

天然型调节性 T 细胞发育分化的研究进展

陈辉 赵勇*

(中国科学院动物研究所生物膜与膜生物工程国家重点实验室移植生物学研究组, 北京 100101)

摘要 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(Treg)对维持自身免疫耐受及调控免疫应答水平发挥非常重要的作用. Treg 的缺失或紊乱导致如多发性硬化症、1 型糖尿病等自身免疫性疾病的发生. 研究发现, Treg 在肿瘤免疫、感染免疫和移植免疫耐受中也发挥关键作用. 根据来源不同, 可将 Treg 分为胸腺来源的天然型 Treg(natural Treg)和外周诱导型 Treg(induced Treg)两群. 天然型 Treg(nTreg)是由胸腺发育分化成熟的, nTreg 存在于胸腺 CD4 单阳性细胞中, 表达 CD4、CD25 及叉头转录因子 Foxp3, 主要通过细胞与细胞之间直接接触发挥免疫抑制功能. 研究表明, nTreg 在胸腺中发育分化受到十分复杂的细胞、分子网络调控. 胸腺微环境、T 细胞受体、共刺激分子、IL-2 等信号都可影响 nTreg 的发育分化. 本文将主要对胸腺 nTreg 的发育分化过程及分子调控等方面进行综述.

关键词 nTreg, Foxp3, CD25, 胸腺, 免疫耐受

学科分类号 R392.12

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00535

免疫系统在维持机体对外来病原菌的反应和内稳态中发挥重要作用, 免疫系统紊乱将导致病原微生物的入侵和自身免疫病的发生. CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)是具有免疫抑制功能的一群 T 细胞, 主要作用为维持自身免疫耐受及负向调节机体对病原体和肿瘤等免疫应答, 广泛存在于淋巴器官及非淋巴器官中, Treg 细胞数量和功能的降低会导致自身免疫耐受缺陷, 从而产生自身免疫病^[1]. 相反, Treg 细胞活性的过度增加会抑制内源性抗肿瘤反应, 导致恶性肿瘤的发生^[2]. 叉头转录因子 Foxp3 对天然型 Treg(natural Treg, nTreg)的产生及维持 nTreg 的免疫表型和免疫抑制功能至关重要^[3]. 外周初始 T 细胞(Naive T 细胞)可以被诱导表达 Foxp3, 从而获得 Treg 的功能, 这些细胞称为转化的或诱导的 Treg (induced Treg, iTreg), iTreg 可以通过分泌抑制性细胞因子(如 TGF- β 、IL-10 等)发挥免疫抑制作用. 近年来研究表明, nTreg 在抗肿瘤及自身免疫性疾病中发挥重要作用^[4]. 尽管已知 nTreg 在胸腺中发育分化受到十分复杂的细胞与分子网络调控, 但调控 nTreg 在胸腺中发育分化的详尽机制仍待进一步研究和阐明. 本文将主要对 nTreg 的发育分化及其调

控免疫反应等方面进行综述.

1 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nTreg 的胸腺起源

Nishizuka 与 Sakakura 最早证实, 新生小鼠胸腺切除术(出生后 2~4 天)可导致器官特异性免疫疾病的发生, 而过继转移成熟的同源 T 细胞可以阻止自身免疫病的倾向. Sakaguchi 等^[5]定义了这群表达 CD4⁺CD25⁺ 胸腺细胞为 nTreg. 正常胸腺不断产生自身反应性 CD4⁺ 效应性 T 细胞, 同时也产生可以抑制它们的 nTreg 细胞. 研究证实, 出生后 1~2 天胸腺就会出现 CD4⁺CD25⁺ 胸腺细胞(不具备 Treg 活性, 不表达 Foxp3), Foxp3 是在出生后 3~4 天才开始表达. 胸腺起源的 nTreg 在 3 天后会迁移到外周, 维持外周免疫耐受^[6]. 在肠道疾病中, 遇到肠道共生细菌抗原时, iTreg 发挥重要的免疫效应^[7]. 当剔除胸腺产生的 nTreg 后, 增强 T 细胞对自身抗原的免疫反应, 机体表现出自身免疫病倾向^[8]. nTreg 除了表达 CD4 和 CD25 之外, 还共表

* 通讯联系人.

