwani K, Peters L D, Vliegen W H, *et al.* Human regulatory T cells from umbilical cord blood display increased repertoire diversity and lineage stability relative to adult peripheral blood[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 611[2022-09-10]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00611>
- [18] Voskens C, Stoica D, Rosenberg M, *et al.* Autologous regulatory T-cell transfer in refractory ulcerative colitis with concomitant primary sclerosing cholangitis[J]. *Gut*, 2022, 72(1), 49–53.
- [19] Dall'era M, Pauli M L, Remedios K, *et al.* Adoptive Treg cell therapy in a patient with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71 (3): 431–440.
- [20] Marek-Trzonkowska N, Mysliwiec M, Dobyszuk A, *et al.* Therapy of type 1 diabetes with CD4⁺ CD25^{high} CD127-regulatory T cells prolongs survival of pancreatic islets-results of one year follow-up[J]. *Clin Immunol*, 2014, 153 (1): 23–30.
- [21] Brunstein C G, Blazar B R, Miller J S, *et al.* Adoptive transfer of umbilical cord blood-derived regulatory T cells and early viral reactivation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19 (8): 1271–1273.
- [22] Eshhar Z, Waks T, Gross G, *et al.* Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90 (2): 720–724.
- [23] Faitschuk E, Nagy V, Hombach AA, *et al.* A dual chain chimeric antigen receptor (CAR) in the native antibody format for targeting immune cells towards cancer cells without the need of an scFv[J]. *Gene Ther*, 2016, 23 (10): 718–726.
- [24] Cho J H, Collins J J, Wong W W. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses[J]. *Cell*, 2018, 173 (6): 1426–1438. e1411.
- [25] Mchayleh W, Bedi P, Sehgal R, *et al.* Chimeric antigen receptor T-cells: the future is now[J]. *J Clin Med*, 2019, 8 (2): 207[2022-09-10]. <https://doi.org/10.3390/jcm8020207>.
- [26] Lamarthée B, Marchal A, Charbonnier S, *et al.* Transient mTOR inhibition rescues 4-1BB CAR-Tregs from tonic signal-induced dysfunction[J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 6446[2022-09-10]. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26844-1>.
- [27] Imura Y, Ando M, Kondo T, *et al.* CD19-targeted CAR regulatory T cells suppress B cell pathology without GvHD[J]. *JCI Insight*, 2020, 5 (14): e136185[2022-09-10]. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.136185>.
- [28] Bending D, Pesenacker A M, Ursu S, *et al.* Hypomethylation at the regulatory T cell-specific demethylated region in CD25^{hi} T cells is decoupled from FOXP3 expression at the inflamed site in childhood arthritis[J]. *J Immunol*, 2014, 193 (6): 2699–2708.
- [29] Valencia X, Yarboro C, Illei G, *et al.* Deficient CD4⁺ CD25^{high} T regulatory cell function in patients with active systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol*, 2007, 178 (4): 2579–2588.
- [30] Bennett C L, Christie J, Ramsdell F, *et al.* The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3[J]. *Nat Genet*, 2001, 27 (1): 20–21.
- [31] Nakayama M, Abiru N, Moriyama H, *et al.* Prime role for an insulin epitope in the development of type 1 diabetes in NOD mice[J]. *Nature*, 2005, 435 (7039): 220–223.
- [32] Mcclymont S A, Putnam A L, Lee M R, *et al.* Plasticity of human regulatory T cells in healthy subjects and patients with type 1 diabetes[J]. *J Immunol*, 2011, 186 (7): 3918–3926.
- [33] Tan T G, Mathis D, Benoist C. Singular role for T-BET⁺ CXCR3⁺ regulatory T cells in protection from autoimmune diabetes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113 (49): 14103–14108.
- [34] Tang Q, Henriksen K J, Bi M, *et al.* *In vitro*-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes[J]. *J Exp Med*, 2004, 199 (11): 1455–1465.
- [35] Yeh W I, Seay H R, Newby B, *et al.* Avidity and bystander suppressive capacity of human regulatory T cells expressing de novo autoreactive T-cell receptors in Type 1 diabetes[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1313[2022-09-10]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01313>.
- [36] Tenspolde M, Zimmermann K, Weber L C, *et al.* Regulatory T cells engineered with a novel insulin-specific chimeric antigen receptor as a candidate immunotherapy for type 1 diabetes[J]. *J Autoimmun*, 2019, 103: 102289[2022-09-10]. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.05.017>.
- [37] Baumgart D C, Sandborn W J. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies[J]. *Lancet*, 2007, 369 (9573): 1641–1657.
- [38] Kamada N, Seo S U, Chen G Y, *et al.* Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13 (5): 321–335.
- [39] Rubtsov Y P, Rasmussen J P, Chi E Y, *et al.* Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces[J]. *Immunity*, 2008, 28 (4): 546–558.
- [40] Elinav E, Waks T, Eshhar Z. Redirection of regulatory T cells with

