DOI:10.3724/cbls.2026076 **CSTR**:32203.14.cbls.2026076
文章编号:1004-0374(2026)04-0615-10

郑颂国,法国奥尔良大学博士、美国加州大学博士后,现任上海交通大学讲席教授、细胞与基因治疗研究院院长、创新免疫治疗全国重点实验室松江实验室主任。主要从事自身免疫与炎症性疾病机制及创新免疫治疗研究,是诱导型调节性T细胞研究的重要开拓者之一,在二代调节性T细胞、牙龈干细胞及细胞治疗领域具有重要国际影响力。曾任美国宾夕法尼亚州立大学终身正教授/所长、美国俄亥俄州立大学Ronald L. Whisler终身讲席教授/主任,发表论文240余篇,被引超2.4万次,H指数90。

直面Treg疗法在1型糖尿病中的挑战:最新研究启示

陈 晔[1,2,3],刘 玲[1,2,3],郑颂国[1,2,3*]

(1 上海交通大学医学院细胞和基因治疗研究院,上海 201600;2 上海交通大学创新免疫治疗全国重点实验室,上海 201600;3 上海交通大学医学院附属松江医院,上海 201600)

摘 要:1型糖尿病(type 1 diabetes,T1D)是一种由自身免疫性异常反应破坏胰岛β细胞引发的疾病。调节性T细胞(regulatory T cells,Treg)为一类具有免疫抑制和调控作用的免疫细胞亚群,合理使用这些细胞有望成为自身免疫性疾病的潜在防治策略。目前Treg疗法包括天然存在的Treg(natural regulatory T cells,nTreg)、TGF-β诱导的Treg(induced regulatory T cells,iTreg)、通用型Treg、抗原特异性Treg及基因工程化Treg,每种方法均具有独特的优势与局限性。研究表明,工程化T细胞受体(T cell receptor,TCR)和嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor,CAR)技术能够介导抗原特异性抑制,为T1D治疗提供了新的思路,但其临床应用仍面临疾病特异性抗原鉴定、Treg稳定性提升、归巢能力增强及细胞衰竭等关键问题。未来的研究需要聚焦于抗原鉴定、功能优化及体内监测,同时个体化纠正Treg缺陷通路,以推动工程化Treg的临床转化。本文综述了Treg疗法在T1D治疗中的最新研究进展,探讨了其面临的挑战及潜在的优化策略。

关键词:调节性T细胞;1型糖尿病;TCR Treg;CAR Treg
中图分类号:Q813;R587 **文献标识码**:A

Overcoming the challenges of Treg therapy in type 1 diabetes: Insights from recent research

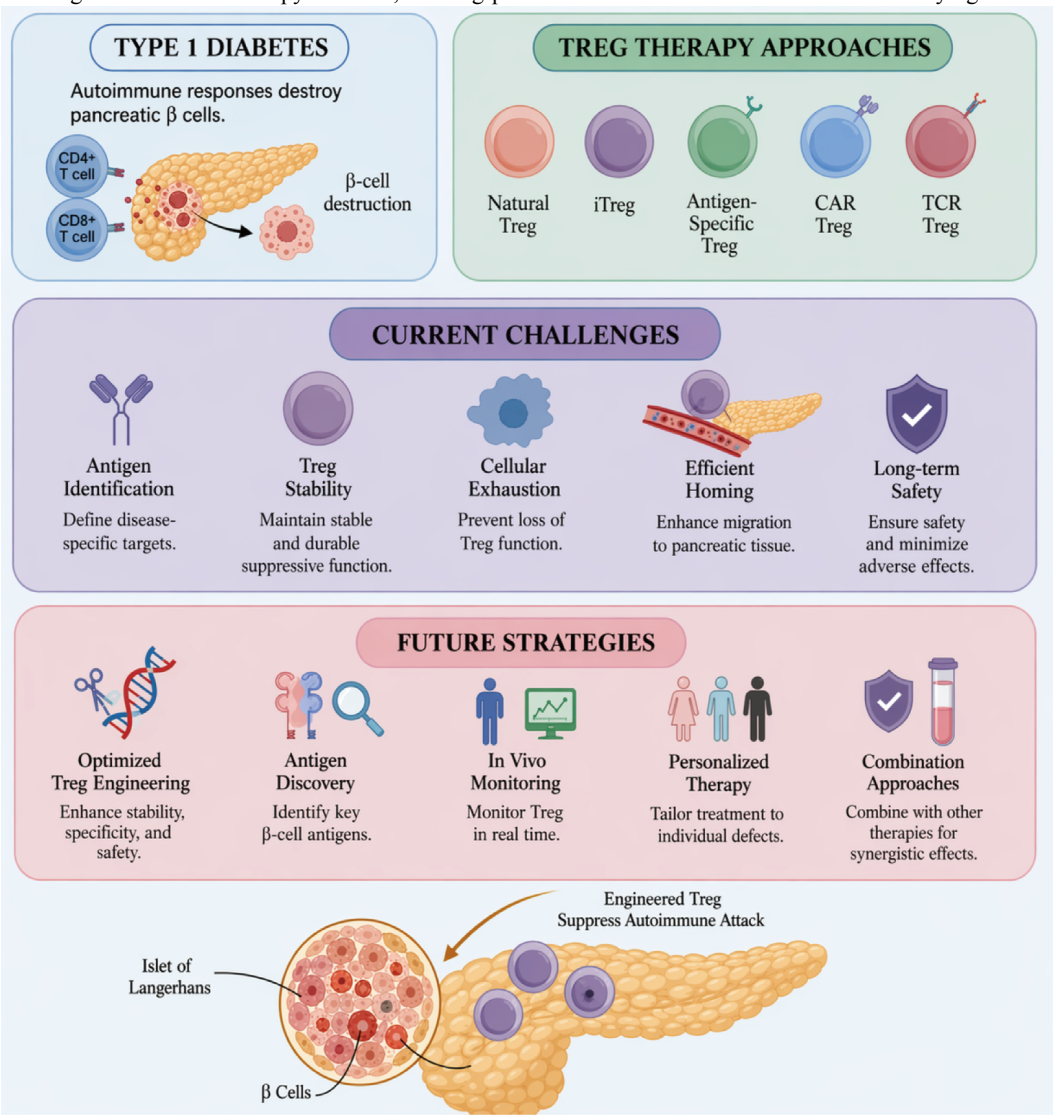
CHEN Ye[1, 2, 3], LIU Ling[1, 2, 3], ZHENG Song-Guo[1, 2, 3*]