Tel: 010-64807302, E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn

收稿日期: 2013-02-21, 接受日期: 2013-04-24

达 Foxp3. Foxp3 是叉头样转录因子家族中的成员, 在调节 nTreg 的发育和功能中发挥重要作用. Foxp3 缺失小鼠不能产生 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞, 并且会发生炎症疾病^[9]. 另外, 关于 Foxp3 初始表达的阶段和受调控的机制还有争议, 利用共表达新的自身抗原和对新自身抗原特异性的 MHC II 限制性 T 细胞抗原受体转基因小鼠研究发现, 在双阳性阶段就会有 Foxp3⁺ 的 nTreg 前体细胞产生^[10]. 关于此方面已有大量文章报道, nTreg 的来源已经相对明了, 但是 nTreg 前体细胞特异性表达 Foxp3 的阶段还有待阐明.

2 介导 nTreg 在胸腺中发育的微环境

在胸腺中, nTreg 主要在纤维隔和髓质区聚集, 而在胸腺皮质中只发现少量 nTreg 细胞. 目前, 对于 nTreg 细胞在胸腺皮质或髓质区进行阳性选择的认识尚有分歧. 有研究结果显示, nTreg 前体最初是在胸腺皮质上皮细胞进行选择^[11], 但它们的成熟和增殖却依赖髓质细胞的选择. 另一些学者认为, nTreg 细胞在胸腺髓质环境中发育, 识别选择性表达在髓质上皮细胞的组织抗原. 缺乏成熟髓质胸腺上皮细胞阻断 nTreg 细胞发育分化^[12]. 但是, 自身免疫调控子(autoimmune regulator, AIRE) 缺失小鼠患自身免疫性疾病, 而 nTreg 细胞水平却是正常的, AIRE 缺失对 nTreg 细胞 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)库并无明显影响. 在胸腺中呈递 MHC II 类分子的细胞类型还有争议, 目前认为主要是由胸腺里的树突状细胞(tDC)和胸腺髓质上皮细胞(mTEC)发挥呈递抗原的作用. 而粒细胞、B 细胞、巨噬细胞等是否对这一过程发挥作用还是未知. 特别是胸腺髓质, 阴性选择的主要场所, 提供了 nTreg 发育的特定微环境. 有报道, 胸腺皮质上皮细胞(cTEC)也会为 nTreg 发育提供信号, 上调 nTreg^[13]. 胸腺 mTEC 表达免疫调节子 AIRE, 可以加工自身组织抗原为 MHC 分子肽段, 呈递给胸腺细胞, 也可以转移给胸腺中的 DC, 发挥抗原提呈细胞的作用^[14]. 实验表明, 在人的胸腺中哈氏小体(Hassall's corpuscles), 即胸腺小体表达的胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)能激活胸腺中的 mDC 和 pDC, 表达高水平的 CD80 和 CD86 及趋化因子 CCL-22 和 CCL-17. 这些 DC 能诱导胸腺 CD4⁺CD25⁻ 增殖分化为 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ nTreg, 使胸腺细胞从阴性选择转变为对 nTreg 的阳性选择, 这个诱导过程依赖于 MHC II 抗原肽的相互作

用以及 CD80 和 CD86 的存在, 并且还需要 IL-2 的刺激^[15]. 根据 DC 起源不同分成 CD8^{low}Sirpalpha⁺ 和 CD8^{hi}Sirpalpha⁻ DC 两类, 其中后者起源于造血系统, 后迁移至胸腺, 而前者在体外却拥有更强的诱导 Treg 的能力^[16]. 有研究发现, 胸腺中存在由胸腺细胞分泌的外来样颗粒(ELPs), ELPs 可以诱导胸腺中 CD4⁺CD25⁻ T 细胞转化为 nTreg, 并且转化后的 nTreg 在体内和体外都可以发挥正常的抑制功能^[17]. 在人类中胸腺来源的 nTreg 根据是否表达 ICOS 被分为两群, 其中 ICOS⁺ 的 Treg 分泌 IL-10 来抑制 DC, 分泌 TGF- β 来抑制 T 细胞的功能, ICOS⁻ 的 Treg 则是只利用 TGF- β 来发挥抑制功能^[18]. nTreg 在胸腺中的发育阶段已经基本明了, 但其与自反应性 T 细胞的相互关系和选择性机制等还有待研究. 此外, 除了 DC 与 TEC, 是否还有其他细胞, 如巨噬细胞、中性粒细胞等参与到 nTreg 的发育分化过程中也需要进一步去研究和探索.

