

天然调节 T 细胞与诱导调节 T 细胞的生物学特性 *

陈军浩 张 葵[△]

(南京大学医学院附属鼓楼医院检验科 江苏 南京 210008)

摘要 CD4+CD25+FOXP3⁺ 的调节 T 细胞(regulatory T cells ,Treg)在维持机体免疫平衡方面起着重要的作用。体外扩增 Treg 细胞用于治疗自身免疫病、哮喘及诱导器官移植免疫耐受引起人们极大的兴趣。Treg 细胞可分为 2 个亚群 ,分别为 nTreg 和 iTreg ,两者有不同的生物学特性。nTreg 在特定条件下 ,可以分泌具有促进炎症的 IL-17 ;iTreg 在体内可丢失 FOXP3 ,失去其免疫抑制功能。Treg 细胞用于临床治疗 ,还有许多问题需要研究解决。

关键词 :调节 T 细胞 ,天然调节 T 细胞 ,诱导调节 T 细胞 ,细胞治疗

中图分类号 :R392.12 **文献分类号** :A **文章编号** :1673-6273(2012)02-389-04

Characteristics of Natural and Induced Regulatory T Cells*

CHEN Jun-hao, ZHANG Kui[△]

(Department of Laboratory, Affiliated Hospital of medical College of Nanjing University, Jiangsu Nanjing, 210008)

ABSTRACT: CD4+CD25+FOXP3⁺ regulatory T cells is more important for keeping the immune system in homeostatic balance. There is more increasing attention in large-scale expansion of regulatory T cells for therapeutic autoimmune disease, asthma and inducing immune tolerance for organ transplant. There are two subgroup in regulatory T cells, named naturally occurring Tregs (nTreg) and inducible Tregs(iTreg), respectively. There are some differences between nTreg and iTreg cells in biology characteristics. The nTreg is able to produce IL-17 cytokine which can promote proinflammatory under specific environment. The iTreg may lose FOXP3 expression and miss its immune suppression. Many questions must be solved before Tregs as cellular therapeutics.

Key words: Regulatory T cells; nTreg; iTreg; Cellular therapy

Chinese Library Classification: R392.12 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)02-389-04

前言

调节性 T 细胞(regulatory T cells ,Treg)具有抑制自身反应性淋巴细胞增殖、维持机体内环境稳定、预防和阻止自身免疫病的发生与发展、减轻机体过度免疫应答引起的组织损伤等作用 ,因此 ,近年来以 Treg 细胞为基础的细胞治疗自身免疫病、过度反应性炎症的研究引起人们的兴趣。体内具有免疫调节的细胞主要包括 :Th₃、Tr₁、CD8⁺CD28⁻ 细胞、NK2 和 Treg 细胞等。表达 FOXP3 的专职调节 T 细胞是维持机体免疫平衡最重要的细胞^[1]。

Treg 细胞根据其产生部位以及生物学特性上的差异可分为 2 个亚群 ,分别称为天然调节 T 细胞 (naturally occurring Tregs ,nTreg) 和诱导调节 T 细胞 (inducible Tregs, iTreg)。nTreg 在胸腺中自然发育成熟 ,iTreg 在外周淋巴组织中或体外 IL-2 和 TGF-β 条件下 ,由传统的 CD4+FOXP3⁻ 细胞转化而来。

1 nTreg 和 iTreg 的分化机制

nTreg 细胞的生长发育受胸腺微环境的严格控制。Jordan 等用自身抗原肽在胸腺中诱生出自身反应性 nTreg ,并且发现 ,自身反应性抗原肽 -MHC-II 复合物与 TCR 必须有较高的亲和