(1 School of Cell and Gene Therapy, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201600, China; 2 State Key Lab of Innovative Immunotherapy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201600, China; 3 Shanghai Songjiang Hospital Affiliated to the Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201600, China)

Abstract: Type 1 diabetes (T1D) is an autoimmune disorder characterized by T cell-mediated destruction of pancreatic β cells. Regulatory T cells (Treg) play a pivotal role in maintaining immune homeostasis and suppressing autoimmunity, making them a promising therapeutic strategy for T1D. Current Treg-based therapies include natural Treg (nTreg), TGF-β-induced

收稿日期:2025-06-21; **修回日期**:2025-10-13
基金项目:国家自然科学基金项目(82371817,81871224);全国重点实验室重点项目(SKL-HIDCA-2024-GD3);上海市卫生健康委员会协同创新群体项目(2024CXJQ01);上海市松江区科委项目(2024SJKJGG071)
***通信作者**:E-mail: Song.Zheng@shsmu.edu.cn

Treg (iTreg), universal Treg, antigen-specific Treg, and engineered Treg expressing T cell receptors (TCRs) or chimeric antigen receptors (CARs). While nTreg and iTreg have shown efficacy in preclinical models, their clinical application is limited by instability under inflammatory conditions, low numbers, and non-specific immunosuppression. Engineered TCR- and CAR-Treg enable antigen-specific suppression, enhancing targeting, homing to pancreatic islets, and immune-modulatory potency, yet face challenges such as disease-specific antigen identification, Treg stability, exhaustion, and off-target effects. Clinical trials indicate that adoptive Treg therapy is generally safe but often transient in effect, emphasizing the need for early intervention, repeated dosing, or combinatorial strategies (e.g., low-dose IL-2, B cell depletion). Emerging approaches, including integration of chemokine receptor modulation, signal-inducible complexes, and *ex vivo* engineering to enhance persistence, homing, and suppressive function, hold promise for improving therapeutic outcomes. Future research should focus on optimizing antigen specificity, functional stability, *in vivo* persistence, and personalized correction of Treg deficiencies to achieve durable immune tolerance. Collectively, advances in TCR and CAR Treg engineering are ushering a new era in Treg-based immunotherapy for T1D, offering potential for safe and effective disease-modifying interventions.



Key words: regulatory T cells; type 1 diabetes; TCR Treg; CAR Treg

1型糖尿病(type 1 diabetes,T1D)是一种由致病性自身免疫反应性T细胞破坏胰腺β细胞导致的自身免疫性疾病。调节性T细胞(regulatory T cells,Treg)是一类具有显著免疫抑制作用的T细胞亚群,以表达Foxp3、CD25、CD4 为细胞表型特征[1]。通过对小鼠模型的功能性研究及对T1D患者Treg的分析,发现Treg在T1D病理中起关键作用,其对维持免疫稳态和抑制炎症至关重要。根据发育来源,Treg至少可以分为nTreg[2]和iTreg[3,4],二者的异同研究者已经进行了系统的研究[5-13]。

先前研究发现,iTreg可通过抑制1型细胞毒性T细胞(type 1 cytotoxic T lymphocyte,Tc1)功能并平衡Treg/Tc1比例来改善T1D并保护胰岛β细胞功能[14]。这表明,Treg疗法是治疗T1D的潜在策略。Treg疗法主要包括输注来自外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMC)的nTreg、体外诱导的iTreg、通用型Treg以及基因工程改造的抗原特异性Treg和CAR Treg[15]。鉴于低剂量白细胞介素-2(interleukin-2,IL-2)在扩增和维持Treg稳态中的关键作用[16,17],低剂量IL-2疗法及其改良策略已被用于自身免疫性疾病的治疗[18]。近期研究发现,白细胞介素-35(interleukin-35,IL-35)的免疫抑制特性能够增强Treg增殖,从而促进免疫调节,治疗自身免疫性疾病[19]。上述几种方法均具独特优势与局限性(表1)。

尽管多克隆nTreg和iTreg在治疗T1D小鼠中均展现潜力,但其稳定性和功能性仍存在不确定性。在炎症状态下,nTreg可以向Th17和Th1等炎症细胞转化[20,21],影响其功能;而通过全反式维甲酸修饰,可以稳定炎症状态下的nTreg稳定性[22-25]。