3 TCR 文库与 nTreg

nTreg 识别的是广谱的自身抗原. Treg 细胞与非 Treg 细胞的 TCR 谱与多样性之间可能具有差异^[19]. 也有对 TCR 谱的研究发现, Treg 细胞与非 Treg 细胞的 TCR 谱在很大程度上是重叠的, 当胸腺细胞表达任何一种 TCR 谱时, 都会被 APC 激活. 直到今天 TCR 特异性对 nTreg 发育分化的影响仍存争议^[7]. 人的 nTreg 会表达两种不同的 V α 链, 两种 TCR 都可以传递信号, 同时表达两种 TCR 会比表达单一 TCR 的细胞表达更多的 Foxp3, 也更趋向于发育成为 nTreg 细胞^[20]. TCR 谱和抗原特异性之间的关系还不清楚. TCR 在 nTreg 发育过程中发挥着重要的作用. 目前研究普遍认为, nTreg 在胸腺发育和选择过程中需要比阳性选择高、比阴性选择低的 TCR 亲和力才不会被选择剔除, 从而成为 nTreg. TCR 谱的多样性对 nTreg 发挥抑制功能也非常重要, TCR 多样性对 nTreg 维持自身免疫耐受的重要性还不甚明了. 有研究发现, 向易患自身免疫性疾病的 IL-2R β 敲除鼠过继具有高度多样性 TCR 的 T 细胞后, 会使小鼠免受该类疾病的侵袭^[21]. TCR 谱的特异性对 nTreg 在胸腺中的选择和发育非常重要, 并且其特异性和自反应性在维持 nTreg 介导的免疫耐受和自身免疫病中都发挥作用, 但是在相关领域还存在不同的假说和争论.

4 调控 nTreg 发育分化的分子通路

nTreg 细胞在胸腺内发育分化的信号调控网络

还不完全清晰, 但 TCR、共刺激分子及多种细胞因子下游的信号分子都被证明参与这一重要调节过程(图 1).