力才能成功诱生 ,低亲和抗原不能通过这样的路径激发 nTreg 细胞产生和发育^[2]。这一过程也需要树突状细胞提供很强的 CD28 共刺激信号^[3] ,因为在 CD28 缺陷鼠中 nTreg 细胞显著减少^[4]。自身反应性抗原肽并不是在 T 细胞发育过程中诱导 nTreg 细胞产生 ,是通过淋巴细胞阳性选择和阴性选择而生成的一种特定的细胞品系^[5]。nTreg 在胸腺中发育成熟 ,适应胸腺细胞表达的自身抗原 ,所以 nTreg 细胞本身就是一种具有免疫调节作用的细胞 ,在其成熟迁移至外周循环过程中 ,其表达 FOXP3 的生物学特性不受所处微环境的影响。

iTreg 细胞是成熟的 naïve CD4 细胞在外周免疫器官中受微环境的影响 ,而逐渐表达 CD25 和 FOXP3 ,因此 ,它是一种诱导型的、具有免疫调节的细胞。naïve CD4 细胞转化为 iTreg 细胞 ,主要依赖外周淋巴器官中树突状细胞和所在的微环境。研究证实 :用微量的抗原适度活化树突状细胞能够诱导 naïve CD4 细胞表达 FOXP3 ,成为有免疫抑制作用的 iTreg ,添加 TGF-β 细胞增殖受到一定的抑制 ,但是转化为表达 FOXP3 细胞的比率大幅上升^[6] ,这些细胞与机体对外部抗原免疫耐受、肿瘤细胞的免疫逃避及过度的免疫应答密切相关。体内 iTreg 的诱导 ,不需要很强的 TCR 刺激 ,而是需要适度的抗原刺激 ,用 B7 中和抗体阻断 CD28 的作用 ,提高共刺激分子 CTLA-4 和 ICOS 的作用 ,均有利于 iTreg 的发育^[7,8]。

* 基金项目 南京市医学发展重点项目(ZKX08030)

作者简介 陈军浩(1966-) ,男 ,本科 ,副主任技师 ,主要从事细胞免疫研究。电话 :025-83304615-10370 ,Email :nj_cjh@yahoo.com.cn。

△通讯作者 张葵 ,电话 :025-3304616-10360 ,E-mail: zkanghui@yahoo.com.cn。

(收稿日期 :2011-04-30 接受日期 :2011-05-23)

给 DO11.10 SCID 鼠口服 OVA 抗原 5 天以后在其肠系膜淋巴结发现大量的 iTreg, 对照组服用 BAS, 没有见到 iTreg 增加的现象, 说明适度的抗原刺激能够诱导 iTreg 的产生, 这些 iTreg 细胞可以在肠道固有层中持续分化, 以适应微生物和食物对肠道的刺激, 避免肠道对它们的免疫应答^[9]。也有研究发现, 用低剂量的 CD28 抗体(JJ316)能诱导体内 Treg 大量产生, 而且并不伴随全身性淋巴细胞增生, 提示 Treg 细胞对 CD28 抗体的刺激比较敏感^[10]。

TGF- β 在体内和体外诱导 CD4⁺CD25⁺ 细胞转化为 CD4⁺CD25⁺ 细胞是必须的, 但在 nTreg 的发育中却存在争议。采用敲除 T 细胞 TGF- β 受体方式的研究发现, TGF- β 不涉及胸腺中 nTreg 的发育^[11]。但有学者发现, TGF- β 1 受体缺陷小鼠能出现严重的 nTreg 增生缺陷, 因此认为 TGF- β 与 nTreg 的发育相关^[12]。

IL-2 对 iTreg 细胞发育是必须的。Naive CD4 细胞用 anti-CD3 和 TGF- β 刺激得到 iTreg 细胞, 高浓度的 IL-2 能够缓解 TGF- β 介导的细胞增殖抑制^[13]。用 IL-2 抗体和 IL-2 缺陷鼠 T 细胞证实, 体外诱导 FOXP3 表达及其抑制活性的发挥, IL-2 是必不可少的^[14]。有学者发现 HIV 患者经抗病毒和 IL-2 治疗后, 通常会有 CD4 细胞的初步恢复, 但是其免疫缺陷的状态并没有相应的恢复。在对长期接受 IL-2 治疗的 HIV 患者 CD4 细胞分析中发现, 主要存在 2 个不同的细胞亚群, 分别是 CD4⁺CD25^{lo}CD127^{lo}FOXP3⁺ 和 CD4⁺CD25^{hi}CD127^{lo}FOXP3^{hi}, 其基因表达也类似健康人的 Treg^[15], 这应引起人们的注意, 长期使用 IL-2 可能导致 Treg 细胞增生, 从而抑制机体的免疫状态。