1　Treg治疗T1D的临床试验进展

当前Treg用于T1D治疗的临床试验,整体显示出良好安全性,但单一应用时疗效存在局限。在早期一项针对10例新诊断T1D儿童的探索性研究中,研究者单次输注体外扩增的自体$CD4^{+}CD25^{high}CD127^{-}$ Treg[26],结果显示治疗安全且可延长缓解期。然而,随后一项针对110例8~17岁患者的随机双盲安慰剂对照Ⅱ期试验(TReX研究)[27]未能重复这一疗效:研究者将受试者分为高剂量组、低剂量组与安慰剂组,分别单次输注体外扩增的自体多克隆$CD4^{+}CD127^{low}CD25^{+}$ Treg;随访52周后发现,治疗组与安慰剂组在餐后C肽水平、糖化血红蛋白及胰岛素使用剂量上均无显著差异,仅高剂量组在输注后1周内出现一过性Treg增殖,这一结果表明单次

表1　不同类型Treg疗法及IL-2相关疗法的优势与局限性

Table 1　Advantages and limitations of Treg-based therapies and IL-2-related therapies

疗法类型	优势	局限性
nTreg	(1)自体来源:来自自身PBMC,免疫排斥风险低 (2)天然免疫抑制功能:无需额外修饰,安全性较高	(1)数量有限:体外扩增效率低,难以获得足够数量 (2)炎症状态:稳定性差 (3)高盐饮食:稳定性差 (4)非特异性抑制:可能广泛抑制免疫系统,增加感染风险
iTreg	(1)来源灵活:可由naive T细胞体外分化获得,来源广泛 (2)可定制:通过细胞因子(如TGF-β)诱导免疫耐受,具有较强的免疫调节潜力	(1)稳定性差:可能在体内失去抑制功能或转化为效应T细胞 (2)疗效短暂:长期维持免疫耐受效果不确定
通用型Treg	(1)来源广泛:可由健康供体外周血、脐带血、诱导多能干细胞、胚胎干细胞获得 (2)即取即用:冻存细胞库可快速响应治疗需求 (3)标准化高:统一质控标准,细胞质量稳定 (4)使用范围广:不受患者HLA分型限制,可覆盖多类患者	(1)体内存活与功能维持时间短:仅持续数天至数周,需优化代谢或联合IL-2延长 (2)炎症部位归巢效率低:多滞留于外周免疫器官,难以主动迁移到病灶部位 (3)规模化生产技术门槛高:核心环节仍未完全成熟
抗原特异性Treg	(1)精准靶向:特异性识别并靶向特定抗原,增强归巢和局部抑制 (2)高效局部抑制:聚焦于致病性T细胞,增强免疫调节效果	(1)抗原依赖:需明确疾病特异性抗原,个体差异可能影响疗效 (2)制备复杂:基因改造技术复杂,成本较高
CAR Treg	(1)强效靶向性:通过CAR靶向胰腺β细胞抗原,增强归巢和局部抑制 (2)通用性潜力:可设计通用型,降低个体化制备成本	(1)脱靶风险:CAR可能识别非目标组织抗原,引发毒性 (2)基因编辑风险:插入突变或基因组不稳定性可能导致长期安全性问题
低剂量IL-2疗法	(1)内源性调节:直接增强患者自身Treg功能,无需细胞输注 (2)简便易行:给药方式简单,成本较低	(1)特异性低:IL-2受体广泛表达,可能影响其他免疫细胞 (2)耐受性增加:长期使用耐受性增加,影响疗效的持久性
改良IL-2策略(如IL-2突变体、IL-2/抗IL-2复合物)	(1)精准靶向:通过工程化增强对Treg的选择性 (2)长效性:延长IL-2半衰期,减少给药频率	(1)免疫原性:可能诱发中和抗体,降低疗效 (2)临床验证不足:多数处于实验阶段,长期安全性和疗效待验证
IL-35疗法	(1)强效免疫抑制:促进Treg增殖,抑制Th1/Th17细胞 (2)抗炎微环境:可增强其他Treg疗法效果	(1)机制复杂:IL-35受体调控尚未完全明确 (2)临床转化早期:目前主要在动物模型中验证

给药剂量不足以实现长期免疫抑制效果。有趣的是,分析结果显示,输注体外扩增率较低的Treg的患者C肽水平下降速度更慢,提示Treg治疗效果可能由其质量而非数量决定,且Treg特性与增殖呈负相关。为延长Treg在体内的存活时间,一项Ⅰ期试验采用低剂量IL-2联合自体Treg的治疗方案[28],结果显示患者循环Treg数量虽持续升高,但未能转化为对胰岛素分泌功能的保护作用。

与之相比,联合B细胞清除策略的临床试验展现出更持久的临床效益:部分患者在接受Treg联合利妥昔单抗治疗后,2年内实现胰岛素非依赖状态,且其中一个亚组在治疗12年后仍维持缓解,这提示预先降低自身反应性T/B细胞负荷,可提升Treg治疗的有效窗口[29]。此外,两项采用脐带血来源Treg的Ⅰ期试验(编号NCT02932826、NCT03011021)均观察到,患者病程越短,治疗效果越显著,进一步印证了T1D早期干预的重要性[30]。其中,NCT03011021聚焦脐带血Treg联合利拉鲁肽的疗效探索:该研究对40例新发T1D患者单次回输GMP级脐带血Treg,之后给予12周利拉鲁肽递增治疗,4周剂量限制性毒性(dose limited toxicity,DLT)为主要安全终点,52周C肽≥0.2 nmol/L为疗效阈值,并追踪Treg体内动力学与免疫抑制功能。而脐带血Treg治疗T1D的可行性也在动物实验中得到初步验证[30]。

Treg输注用于T1D治疗的安全性已得到一致证实,但单一Treg治疗仅能在儿童患者或病程较短的患者中短暂延缓β细胞丢失进程。工程化Treg具备更强的功能活性与稳定性,所需细胞数量更少,且能靶向富集于抗原表达位点,从而减少系统性免疫抑制等副作用,或能为自身免疫性疾病提供更优治疗方案[31]。除了分离和扩增内源性抗原特异性Treg或强制表达自身抗原特异性效应T细胞(effector T cells,Teff)中的FoxP3外,TCR与CAR是实现Treg特异性的关键手段。