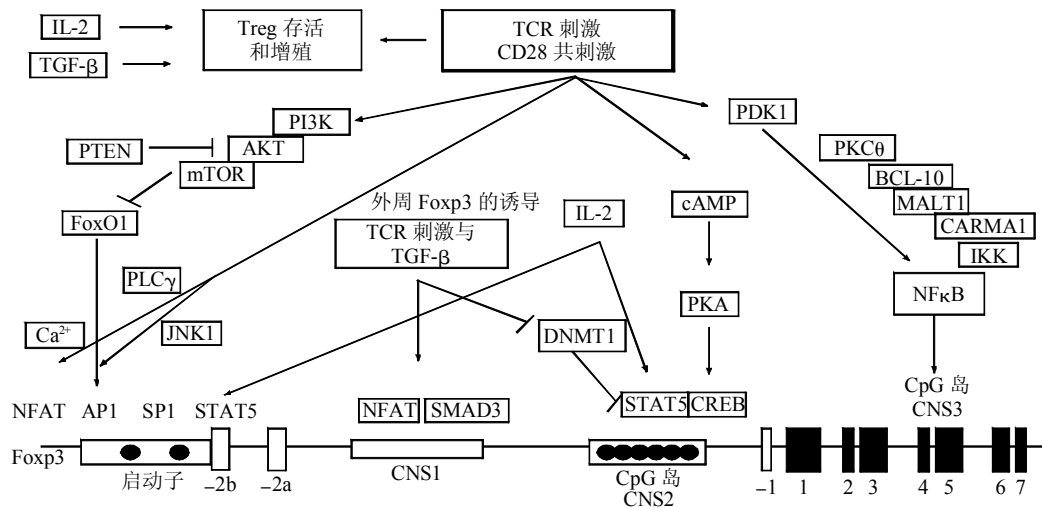


Fig. 1 Molecular mechanisms of thymic Treg cell development

图 1 调控 nTreg 发育的相关信号通路

4.1 TCR 与共刺激分子相关信号途径

TCR 特异性和亲和力是调控 nTreg 发育分化的决定因素, 一般认为, 只有表达对自身抗原具有适度亲和力(介于阳性选择和阴性选择中间)的 TCR 胸腺细胞才会分化为 nTreg. 有研究显示, TCR 转基因小鼠比如 DO11.10 小鼠的胸腺中并不存在 CD4⁺CD25⁺nTreg 细胞, 因为这种小鼠的 TCR 特异识别的是外来抗原鸡卵蛋白而不是自身抗原. 因此, 只有在同时表达相应抗原和特异识别该抗原的 TCR 小鼠中才会启动 nTreg 的发育分化^[21]. 如果表达对同一抗原低亲和性的 TCR, 也不能产生 CD4⁺CD25⁺nTreg 细胞. 这提示胸腺细胞一旦与抗原结合, 其是否发育为 CD4⁺CD25⁺nTreg 细胞取决于 TCR 与抗原肽的亲和力^[23]. TCR 下游信号通路部分分子在 nTreg 发育分化中发挥重要作用. 应用基因剔除小鼠等模型研究表明, TCR 信号通路分子 p56^{lck}、p59^{fyn}、LAT、SAP-1 对 nTreg 发育无明显影响, 而 ZAP-70、PLCγ1、RasGRP1、Raf 缺失会降低 nTreg 发育分化. Vav-1 缺失则促进 nTreg 细胞发育分化(表 1), 提示 TCR 下游分子在 nTreg 发育分化中发挥不同作用. nTreg 在胸腺发育分化可能通过 TCR、CD28 及细胞因子共同参与介导的

两步分化成熟过程实现^[24]. 通常, 在双阳性细胞阶段表达一个与自身抗原具有较高亲和力的 TCR 将进行阴性选择, 而无法发育分化为 CD4 单阳性效应细胞. 但是, 在部分双阳性细胞阶段表达一个与自身抗原具有较高亲和力 TCR 将发育分化为早期 TregCD4 单阳性表型, 表现为 CD4⁺CD25⁺GITR^{high}Foxp3⁻, 该阶段依赖于 TCR 与 MHC II 自身抗原肽及 CD28 与 B7 的共同参与^[25]. 一些 Treg 前体也会在胸腺髓质发生阴性选择并被剔除. 这些阳性选择的 Treg 前体在 IL-2 和 / 或 IL-15 的作用下进一步发育分化为功能成熟的 Treg. 实验表明, IL-2^{-/-}、IL-2R^{-/-}和 γc 链^{-/-}小鼠缺乏 nTreg 发育分化严重缺陷, 产生自身免疫病, 说明 IL-2 等细胞因子可能是 nTreg 细胞形成和发挥作用的关键信号^[26]. 研究表明, CD28 分子对于在胸腺内 nTreg 细胞的发育和在外周 nTreg 细胞稳定都具有重要的调节作用. 在 nTreg 细胞整个生命过程中, CD28 可能在两个不同的阶段影响 nTreg 的发展. 首先, 未成熟的胸腺前体细胞转化成为 nTreg 细胞时, 需要强大的 TCR 的刺激; 另外, 一旦 nTreg 细胞出现在胸腺环境中, CD28 分子的联合刺激可以促进 nTreg 细胞的自我更新和生存, 从而维持一个稳定的外周

nTreg 细胞库^[27]。有意思的是, 在 CD28 小鼠或 CD80/CD86 双剔除小鼠中, Treg 细胞数量明显减少, 同样, 如果应用 B7 封闭抗体注入小鼠, 也可产生相似的结果, 导致 Treg 细胞数量减少 50%, 与此同时自身免疫性疾病明显恶化。此外, CTLA4 组成性高表达于 Treg 细胞, 虽然 CTLA4 在 Treg 细胞中准确的生物学作用还不清楚, 但是 CTLA4^{-/-}小鼠也可产生严重致命性淋巴细胞增殖综合征, 说明 CTLA4 对 Treg 细胞的产生和功能维持具有一定作用。此外, 共刺激分子 CD40 会与激活 T 细胞表面的 CD154 分子结合, 会促进 nTreg 的扩增^[28]。

Table 1 TCR signaling molecules in thymic Treg cell development

表 1 TCR 下游分子对 nTreg 发育分化的影响

TCR 下游分子	对 nTreg 发育分化作用	参考文献
P56lck	无作用	[29]
P59fyn	无作用	[29]
LAT	无作用	[30]
SAP-1	无作用	[31]
Zap-70	促进	[32]
PLC γ -1	促进	[33]
RasGRP1	促进	[34]
Raf	促进	[31]
Vav-1	抑制	[35]
PKC θ	抑制	[33]
PTPN22	抑制	[36]