目前, 人们对体内诱导 iTreg 所必需的微环境知之甚少, 但已经认识到无论体内还是体外, iTreg 发育至少需要 TCR 刺激、IL-2 和 TGF- β 的参与。

2 nTreg 和 iTreg 体外扩增

通常外周血中 Treg 细胞数量很少, 一般为 CD4 细胞的 5-10%。为了达到治疗所需的细胞数, 必须体外扩增足量的 nTreg 和 / 或 iTreg 细胞, 尤其是因 iTreg 更容易获得, 且在免疫抑制功能上与 nTreg 接近, 是目前研究的热点。

nTreg 的分离通常有磁珠分离法和流式细胞仪分离法。体外扩增 nTreg 首先需要得到高纯度的 nTreg 细胞, 实验研究中多用流式细胞术分选出 CD4⁺CD25⁺ 的细胞, 其细胞纯度可达到 97-99%^[16,17]。因为 nTreg 没有单一的标识性的免疫标志, 磁珠法分离 nTreg 多采用多次分选法, 通常先阴性选择出 CD4 细胞, 然后再选择出 CD25⁺ 细胞, 该方法尚无法区分 CD25⁺ 和 CD25⁺ 细胞群^[18]。目前, CD4⁺CD25⁺CD127^{dim} 的细胞也公认为 Treg 的表面标志, 其中约 90% 的细胞表达 FOXP3^[19], 因而阴性选择出 CD4⁺CD127^{dim} 细胞, 再选择出 CD25⁺ 细胞也可认为是 nTreg 细胞^[20]。通常认为, 在没有受到抗原刺激的动物体内, 即便是外周血中 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ 的调节 T 细胞也可认为属于 nTreg 细胞。

nTreg 细胞体外扩增比较简单, 可直接用 1 ng/ml PMA, 200 ng/ml 离子霉素活化细胞, 在 100 IU/ml 重组 IL-2 的条件下, 就可以使 nTreg 细胞得到有效的增殖^[21]。也有学者在高浓度的 IL-2(2000 IU/ml) 的情况下, 用 anti-CD3/anti-CD28 微球刺

激人外周血分离的 CD4⁺CD25⁺ 细胞, 使得 nTreg 细胞扩增 200 倍, 这些细胞体外能够抑制效应 T 细胞增殖, 并且表达 nTreg 的表型, 如: CD62L、HLA-DR、CCR6 和 FOXP3^[22]。Hoffmann 等用 anti-CD3 和 anti-CD28 抗体刺激细胞, 在 IL-2 及 CD32+L 细胞共存的情况下, 使人外周来源的 CD4⁺CD25⁺ 细胞扩增高达 1 万倍^[23]。

从 CD4⁺CD25⁺ 的细胞诱导 iTreg 细胞, 则需要用 anti-CD3/anti-CD28 微球活化细胞, 在 10 ng/ml TGF- β 和 100 IU/ml 重组 IL-2 的条件下, 可以得到增殖^[21]。尽管体内也可以诱导出 iTreg^[6,9], 但是目前还没有有效的鉴定方法。体外诱导 iTreg 的优势是可诱导具有抗原特异性的 iTreg 细胞, 回输体内后, 能够以抗原特异性的方式抑制相应的免疫应答^[24]。体外用 TGF- β 和 IL-2 结合 TCR 的刺激, 能诱导 CD4⁺CD25⁺ 细胞转化为 CD4⁺CD25⁺ 细胞, 高表达 FOXP3。Selvaraj 等^[25]较为详细的研究了在诱导过程中细胞动力学的变化, 用 CD3/CD28 刺激 CD4⁺FOXP3⁺ 细胞, 加入 TGF- β 后 2-3 天, FOXP3 就开始明显上调, 90% 以上的细胞发生了转化。他们发现 FOXP3 表达需要严格的 TCR 刺激, 但是不需要共刺激分子的作用, 也不依赖细胞周期的改变。除去 TGF- β 4 天后 FOXP3 大多丢失。大部分移植进入鼠体内的 iTreg 细胞, 2 天内后 FOXP3 的表达开始下调。这些 FOXP3⁺ 的细胞主要分布在血液、脾、肺和肝内。移植 iTreg 28 天后, 只能检出很少的 FOXP3⁺ 细胞, 但是 FOXP3⁺ 细胞依然能被检出, 他们主要定位于淋巴结和骨髓。所以, 体外诱导的 iTreg 输入体内后, FOXP3 表达是短暂的, 并且是 TGF- β 依赖性的。在体内输入的 iTreg 中有一个亚群会长期存在于体内, 提供一个长久调节免疫活性的功能^[25]。