2 TCR与CAR Treg在T1D中的应用

TCR与CAR Treg均能介导抗原特异性抑制,其生成方法如图1所示。

2.1 TCR Treg

TCR Treg是一类表达特定抗原TCR的Treg,通过识别特定的抗原肽-MHC复合物来发挥作用[32]。研究表明,TCR Treg在治疗T1D方面具有显著优势。例如,BDC2.5 TCR转基因小鼠品系是最经典的产生胰岛抗原特异性Treg的小鼠模型,其在非肥胖型糖尿病(non-obese diabetic,NOD)小鼠遗传背景下培育而成,表达针对胰岛抗原的TCR α链和β链;而胰岛抗原在β细胞分泌颗粒中表达,因此该品系小鼠TCR α链和β链可识别β细胞。此外,BDC2.5 TCR Treg在多种模型系统中能迁移至胰腺引流淋巴结,并且与多克隆Treg相比,其在体内抑制糖尿病的效

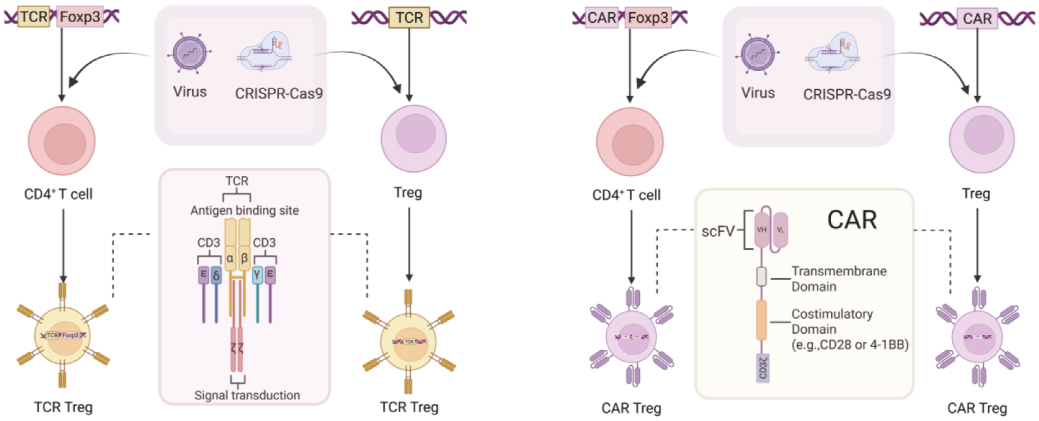


图1 生成TCR和CAR Treg的不同方法

TCR-Treg与CAR-Treg均可借助病毒或CRISPR-Cas9构建:前者导入抗原特异性TCR,后者导入CAR;TCR/CAR可与Foxp3共转入$CD4^+$ T细胞,或直接导入Treg细胞,最终获得抗原特异性的TCR-Treg或CAR-Treg。

Figure 1 Strategies for generating TCR-Treg and CAR-Treg

TCR-Treg and CAR-Treg can be generated by viral transduction or CRISPR-Cas9-based engineering. Antigen-specific TCRs are introduced to generate TCR-Treg, whereas CAR constructs are used to generate CAR-Treg. These receptors can be co-expressed with Foxp3 in $CD4^+$ T cells or directly introduced into Treg cells, ultimately yielding antigen-specific engineered Treg.

率更高[33]。

2017年,Caroline团队首次采用外源TCR转导策略,将来源于人胰岛特异性$CD4^+$ T细胞克隆的TCR导入$CD4^+CD25^{hi}CD127^{low}$ Treg中,成功获得了具有胰岛抗原特异性的工程化TCR-Treg。这项研究证明,通过基因工程手段可赋予人 Treg 明确的抗原识别能力,为 TCR-Treg 在 T1D 中的精准治疗提供了重要依据。其中,这些工程化 Treg 可识别胰岛素瘤相关抗原-2(insulinoma antigen-2,IA-2)等自身抗原,从而增强其对胰岛局部自身免疫反应的靶向抑制作用[34],为胰岛抗原特异性Treg的临床应用提供了可行性依据。Yeh等[35]还成功培育出人源GAD555-567特异性Treg,这些细胞在体外能有效抑制抗原特异性及旁观者反应性T细胞增殖;更为重要的是,他们发现激活的GAD特异性Treg可显著抑制$CD8^+$ T细胞增殖,而$CD8^+$ T细胞正是通过直接杀伤β细胞驱动T1D发病的关键效应细胞。近期,Yang等[36]将CRISPR-Cas9介导的FoxP3基因编辑技术与TCR转基因相结合,通过这两种创新策略实现了抗原特异性Treg的定向改造:一方面将T1D患者Teff中分离的胰岛特异性TCR导入常规人$CD4^+$ T细胞;另一方面直接对NOD BDC2.5小鼠$CD4^+$ T细胞进行FoxP3基因编辑。由此获得的人鼠抗原特异性Treg均展现出向胰腺定向迁移的能力,并能通过多种机制(包括直接作用和旁观者效应)阻断受体小鼠中胰岛特异性Teff引发的糖尿病进程。Hunt等[37]报道了一种更为精确的TCR工程化策略,即通过胰岛特异性TCR替换Treg的内源性 TCR。该方法结合CRISPR核酸酶编辑与重组腺相关病毒(rAAV)介导的同源重组供体模板,在敲除内源性 TCR 的同时,将胰岛特异性 TCR 基因定点整合至相应位点,从而实现 TCR 的精准替换。与传统外源转导方式相比,该策略有助于减少错误配对,并提高工程化 Treg 的抗原特异性与功能稳定性。