4.2 NF- κ B 信号途径

在 TCR 信号途径的下游, NF- κ B 被认为是决定胸腺细胞定向分化为 nTreg 的重要信号分子。应用基因缺失小鼠模型研究结果表明, 多种参与此信号通路的分子如果发生突变, 都会导致胸腺内 nTreg 严重的发育分化缺陷, 如 I κ B kinase β (I κ B β) 突变引起胸腺内 nTreg 比例及细胞数明显降低^[37]。蛋白激酶 PKC θ 受到 TCR 信号的刺激后会激活 CARD-containing MAGUK protein 1 (CARMA1)、B cell lymphoma 10 (BCL 10) 以及 MALT-1 组成的复合物, 从而使下游的 I κ B β 磷酸化, 同样, TGF- β -activated kinase 1 (TAK1) 也可以促进其磷酸化, 使 NF- κ B 复合物解离, 转录因子 c-Rel 入核, 结合到 Foxp3 的 CNS3 区上, 调控 Foxp3 表达。同样, 持续活化 NF- κ B 的胸腺细胞能诱导更多的 nTreg 分化^[38]。

4.3 Akt-mTOR 信号途径

Akt-mTOR 通路作为细胞内代谢的中枢调控途径, 在 iTreg 的诱导分化过程中发挥重要调节功能。雷帕霉素作为 mTOR 通路的特异抑制剂, 在体内、体外都可以选择性扩增小鼠和人的 CD4⁺CD25⁺Treg, 而且这群 Treg 表达 Foxp3, 具有免疫抑制活性。Akt-mTOR 既可以被 TCR 信号通路激活, 也参与共刺激分子及细胞因子下游的信号转导, 是 T 细胞发育及活化调控的关键点。Liu 等^[39]发现, Sphingosine 1-phosphate (S1P) 可以抑制胸腺内 nTreg 的产生及其功能。T 细胞特异缺失 S1PR1 的小鼠胸腺中产生更多的 nTreg, 而 S1PR1 转基因小鼠却拥有比正常小鼠少的 nTreg。进一步研究发现, S1PR1 的过表达启动更强的 Akt-mTOR 活性, 因此, 雷帕霉素处理 S1PR1 转基因小鼠可以恢复 nTreg 的数量及免疫抑制功能。AKT 可以抑制 FoxO1 和 FoxO3 入核与 Foxp3 的启动子结合, 从而负调控 Foxp3 基因的转录。最近有文献报道, mTORC2 组成分子 Sin 的缺失也会使胸腺 nTreg 水平升高, 其发生机制没有完全阐明, 但是不依赖于 Akt 的活性^[40]。

4.4 IL-2-STAT5 信号途径

IL-2 受体信号会激活 T 细胞内一系列信号通路, 包括 MAPK、PI3K、STAT5 等。而在 Treg 细胞中, STAT5 是主要的信号通路, 因为 PI3K 等被 Treg 内高水平的 PTEN 所抑制。小鼠缺失 STAT5 后, Treg 会缺失, 这一点与 IL-2 和 IL-2R 缺失类似。并且, 在 IL-2 受体 β 链缺失小鼠体内过表达有活性的 STAT5 后, 会恢复胸腺细胞 Foxp3 的表达^[41]。STAT5 通过结合在 Foxp3 的启动子和 CNS2 区, 抑制 CNS2 区 CpG 岛的甲基化来直接调控 Foxp3 的表达。IL-2 家族的细胞因子(如 IL-15、IL-7)可以通过 STAT5 信号途径和 IL-2 受体 γ 链来上调 Foxp3, 促进 Treg 的存活。我们实验室的部分研究结果表明, 免疫抑制剂环孢素 A 和雷帕霉素体内处理小鼠, 会改变胸腺 nTreg 的比例, 并且在移植模型中发挥重要作用, 这可能是通过影响 IL-2 下游信号造成的(未发表)。

4.5 TGF- β 信号途径

大量研究证明, TGF- β 对于外周初始 T 细胞向 iTreg 的诱导分化具有不可或缺的作用, 主要是通过活化 Smad3 并诱导 Foxp3 的表达。而 TGF- β 可以保护 nTreg 的凋亡, 因为 TGF- β 受体缺陷的小鼠胸腺细胞内表达很高水平的促凋亡分子 Bim、

Bak 和 Bax, 同时抗凋亡分子 Bcl-2 的表达水平很低, 这种促凋亡分子与抗凋亡分子的不平衡就导致了自身反应性的胸腺细胞或者已经分化的 CD4⁺CD25⁺nTregs 大量凋亡, 表明 TGF- β 可以促进胸腺内 nTreg 的存活. 在 TGF- β 受体缺失的小鼠中, 早期 nTreg 缺失, 2 周之后水平增加, 这可能是由于 TGF- β 信号缺失, 无法对 IL-2 促 Treg 增殖的过程造成抑制^[42]. TGF- β 对于胸腺 nTreg 发育的影响仍有争论, 也有报道认为它会拮抗阴性选择来促进 nTreg 的存活^[43].