3 nTreg 和 iTreg 的差异

nTreg 和 iTreg 均表达 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺, 目前还没有公认的区分两者的方法。一般认为, 在没有受到抗原刺激的情况下, CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg 细胞大多属于 nTreg, 如果受到抗原刺激, 则在机体内 nTreg 和 iTreg 共存。nTreg 表达 CTLA-4 (细胞毒 T 淋巴细胞抗原 4)、GITR (糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体)、CCR4 (趋化因子受体) 和 CD62L, 绝大多数 nTreg 都是已经活化的 CD4⁺T 细胞 (例如: 鼠 CD45RB^{low}, 人表达 CD45RO)。iTreg 需要另外的、适度的抗原刺激, 才能从 naive CD4⁺CD25⁺ 细胞转化而来, 表达记忆细胞的某些标志^[26]。

体内直接分选的 nTreg, 其 FOXP3 基因外显子 1 上游进化保守区 (Treg cell-specific demethylated region, TSDR) 全部去甲基化, 而体外诱导的 iTreg 尽管高表达 FOXP3, 但是其 TSDR 仅部分去甲基化, 而 CD4⁺CD25⁺ T 细胞 TSDR 全部甲基化^[27,28]。TSDR 甲基化能抑制 FOXP3 表达, 干扰 Treg 细胞的发育和免疫抑制功能作用的发挥, TSDR 去甲基化是细胞稳定表达 FOXP3 所必要的^[28]。所以, 当没有 TGF- β 存在时, 再次刺激 iTreg 会丧失 FOXP3 的表达, 而 nTreg 则无此现象^[28]。

体外和体内扩增的 iTreg TSDR 甲基化状态也有显著的差异, nTreg 和体内诱导的 iTreg 一样, 都能保持有效的 TSDR 未甲基化状态, 这与体外诱导的 iTreg 不一样。Polansky 报告了氮胞苷 (azacytidine) 对 DNA 甲基化的抑制作用, 体内用 DEC-205 诱导的 iTreg 可长期存在表达 FOXP3, 显示出有效的

TSDR 去甲基化状态, 可以保持 3 周^[29]。体外诱导的 iTreg, STDR 去甲基化状态仅仅保持 6 天^[28]。

FOXP3 基因 TSDR 区的甲基化与否, 控制了 nTreg 和 iTreg 表达 FOXP3 的状态, TSDR 甲基化使其表达 FOXP3 功能丧失, 反之则高表达。nTreg 和 iTreg, 特别是体外诱导的 iTreg 其 TSDR 甲基化状态各不相同, 从而表现出不同的特性。

4 nTreg 和 iTreg 协同作用

nTreg 和 iTreg 都能够保持机体内环境稳定, 预防自身免疫病的发生, 阻止自身免疫病的发展的作用是公认的。TGF- β 1 和 TGF- β 受体基因敲除鼠发生严重的自身免疫病, 尽管此时在胸腺中 nTreg 发育正常, 但其在体外的免疫抑制功能受到很大地限制^[30]。由于 TGF- β 缺陷 CD4⁺CD25⁺T 细胞不能转化为 iTreg, 因此, iTreg 和 nTreg 在抑制免疫应答中的相互作用开始引起人们的注意。

Haribhai 等^[30] 用结肠炎模型比较了 nTreg、体外诱导的 iTreg 体内诱导的 iTreg 的功能。转移 CD4⁺FOXP3⁺ 细胞进入 RAG- 缺陷鼠诱导结肠炎模型。如果 naïve T 细胞因 FOXP3 基因突变而不能转变为 iTreg, 则疾病进展很快。当移植具有正常 FOXP3 基因鼠效应 T 细胞之后, nTreg 比体外诱导的 iTreg 能更好的控制疾病的发展。但是, 重要的是, 在 FOXP3 缺陷鼠中, 必须 iTreg 和 nTreg 联合应用, 才能对结肠炎模型鼠有保护作用(移植 FOXP3 缺陷鼠 CD4 细胞诱导的模型)。如果效应细胞来自于 FOXP3 基因正常的鼠, 则只用 nTreg 就能抑制疾病的进程, 主要是在鼠体内, 部分效应细胞可转变为 iTreg 细胞。由此, 在结肠炎模型中, 如果要阻止疾病的进展, nTreg 和 iTreg (体外诱导的或者体内诱导的)两种细胞都是必须的。在通常的实验研究中, nTreg 细胞实际上主要是 nTreg, 同时也包含了一部分体内诱导的 iTreg。