2.2 CAR Treg

CAR Treg来源于表达$CD4^+CD25^+Foxp3^+$的Treg[38],其通过特异性识别自身抗原并激活免疫抑制通路(如CTLA-4、TGF-β和IL-10分泌)来维持免疫耐受,治疗自身免疫性疾病[39]。经典的CAR结构包含胞外抗原结合域(常用scFv或天然配体)、跨膜域(如CD28或CD8α决定膜定位)、CD3ζ胞内信号域(介导基础激活)以及共刺激域(如CD28或4-1BB增强存活与功能持久性)[40]。相较于受MHC限制的TCR技术,CAR技术的优势在于其“即用型”特性更易于临床转化。CAR技术在肿瘤治疗中的成功应用已充分证明了其安全性和耐受性。

Tenspolde等[41]率先开发了针对T1D的CAR Treg,他们通过CAR技术将T细胞特异性重组定向至胰岛素,并利用FoxP3转导将Teff转化为Treg。研究表明,胰岛素特异性CAR Treg在表型和功能上与nTreg相似:在胰岛素存在时能发生增殖,并可以抑制同种异体反应性$CD8^+$ Teff的增殖。这些CAR Treg在糖尿病小鼠体内具有长期存活能力(约维持4个月),但由于胰岛素在NOD/Ltj小鼠体内代谢过快,未能观察到显著治疗效果。为解决这一问题,Radichev等[42]开发了靶向人胰腺内分泌标志物HPi2的CAR Treg。然而,尽管HPi2-CAR Treg在体外表现出功能性,却因CAR与Treg表面意外表达的HPi2抗原持续结合导致信号过度激活,最终无法维持扩增。这一结果表明了谨慎选择CAR靶抗原对工程化T细胞持续维持活性和扩增能力的重要性。

谷氨酸脱羧酶65(glutamic acid decarboxylase 65,GAD65)是T1D的另一重要靶点。Imam等[43]报道,GAD65特异性CAR Treg能够归巢至胰岛,并且在人源化T1D小鼠模型中显著降低血糖水平。Spanier等[44]首次构建了靶向NOD MHCII IA^{g7}呈递的胰岛素B链10-23肽段的TCR样CAR Treg。这些CAR Treg在体外表现出抑制功能,并优先富集于胰腺引流淋巴结,通过抑制Teff的增殖和细胞因子分泌,成功预防了免疫缺陷NOD小鼠中由BDC2.5 T细胞诱发的自身免疫性糖尿病。然而在野生型NOD小鼠中,尽管这类TCR样CAR Treg能预防自发性糖尿病,但在实验终点30周时未能在次级淋巴器官中检测到其存在。Obarorakpor等[45]聚焦于胰岛素B链9-23肽段这一在MHC-II(IA^{g7})背景下呈递的致病表位,构建了相应的TCR样CAR-Treg,并在$CD28^{-/-}$ NOD加速模型中验证其单次低剂量输注即可显著延缓T1D发病的长效保护能力;此外,CAR-Treg优先富集于胰腺引流淋巴结,显著减轻胰岛炎症,维持胰岛数量。

以上研究结果表明,利用TCR或CAR技术构建胰岛抗原特异性Treg,是治疗自身免疫性糖尿病的一种前景广阔的新疗法,但在进入临床应用之前,仍

需克服若干关键障碍。

3 TCR与CAR Treg在T1D中的挑战与优化

开发高效TCR与CAR Treg疗法的核心障碍在于疾病特异性抗原的分离与鉴定——低特异性Treg可能导致严重的脱靶效应。目前已有多个潜在靶抗原被确认,包括羧肽酶H、嗜铬粒蛋白A、GAD、imogen-38、胰岛素、IA2、胰岛特异性葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基相关蛋白以及胰岛素原等[39]。值得关注的是,通过胰腺组织与血液中$CD4^+$ T细胞、$CD8^+$ T细胞及Treg的TCR链高通量免疫测序,研究者已发现一群胰腺抗原特异性T细胞群体,这一突破为鉴定疾病相关特异性抗原提供了重要线索[46]。

源自健康人或T1D患者Treg的TCR是否比Teff来源的TCR更具治疗优势目前仍不明确。与此同时,必须解析TCR α链和β链的序列特征及其异源二聚体形成机制,从而准确重建TCR特异性。除TCR表达外,理论上TCR亲和力与转基因Treg群体的抑制效能相关[35],但现有研究结论仍存在争议,需进一步探索以筛选最适抗原。值得注意的是,TCR工程化Treg的临床转化还面临MHC限制性的制约,TCR需要识别由MHC分子呈递的抗原肽-MHC复合物,而不同的MHC等位基因会呈递不同的抗原肽。因此,一个特定的TCR只能与特定的MHC分子及相应的抗原肽结合,这就是MHC限制性[47]。外源TCR链可能与内源性受体发生异源配对,形成具有潜在致炎风险的新生TCR,基因编辑技术能够降低此类异源TCR链配对,如利用CRISPR/Cas9介导内源性TCR α/β链基因敲除、利用短发夹RNA沉默内源性TCR表达,以及通过强效启动子载体表达工程化TCR等多种技术手段降低此类风险[48]。