4.6 NF-AT 相关信号途径

激活的 T 细胞核因子 NF-AT 途径, 是钙离子信号的下游, TCR 信号激活后会激活 PKC θ 和 PLC γ , 释放三磷酸肌醇, 使胸腺细胞中内质网钙离子释放, 从而激活钙信号, 使 NF-AT 入核, 与 Foxp3 的启动子结合, 诱导 Foxp3 的表达^[33]. 最新研究发现, NF-AT 入核调节 Foxp3 可能不通过钙调蛋白的作用^[44]. 并且抑制 Src 家族磷酸化的酪氨酸磷酸酶 PTPN22 缺失也可以促进胸腺 nTreg 的产生, 这是通过 TCR 下游钙信号的激活实现的, 这些过程可能都与内质网上的钙信号感受器有关, 也可能影响着 NF-AT 信号通路, 但具体机制仍有待探讨^[36]. 而自身反应性 TCR 通过阳性选择成为 nTreg 细胞与效应 T 细胞引起阴性选择的 TCR 亲和力到底有何不同, 细胞怎样逃避胸腺阴性选择进而分化成为 nTreg, 目前仍不清楚, 有待进一步探索.

5 结 语

对 nTreg 的研究有利于人为进行有效的免疫调控, 在治疗自身免疫性疾病、移植耐受、肿瘤免疫等方面均有重要的意义. 研究表明, nTreg 细胞具有抑制自身反应性 T 细胞、阻止自身免疫性疾病的发生、维持自身免疫耐受等功能. nTreg 受到的胸腺内环境和分子调控通路已经越来越清晰, 但人们对 nTreg 在胸腺的产生过程、分化发育及其影响因素的认识还相当有限, 科学家们还在寻找 nTreg 特异性的标志和功能. 至今, nTreg 在生理和病理情况下发挥的免疫抑制功能和外周 Treg 有何不同还是未知. 越来越多的研究结果在于阐明 nTreg 发育分化的复杂网络结构. 相信在不久的将来, 随着对 nTreg 研究的不断深入, 必然会对免疫耐受和移植免疫等方面产生巨大的推动作用.

参 考 文 献

- [1] Hsieh C S, Lee H M, Lio C W. Selection of regulatory T cells in the thymus. *Nat Rev Immunol*, 2012, **12**(3): 157-167
- [2] Bergmann C, Wild C A, Narwan M, *et al.* Human tumor-induced and naturally occurring Treg cells differentially affect NK cells activated by either IL-2 or target cells. *Eur J Immunol*, 2011, **41**(12): 3564-3573
- [3] Rudensky A Y. Regulatory T cells and Foxp3. *Immunol Rev*, 2011, **241**(1): 260-268
- [4] Wainwright D A, Sengupta S, Han Y, *et al.* Thymus-derived rather than tumor-induced regulatory T cells predominate in brain tumors. *Neuro Oncol*, 2011, **13**(12): 1308-1323
- [5] 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
- [6] d'Hennezel E, Ben-Shoshan M, Ochs H D, *et al.* FOXP3 forkhead domain mutation and regulatory T cells in the IPEX syndrome. *N Engl J Med*, 2009, **361**(17): 1710-1713
- [7] Haribhai D, Williams J B, Jia S. *et al.* A requisite role for induced regulatory T cells in tolerance based on expanding antigen receptor diversity. *Immunity*, 2011, **35**(1): 109-122
- [8] Nunes-Cabaco H, Caramalho I, Sepulveda N, *et al.* Differentiation of human thymic regulatory T cells at the double positive stage. *Eur J Immunol*, 2011, **41**(12): 3604-3614
- [9] Bettini M L, Pan F, Bettini M, *et al.* Loss of epigenetic modification driven by the foxp3 transcription factor leads to regulatory T cell insufficiency. *Immunity*, 2012, **36**(5): 717-730
- [10] Cabarrocas J, Cassan C, Magnusson F, *et al.* Foxp3⁺ CD25⁺ regulatory T cells specific for a neo-self-antigen develop at the double-positive thymic stage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(22): 8453-8458
- [11] Bensinger S J, Bandeira A, Jordan M S, *et al.* Major histocompatibility complex class II-positive cortical epithelium mediates the selection of CD4^{(+)25⁽⁺⁾} immunoregulatory T cells. *J Exp Med*, 2001, **194**(4): 427-438
- [12] Lio C W, Hsieh C S. Becoming self-aware: the thymic education of regulatory T cells. *Curr Opin Immunol*, 2011, **23**(2): 213-219
- [13] Takahama Y, Nitta T, Mat Ripen A, *et al.* Role of thymic cortex-specific self-peptides in positive selection of T cells. *Semin Immunol*, 2010, **22**(5): 287-293
- [14] Wirmsberger G, Hinterberger M, Klein L. Regulatory T-cell differentiation versus clonal deletion of autoreactive thymocytes. *Immunol Cell Biol*, 2011, **89**(1): 45-53
- [15] Spadoni I, Iliev I D, Rossi G, *et al.* Dendritic cells produce TSLP that limits the differentiation of Th17 cells, fosters Treg development, and protects against colitis. *Mucosal Immunol*, 2012, **5**(2): 184-193