只有 nTreg 与 iTreg 共存时(无论是体内诱导还是体外诱导的 iTreg) 结肠炎模型鼠病情得到有效的控制, 加之 iTreg 与 nTreg 基因表达图谱显著不同^[30], 提示 iTreg 与 nTreg 是两类不同的细胞, 两者是相互协同来维持机体的免疫耐受。

5 应用展望

Treg 细胞作为具有免疫抑制能力的细胞, 尽管在动物模型上显示了良好的阻止自身免疫病、哮喘等疾病发生发展的作用。但是大多动物实验效果都是短期观察, 相对于人类慢性自身免疫病、哮喘和器官移植还有许多问题没有得到解决, 如: nTreg 在体内有转变为分泌 IL-17 的可能, 加重疾病的病理损伤, 并且与肿瘤的发生相关^[31]。Voo 等研究发现 nTreg 在 IL-1 β 、IL-2、IL-21、IL-23 和人血清条件下, 可以产生 IL-17, 成为具有促进炎症和自身免疫病理作用的细胞。进一步研究发现胸腺中不存在 IL-17⁺FOXP3⁺ 细胞, 故外周 IL-17⁺FOXP3⁺ 细胞是在外周免疫器官特定微环境发育而成^[32], 那么大剂量输入 Treg 细胞, 在体内能否转变为 IL-17⁺FOXP3⁺ 细胞尚不清楚。iTreg 在体内也会逐渐丧失 FOXP3 的表达, 失去其免疫抑制的能力, 有转变为效应细胞的潜在危险^[33]。因此, 调节 T 细胞移植用于临床治疗还需要更多的实验研究。

参考文献(References)

- [1] Kim JM, Rasmussen JP, Rudensky AY. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice [J]. Nat Immunol, 2007, 8:191-197
- [2] Jordan MS, Boesteanu A, Reed AJ et al. Thymic selection of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells induced by an agonist self-peptide[J]. Nat Immunol, 2001, 2(4):301-306
- [3] 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[J]. Nat Immunol, 2005, 6(2): 152-162
- [4] Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes [J]. Immunity, 2000, 12(4): 431-440
- [5] Larkin J, Rankin AL, Picca CC et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell repertoire formation shaped by differential presentation of peptides from a self-antigen[J]. J Immunol, 2008, 180(4):2149-2157
- [6] Kretschmer K, Apostolou I, Hawiger D, et al. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen [J]. Nat Immunol, 2005, 6(12):1219-1227
- [7] Herman AE, Freeman GJ, Mathis D, et al. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells dependent on ICOS promote regulation of effector cells in the prediabetic lesion[J]. J Exp Med, 2004, 199(11):1479-1489
- [8] Taylor PA, Noelle RJ, Blazar BR. CD4(+)CD25(+) immune regulatory cells are required for induction of tolerance to alloantigen via costimulatory blockade[J]. J Exp Med, 2001, 193(11):1311-1318
- [9] Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Carcamo CV, et al. A functionally specialized population of mucosal CD103⁺ DCs induces Foxp3⁺ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism[J]. J. Exp. Med, 2007, 204(8), 1757-1764
- [10] Beyersdorf N, Gaupp S, Balbach K et al. Selective targeting of regulatory T cells with CD28 superagonists allows effective therapy of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. J Exp Med, 2005, 202(3):445-455
- [11] Marie JC, Liggitt D, Rudensky AY. Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T cell-specific targeting of transforming growth factor-beta receptor [J]. Immunity, 2006, 25(3): 441-454
- [12] 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 [J]. Nat Immunol, 2008, 9(6):632-640
- [13] Chen W, Jin W, Hardegen N et al. Conversion of peripheral CD4⁺CD25⁺T cells to CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor FoxP3 [J]. J Exp Med, 2003, 198(12): 1875-1886
- [14] Zheng Y, Rudensky AY. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage[J]. Nat Immunol, 2007, 8(5):457-462
- [15] Weiss L, Letimier FA, Carriere M et al. In vivo expansion of naive and activated CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ regulatory T cell populations in interleukin-2-treated HIV patients [J]. PNAS, 2010, 107(23): 10632-10637
- [16] Eelvaraj RK, Geiger TL. Mitigation of experimental allergic en-