就CAR Treg而言,其制备过程需要进行复杂的体外操作,这可能导致细胞终末分化、存活期缩短及功能耗竭等问题,并且体内过强的CAR信号转导会加剧这些缺陷,因此必须对CAR信号系统进行改造,以平衡Treg的功能活性与长期存续能力。需特别说明的是,虽然CAR对其特异性抗原的亲和力高于TCR,但其激活需要更高密度的抗原表达[49]。研究表明,CAR-T细胞治疗癌症有时会导致神经毒性和细胞因子风暴综合征等不良反应[50,51]。因此,调查和监测这些不良反应在CAR Treg治疗中至关重要。此外,表征自身或异体抗原的特异性抗体对于设计和生产特定和有效的CAR Treg至关重要。另一方面,选择CAR的特异性靶抗原和开发特异性抗体是耗时的、复杂的并且具有挑战性的[52]。

CAR-Treg疗法面临的关键挑战之一是细胞衰竭导致的疗效下降[53]。在CAR Treg的开发和扩增过程中,CD28共刺激信号与CD3ζ常作为关键组分共同应用于CAR结构设计[54]。然而,单纯依赖CD28共刺激信号并不能有效解决细胞持久性和耗竭问题。研究发现,CD137共刺激信号能延长CAR-T细胞的存活时间,但这种改善以牺牲Treg的免疫抑制功能为代价,CD28则不存在这种功能折损[55]。这提示联合使用CD28与CD137双共刺激信号可能有助于协同优化CAR-T细胞的持久性和功能性[56,57]。此外,研究人员探索了多种改良策略,包括整合IL-2受体β链(IL-2Rβ)的CAR设计、hTERT端粒酶逆转录酶共转导以及PI3K抑制剂处理等,这些方法在临床前研究中显示出延长细胞体内存活时间的潜力[58-60]。但上述策略在维持CAR Treg功能活性与抗耗竭能力方面的实际效果,仍需通过更系统的研究予以验证。因此,CAR Treg在靶抗原高表达的临床场景中可能更具治疗优势。总体而言,仍需进一步研究以优化CAR Treg的治疗应用。

4 Treg疗法在T1D中的前景

尽管Treg疗法在治疗T1D中已显示出良好的疗效和安全性,但未来研究仍需重点关注以下几个关键方面。

首先,关注Treg稳定性的提升。在慢性炎症的胰岛微环境中,Treg的存活能力受到限制,在炎症环境下Treg可能变得不稳定并转化为致病性细胞[61]。提高Treg稳定性的策略包括:过表达FoxP3和增强稳定性的相关基因;敲除炎症组织中的促炎信号通路分子或导致Treg不稳定的基因。此外,还可采用基因工程技术整合“自杀基因”系统,以应对可能出现的疾病恶化或有害免疫抑制导致的严重不良反应[62]。CAR的过度激活可能通过改变Treg代谢导致细胞不稳定和功能障碍[63]。因此,在体外扩增过程中使用抑制剂或营养调控手段来提高CAR Treg稳定性的方法,对其他类型Treg细胞也具有重要参考价值。循环系统中Treg的存活需要外源性IL-2支持[64]。Ⅰ期临床研究显示,低剂量IL-2联合多克隆Treg治疗可同时增加输注细胞和内源性Treg的数

量[28]。开发能够选择性激活Treg而不激活Teff的IL-2片段,将有助于提高Treg的存活率和治疗效果。这些发现提示,抗原特异性Treg的体内扩增可能是未来一个重要研究方向,单独的Treg疗法可能难以达到最佳治疗效果,联合应用改良型IL-2、抑制剂和抗体等可能成为更有前景的治疗方案。

其次,增强工程化Treg向胰腺胰岛的归巢能力对其治疗T1D的疗效至关重要。既往研究表明,趋化因子受体CXCR3在Treg向T1D胰腺胰岛归巢过程中起关键作用[65],然而,其他趋化因子受体如CCR4和CCR6在Treg归巢中的作用仍有待阐明。过表达这些胰岛归巢相关分子可能对基因工程改造的Treg或其他Treg亚群的胰腺胰岛归巢具有积极意义。2024年,Uenishi等[31]报道了一种创新的细胞工程技术,他们利用$CD4^+$ T细胞开发出了名为GNTI-122的工程化Treg疗法。该疗法通过稳定表达FoxP3、特异性靶向胰腺及引流淋巴结,并整合化学诱导的信号复合物(chemically induced signaling complex,CISC),实现了对Treg功能的精准调控。研究显示,GNTI-122细胞不仅维持了nTreg的表型和免疫抑制功能,还能在雷帕霉素激活CISC后触发STAT5浓度依赖性磷酸化,进而协同TCR信号促进细胞增殖。在功能验证中,GNTI-122能直接和间接抑制T1D患者来源的多克隆胰岛Teff。更重要的是,在T1D小鼠过继转移模型中,其鼠源类似物(一种胰腺归巢的工程化Treg)显著降低了胰岛炎症的严重程度,并有效延缓了糖尿病进展[31]。这些数据不仅证实了GNTI-122在体外和体内的强大免疫调节活性,也为其作为T1D的潜在治疗策略提供了坚实的临床前依据,推动其进一步向临床应用转化。此外,新型生物材料促进Treg靶向递送的潜力值得进一步研究。

最后,尽管在探索Treg的生物学特性方面取得了显著进展,但仍有若干基础问题尚未解决。首先,随着多个功能稳定的Treg亚群的发现,其异质性日益受到关注,但仍需深入研究以探索Treg稳定性的分子机制,为Treg的临床应用建立理论基础。并且现有研究大多聚焦于循环型Treg的变化,而组织驻留型与循环型Treg的差异及其在T1D等自身免疫性疾病中各自的作用亟待阐明。此外,肠道菌群、饮食和性别等环境因素对Treg功能及稳定性的影响,对其临床应用具有重要指导意义。