- [16] Roman E, Shino H, Qin F X, *et al.* Cutting edge: Hematopoietic-derived APCs select regulatory T cells in thymus. *J Immunol*, 2010, **185**(7): 3819–3823
- [17] Wang G J, Liu Y, Qin A, *et al.* Thymus exosomes-like particles induce regulatory T cells. *J Immunol*, 2008, **181**(8): 5242–5248
- [18] Ito T, Hanabuchi S, Wang Y H, *et al.* Two functional subsets of FOXP3⁺ regulatory T cells in human thymus and periphery. *Immunity*, 2008, **28**(6): 870–880
- [19] Daniely D, Kern J, Cebula A, *et al.* Diversity of TCRs on natural Foxp3⁺ T cells in mice lacking Aire expression. *J Immunol*, 2010, **184**(12): 6865–6873
- [20] Cozzo Picca C, Simons D M, Oh S, *et al.* CD4⁽⁺⁾CD25⁽⁺⁾Foxp3⁽⁺⁾ regulatory T cell formation requires more specific recognition of a self-peptide than thymocyte deletion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(36): 14890–14895
- [21] Adeegbe D, Matsutani T, Yang J, *et al.* CD4⁽⁺⁾ CD25⁽⁺⁾ Foxp3⁽⁺⁾ T regulatory cells with limited TCR diversity in control of autoimmunity. *J Immunol*, 2010, **184**(1): 56–66
- [22] Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, *et al.* Thymus and autoimmunity: production of CD25⁺CD4⁺ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol*, 1999, **162**(9): 5317–5326
- [23] Killebrew J R, Perdue N, Kwan A, *et al.* A self-reactive TCR drives the development of Foxp3⁺ regulatory T cells that prevent autoimmune disease. *J Immunol*, 2011, **187**(2): 861–869
- [24] Hinterberger M, Wirnsberger G, Klein L. B7/CD28 in central tolerance: costimulation promotes maturation of regulatory T cell precursors and prevents their clonal deletion. *Front Immunol*, 2011, **2**: 30
- [25] Tai X, Cowan M, Feigenbaum L, *et al.* CD28 costimulation of developing thymocytes induces Foxp3 expression and regulatory T cell differentiation independently of interleukin 2. *Nat Immunol*, 2005, **6**(2): 152–162
- [26] Vang K B, Yang J, Mahmud S A, *et al.* IL-2, -7, and -15, but not thymic stromal lymphopoietin, redundantly govern CD4⁺Foxp3⁺ regulatory T cell development. *J Immunol*, 2008, **181**(5): 3285–3290
- [27] Gogishvili T, Luhder F, Goebbels S, *et al.* Cell-intrinsic and -extrinsic control of Treg-cell homeostasis and function revealed by induced CD28 deletion. *Eur J Immunol*, 2013, **43**(1): 188–193
- [28] Cuss S M, Green E A. Abrogation of CD40-CD154 signaling impedes the homeostasis of thymic resident regulatory T cells by altering the levels of IL-2, but does not affect regulatory T cell development. *J Immunol*, 2012, **189**(4): 1717–1725
- [29] Mamchak A A, Thien C B, Dagger S A, *et al.* Unaltered negative selection and Treg development of self-reactive thymocytes in TCR transgenic Fyn-deficient mice. *Eur J Immunol*, 2010, **40**(2): 539–547
- [30] Chuck M I, Zhu M, Shen S, *et al.* The role of the LAT-PLC-gamma1 interaction in T regulatory cell function. *J Immunol*, 2010, **184**(5): 2476–2486
- [31] Willoughby J E, Costello P S, Nicolas R H, *et al.* Raf signaling but not the ERK effector SAP-1 is required for regulatory T cell development. *J Immunol*, 2007, **179**(10): 6836–6844
- [32] Hsu L Y, Tan Y X, Xiao Z, *et al.* A hypomorphic allele of ZAP-70 reveals a distinct thymic threshold for autoimmune disease versus autoimmune reactivity. *J Exp Med*, 2009, **206**(11): 2527–2541
- [33] Lee M J, Woo M Y, Chwae Y J, *et al.* Down-regulation of interleukin-2 production by CD4⁽⁺⁾ T cells expressing TIM-3 through suppression of NFAT dephosphorylation and AP-1 transcription. *Immunobiology*, 2012, **217**(10): 986–995