- predetermined specificity for the treatment of experimental colitis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134 (7): 2014–2024.
- [41] Blat D, Zigmund E, Alteber Z, *et al.* Suppression of murine colitis and its associated cancer by carcinoembryonic antigen-specific regulatory T cells[J]. *Mol Ther*, 2014, 22 (5): 1018–1028.
- [42] Qu G, Chen J, Li Y, *et al.* Current status and perspectives of regulatory T cell-based therapy[J]. *J Genet Genomics*, 2022, 49 (7): 599–611.
- [43] Parlakpınar H, Gunata M. Transplantation and immunosuppression: a review of novel transplant-related immunosuppressant drugs[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2021, 43 (6): 651–665.
- [44] Daniel V, Trojan K, Opelz G. Immunosuppressive drugs affect induction of IFN γ Treg *in vitro*[J]. *Hum Immunol*, 2016, 77 (1): 146–152.
- [45] Camirand G, Riella L V. Treg-centric view of immunosuppressive drugs in transplantation: a balancing act[J]. *Am J Transplant*, 2017, 17 (3): 601–610.
- [46] Bergström M, Müller M, Karlsson M, *et al.* Comparing the effects of the mTOR Inhibitors Azithromycin and Rapamycin on *in vitro* expanded regulatory T Cells[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28 (12): 1603–1613.
- [47] Huijts C M, Schneiders F L, Garcia-Vallejo J J, *et al.* mTOR Inhibition Per Se Induces nuclear localization of FOXP3 and conversion of invariant NKT (iNKT) Cells into immunosuppressive regulatory iNKT cells[J]. *J Immunol*, 2015, 195 (5): 2038–2045.
- [48] Consonni F, Favre C, Gambineri E. IL-2 signaling axis defects: how many faces?[J/OL]. *Front Pediatr*, 2021, 9: 669298[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8282996/>. DOI: 10.3389/fped.2021.669298.
- [49] Trzonkowski P, Bieniaszewska M, Juścińska J, *et al.* First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127- T regulatory cells[J]. *Clin Immunol*, 2009, 133 (1): 22–26.
- [50] 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[J]. *Blood*, 2011, 117 (3): 1061–1070.
- [51] Theil A, Tuve S, Oelschlägel U, *et al.* Adoptive transfer of allogeneic regulatory T cells into patients with chronic graft-versus-host disease[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17 (4): 473–486.
- [52] Dijke I E, Hoeppli R E, Ellis T, *et al.* Discarded human thymus is a novel source of stable and long-lived therapeutic regulatory T cells[J]. *Am J Transplant*, 2016, 16 (1): 58–71.
- [53] Roemhild A, Otto N M, Moll G, *et al.* Regulatory T cells for minimising immune suppression in kidney transplantation: phase I/IIa clinical trial[J/OL]. *BMJ*, 2020, 371: m3734[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7576328/>. DOI: 10.1136/bmj.m3734.
- [54] Sagoo P, Ali N, Garg G, *et al.* Human regulatory T cells with alloantigen specificity are more potent inhibitors of alloimmune skin graft damage than polyclonal regulatory T cells[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2011, 3 (83): 83ra42[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3776382/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002076.
- [55] Sagoo P, Lombardi G, Lechler R I. Relevance of regulatory T cell promotion of donor-specific tolerance in solid organ transplantation[J/OL]. *Front Immunol*, 2012, 3: 184[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3395995/>. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00184.
- [56] Sicard A, Lamarche C, Speck M, *et al.* Donor-specific chimeric antigen receptor Tregs limit rejection in naive but not sensitized allograft recipients[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20 (6): 1562–1573.
- [57] Macdonald K G, Hoeppli R E, Huang Q, *et al.* Alloantigen-specific regulatory T cells generated with a chimeric antigen receptor[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (4): 1413–1424.
- [58] Siepert A, Ahrlich S, Vogt K, *et al.* Permanent CNi treatment for prevention of renal allograft rejection in sensitized hosts can be replaced by regulatory T cells[J]. *Am J Transplant*, 2012, 12 (9): 2384–2394.
- [59] Atif M, Conti F, Gorochoy G, *et al.* Regulatory T cells in solid organ transplantation[J/OL]. *Clin Transl Immunology*, 2020, 9 (2): e01099[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7036337/>. DOI: 10.1002/cti2.1099.
- [60] Proics E, David M, Mojibian M, *et al.* Preclinical assessment of antigen-specific chimeric antigen receptor regulatory T cells for use in solid organ transplantation[J/OL]. *Gene Ther*, 2022[2022-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35931871/>. DOI: 10.1038/s41434-022-00358-x.
- [61] Schreeb K, Culme-Seymour E, Ridha E, *et al.* Study design: human leukocyte antigen class I molecule A*02-chimeric antigen receptor regulatory T cells in renal transplantation[J]. *Kidney Int Rep*, 2022, 7 (6): 1258–1267.



【专家介绍】李斌: 二级研究员、余瀛学者、上海交大特聘教授、国家基金委免疫学杰青、上海市领军人才、上海市优秀学科带头人, 上海市免疫学研究所科研副所长 & 课题组长, 普米斯生物联合创始人 & 科学委员会主席, 中国细胞生物学会科学普及工作委员会主任 & 免疫细胞生物学分会副会长、欧美同学会上海生物医药分会会长。 *Sci Bull* 副主编(2018)、*Cell Mol Immunol* 编委(2018)、*Eur J Immunol* 执行副主编(2020)、JGG 编委(2020)。

主要研究方向: 免疫调节、FOXP3+ Treg、肿瘤免疫、自身免疫、移植免疫、抗感染免疫及免疫代谢与疾病等。2009年回国工作以来, 在国际学术刊物如 *Immunity*、*Nat Immunol*、*Nat Metab*、*PNAS*、*Nat Comms*、*Gastroenterology*、*J Biol Chem*、*J Immunol cutting edge*、*J Virol*、*PLoS Pathogens*、*EMBO Rep* 等发表或接受发表通讯及共同通讯作者文章 60 余篇。