5 小结与展望

TCR与CAR技术推动Treg疗法进入新纪元。未来需聚焦抗原鉴定、功能优化及体内监测,同时个体化纠正Treg缺陷通路。通过持续技术创新,工程化Treg的临床转化值得期待。工程化TCR和CAR技术的出现推动Treg疗法治疗T1D进入新纪元。然而,要开发安全有效的抗原特异性Treg疗法,还需要进一步研究以确定疾病相关抗原,增强Treg的功能、归巢能力和稳定性,并优化评估工具以研究临床疗效及追踪回输Treg的体内迁移与功能。此外,T1D中Treg缺陷的根本原因尚不明确,且可能具有个体差异性,这一因素在自体适应性Treg疗法中尤为关键,若未能有效调控存在潜在缺陷的Treg,则可能无法达成预期治疗效果。因此,需要在体外培养阶段识别个体特异的Treg缺陷,并在过继回输前修复相关信号通路。未来通过持续优化TCR和CAR Treg技术,我们有望见证其成功的临床转化。

参考文献

[1] Alroqi FJ, Chatila TA. T Regulatory cell biology in health and disease. Curr Allergy Asthma Rep, 2016, 16: 27.

[2] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. J Immunol, 1995, 155: 1151–64.

[3] Zheng SG, Gray JD, Ohtsuka K, et al. Generation *ex vivo* of TGF-β-producing regulatory T cells from $CD4^+CD25^-$ precursors. J Immunol, 2002, 169: 4183–9.

[4] Zheng SG, Wang JH, Koss MN, et al. $CD4^+$ and $CD8^+$ regulatory T cells generated *ex vivo* with IL-2 and TGF-β suppress a stimulatory graft-versus-host disease with a lupus-like syndrome. J Immunol, 2004, 172: 1531–9.

[5] Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. Natural and TGF-β-induced $Foxp3^+CD4^+CD25^+$ regulatory T cells are not mirror images of each other. Trends Immunol, 2008, 29: 429–35.

[6] Kong N, Lan Q, Chen M, et al. Antigen-specific transforming growth factor β-induced Treg cells, but not natural Treg cells, ameliorate autoimmune arthritis in mice by shifting the Th17/Treg cell balance from Th17 predominance to Treg cell predominance. Arthritis Rheum, 2012, 64: 2548–58.

[7] Kong N, Lan Q, Su W, et al. Induced T regulatory cells suppress osteoclastogenesis and bone erosion in collagen-induced arthritis better than natural T regulatory cells. Ann Rheum Dis, 2012, 71: 1567–72.

[8] Lin X, Chen M, Liu Y, et al. Advances in distinguishing natural from induced Foxp3$^+$ regulatory T cells. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6: 116–23.

[9] Xu A, Liu Y, Chen W, et al. TGF-β-induced regulatory T cells directly suppress B cell responses through a noncytotoxic mechanism. J Immunol, 2016, 196: 3631–41.

[10] Luo Y, Xue Y, Wang J, et al. Negligible effect of sodium chloride on the development and function of TGF-β-induced CD4$^+$ Foxp3$^+$ regulatory T cells. Cell Rep, 2019, 26: 1869–79.e3.

[11] Hernandez AL, Kitz A, Wu C, et al. Sodium chloride inhibits the suppressive function of FOXP3$^+$ regulatory T cells. J Clin Invest, 2015, 125: 4212–22.

[12] Zhang X, Olsen N, Zheng SG. The progress and prospect of regulatory T cells in autoimmune diseases. J Autoimmun, 2020, 111: 102461.

[13] Yang S, Zhang X, Chen J, et al. Induced, but not natural, regulatory T cells retain phenotype and function following exposure to inflamed synovial fibroblasts. Sci Adv, 2020, 6: eabb0606.

[14] Zhou L, He X, Cai P, et al. Induced regulatory T cells suppress Tc1 cells through TGF-β signaling to ameliorate STZ-induced type 1 diabetes mellitus. Cell Mol Immunol, 2021, 18: 698–710.

[15] Mamo T, Hippen KL, MacMillan ML, et al. Regulatory T cells: A review of manufacturing and clinical utility. Transfusion, 2022, 62: 904–15.

[16] Zheng SG, Wang J, Wang P, et al. IL-2 is essential for TGF-β to convert naive CD4$^+$CD25$^-$ cells to CD25$^+$Foxp3$^+$ regulatory T cells and for expansion of these cells. J Immunol, 2007, 178: 2018–27.

[17] Davidson TS, DiPaolo RJ, Andersson J, et al. Cutting Edge: IL-2 is essential for TGF-β-mediated induction of Foxp3$^+$ T regulatory cells. J Immunol, 2007, 178: 4022–6.

[18] Tahvildari M, Dana R. Low-dose IL-2 therapy in transplantation, autoimmunity, and inflammatory diseases. J Immunol, 2019, 203: 2749–55.

[19] Huang A, Liu K, Yin Z, et al. IL-35 stabilizes Treg phenotype to protect cardiac allografts in mice. Transplantation, 2024, 108: 161–74.

[20] Zheng SG, Wang J, Horwitz DA. Cutting edge: Foxp3$^+$CD4$^+$CD25$^+$ regulatory T cells induced by IL-2 and TGF-β are resistant to Th17 conversion by IL-6. J Immunol, 2008, 180: 7112–6.

[21] Komatsu N, Okamoto K, Sawa S, et al. Pathogenic conversion of Foxp3$^+$ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. Nat Med, 2014, 20: 62–8.

[22] Zhou X, Kong N, Wang J, et al. Cutting edge: all-trans retinoic acid sustains the stability and function of natural regulatory T cells in an inflammatory milieu. J Immunol, 2010, 185: 2675–9.