- cephalomyelitis by TGF-beta induced Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes through the induction of anergy and infectious tolerance [J]. *J Immunol*, 2008, 180(5):2830-2838
- [17] Tang Q, Henriksen KJ, Bi M. et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes[J]. *J Exp Med*, 2004, 199(11):1455-1465
- [18] Hong J, Zang YC, Nie H. et al. CD4⁺ regulatory T cell responses induced by T cell vaccination in patients with multiple sclerosis[J]. *PNAS*, 2006, 103(13):5024-5029
- [19] Shen LS, Wang J, Shen DF. et al. CD4(+)CD25(+)CD127(low/-) regulatory T cells express Foxp3 and suppress effector T cell proliferation and contribute to gastric cancers progression [J]. *Clin Immunol*, 2009, 131(1):109-118
- [20] Tockis J, Colau D, Coulie PG, et al. Membrane protein GARP is a receptor for latent TGF-beta on the surface of activated human Treg[J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(12):3315-3322
- [21] Selvaraj RK, Geiger TL. Mitigation of experimental allergic encephalomyelitis by TGF-beta induced Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes through the induction of anergy and infectious tolerance[J]. *Immunol*, 2008,180(5):2830-2838
- [22] Earle KE, Tang Q, Zhou X. et al. In vitro expanded human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells suppress effector T cell proliferation [J]. *Clin Immunol*, 2005, 115(1):3-9
- [23] Hoffmann P, Eder R, Kunz-Schughart LA. et al. Large-scale in vitro expansion of polyclonal human CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells [J]. *Blood*, 2004, 104(3):895-903
- [24] Zhang H, Podojil JR, Chang J. et al. TGF-beta-induced myelin peptide-specific regulatory T cells mediate antigen-specific suppression of induction of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2010, 184(12):6629-6636
- [25] Selvaraj RK, Geiger TL. A kinetic and dynamic analysis of Foxp3 induced in T cells by TGF-beta[J]. *J Immunol*, 2007,178(12):7667-7677
- [26] Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. Natural and TGF-beta-induced Foxp3(+)CD4(+)CD25(+) regulatory T cells are not mirror images of each other[J]. *Trends Immunol*, 2008,29(9):429-435
- [27] Lal G, Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression[J]. *Blood*, 2009, 114(18):3727-3735
- [28] Floess S, Freyer J, Siewert C, et al. Epigenetic control of the foxp3 locus in regulatory T cells[J]. *PLoS Biol*, 2007,5(2):e38
- [29] Polansky JK, Kretschmer K, Freyer J, et al. DNA methylation controls Foxp3 gene expression [J]. *Eur J Immunol*, 2008 ,38 (6): 1654-1663
- [30] Haribhai D, Lin W, Edwards B, et al. A central role for induced regulatory T cells in tolerance induction in experimental colitis [J]. *J Immunol*, 2009,182(6):3461-3468
- [31] Kryczek I, Wu K, Zhao E, et al. IL-17⁺ Regulatory T Cells in the Microenvironments of Chronic Inflammation and Cancer [J]. *Immunol*, 2011,186(7):4388-4395
- [32] Voo KS, Wang YH, Santori FR, et al. Identification of IL-17-producing FOXP3⁺ regulatory T cells in humans [J]. *PNAS*,2009,106(12): 4793-4798
- [33] O'Connor RA, Leech MD, Suffner J, et al. Myelin-reactive, TGF-beta-induced regulatory T cells can be programmed to develop Th1-like effector function but remain less proinflammatory than myelin-reactive Th1 effectors and can suppress pathogenic T cell clonal expansion in vivo[J]. *J Immunol*, 2010,185(12):7235-7243