- [34] Chen X, Priatel J J, Chow M T, *et al.* Preferential development of CD4 and CD8 T regulatory cells in RasGRP1-deficient mice. *J Immunol*, 2008, **180**(9): 5973–5982
- [35] Colacios C, Casemayou A, Dejean A S, *et al.* The p.Arg63Trp polymorphism controls Vav1 functions and Foxp3 regulatory T cell development. *J Exp Med*, 2011, **208**(11): 2183–2191
- [36] Maine C J, Hamilton-Williams E E, Cheung J, *et al.* PTPN22 alters the development of regulatory T cells in the thymus. *J Immunol*, 2012, **188**(11): 5267–5275
- [37] Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A, *et al.* Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature*, 2010, **463**(7282): 808–812
- [38] Long M, Park S G, Strickland I, *et al.* Nuclear factor-kappaB modulates regulatory T cell development by directly regulating expression of Foxp3 transcription factor. *Immunity*, 2009, **31**(6): 921–931
- [39] Liu G, Burns S, Huang G, *et al.* The receptor S1P1 overrides regulatory T cell-mediated immune suppression through Akt-mTOR. *Nat Immunol*, 2009, **10**(7): 769–777
- [40] Chang X, Lazorchak A S, Liu D, *et al.* Sin1 regulates Treg-cell development but is not required for T-cell growth and proliferation. *Eur J Immunol*, 2012, **42**(6): 1639–1647
- [41] Fainboim L, Arruvito L. Mechanisms involved in the expansion of Tregs during pregnancy: role of IL-2/STAT5 signalling. *J Reprod Immunol*, 2011, **88**(2): 93–98
- [42] Liu Y, Zhang P, Li J, *et al.* A critical function for TGF-beta signaling in the development of natural CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells. *Nat Immunol*, 2008, **9**(6): 632–640
- [43] Ouyang W, Beckett O, Ma Q, *et al.* Transforming growth factor-beta signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development. *Immunity*, 2010, **32**(5): 642–653
- [44] Li Q, Shakya A, Guo X, *et al.* Constitutive nuclear localization of NFAT in Foxp3⁺ regulatory T cells independent of calcineurin activity. *J Immunol*, 2012, **188**(9): 4268–4277

Research Advances in Natural Regulatory T Cell Development and Differentiation

CHEN Hui, ZHAO Yong*

*(Transplantation Biology Research Division, State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology,
Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)*

Abstract CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells (Treg cells) play crucial roles in the maintenance of self-immune tolerance. Decreased numbers or functional deficiency of Treg cells result in development of a variety of autoimmune diseases like multiple sclerosis and type I diabetes. Moreover, Treg cells have been implicated in inflammation and transplantation settings. Two types of Treg cells including thymic-derived natural Treg (nTreg) and peripheral induced Treg (iTreg) cells have been identified based on their distinct developmental origin. nTreg cells are derived in the thymus and express high level of Forkhead transcription factor Foxp3, nTreg cells exhibit the suppressive function mainly in a cell-cell contact manner. nTreg cells develop in two steps largely shaped by TCR, co-stimulatory and cytokines in the thymus. In the present manuscript, we will mainly summarize recent advances regarding molecular and cellular regulation of nTreg development and differentiation.

Key words nTreg, Foxp3, CD25, thymus, immune tolerance

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00535

*Corresponding author.

Tel: 86-10-64807302, E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn

Received: February 21, 2013 Accepted: April 24, 2013