[23] Thangavelu G, Andrejeva G, Bolivar-Wagers S, et al. Retinoic acid signaling acts as a rheostat to balance Treg function. Cell Mol Immunol, 2022, 19: 820–33.

[24] Lu L, Ma J, Li Z, et al. All-trans retinoic acid promotes TGF-β-induced Treg via histone modification but not DNA demethylation on Foxp3 gene locus. PLoS One, 2011, 6: e24590.

[25] Lu L, Lan Q, Li Z, et al. Critical role of all-trans retinoic acid in stabilizing human natural regulatory T cells under inflammatory conditions. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111: E3432–40.

[26] Marek-Trzonkowska N, Mysliwiec M, Dobyszuk A, et al. Administration of CD4$^+$CD25^{high}CD127$^-$ regulatory T cells preserves β-cell function in type 1 diabetes in children. Diabetes Care, 2012, 35: 1817–20.

[27] Bender C, Wiedeman AE, Hu A, et al. A phase 2 randomized trial with autologous polyclonal expanded regulatory T cells in children with new-onset type 1 diabetes. Sci Transl Med, 2024, 16: eadn2404.

[28] Dong S, Hiam-Galvez KJ, Mowery CT, et al. The effect of low-dose IL-2 and Treg adoptive cell therapy in patients with type 1 diabetes. JCI Insight, 2021, 6: e147474.

[29] Zieliński M, Żalińska M, Iwaszkiewicz-Grześ D, et al. Combined therapy with CD4$^+$CD25^{high}CD127$^-$ T regulatory cells and anti-CD20 antibody in recent-onset type 1 diabetes is superior to monotherapy: Randomized phase I/II trial. Diabetes Obes Metab, 2022, 24: 1534–43.

[30] Bi Y, Kong R, Peng Y, et al. Multiply restimulated human cord blood-derived Treg maintain stabilized phenotype and suppressive function and predict their therapeutic effects on autoimmune diabetes. Diabetol Metab Syndr, 2024, 16: 71.

[31] Uenishi GI, Repic M, Yam JY, et al. GNTI-122: An autologous antigen-specific engineered Treg cell therapy for type 1 diabetes. JCI Insight, 2024, 9: e171844.

[32] Ma J, Ayres CM, Brambley CA, et al. Dynamic allostery in the peptide/MHC complex enables TCR neoantigen selectivity. Nat Commun, 2025, 16: 849.

[33] Tang Q, Henriksen KJ, Bi M, et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. J Exp Med, 2004, 199: 1455–65.

[34] Hull CM, Nickolay LE, Estorninho M, et al. Generation of human islet-specific regulatory T cells by TCR gene transfer. J Autoimmun, 2017, 79: 63–73.
[35] Yeh WI, Seay HR, 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. Front Immunol, 2017, 8: 1313.
[36] Yang SJ, Singh AK, Drow T, et al. Pancreatic islet-specific engineered T(regs) exhibit robust antigen-specific and bystander immune suppression in type 1 diabetes models. Sci Transl Med, 2022, 14: eabn1716.
[37] Hunt MS, Yang SJ, Mortensen E, et al. Dual-locus, dual-HDR editing permits efficient generation of antigen-specific regulatory T cells with robust suppressive activity. Mol Ther, 2023, 31: 2872–86.
[38] Arjomandnejad M, Sylvia K, Blackwood M, et al. Modulating immune responses to AAV by expanded polyclonal T-regs and capsid specific chimeric antigen receptor T-regulatory cells. Mol Ther Methods Clin Dev, 2021, 23: 490–506.
[39] Arjomandnejad M, Kopec AL, Keeler AM. CAR-T regulatory (CAR-Treg) cells: Engineering and applications. Biomedicines, 2022, 10: 287.
[40] Wu Y, Huang Z, Harrison R, et al. Engineering CAR T cells for enhanced efficacy and safety. APL Bioeng, 2022, 6: 011502.
[41] Tenspolde M, Zimmermann K, Weber LC, et al. Regulatory T cells engineered with a novel insulin-specific chimeric antigen receptor as a candidate immunotherapy for type 1 diabetes. J Autoimmun, 2019, 103: 102289.
[42] Radichev IA, Yoon J, Scott DW, et al. Towards antigen-specific Treg for type 1 diabetes: Construction and functional assessment of pancreatic endocrine marker, HPi2-based chimeric antigen receptor. Cell Immunol, 2020, 358: 104224.
[43] Imam S, Jaume J. MON-LB033 unleashing the anti-inflammatory potential of Treg cells against type 1 diabetes using advanced chimeric antigen receptor technology. J Endocrine Society, 2019, 3: MON–LB033.
[44] Spanier JA, Fung V, Wardell CM, et al. Insulin B peptide-MHC class II-specific chimeric antigen receptor-Treg prevent autoimmune diabetes. bioRxiv, 2023, doi: 10.1101/2023.02.23.529737.
[45] Obarorakpor N, Patel D, Boyarov R, et al. Regulatory T cells targeting a pathogenic MHC class II: Insulin peptide epitope postpone spontaneous autoimmune diabetes. Front Immunol, 2023, 14: 1207108.
[46] Linsley PS, Nakayama M, Balmas E, et al. Germline-like TCR-α chains shared between autoreactive T cells in blood and pancreas. Nat Commun, 2024, 15: 4971.
[47] Wei F, Cheng XX, Xue JZ, et al. Emerging strategies in TCR-engineered T cells. Front Immunol, 2022, 13: 850358.
[48] Spear TT, Foley KC, Garrett-Mayer E, et al. TCR modifications that enhance chain pairing in gene-modified T cells can augment cross-reactivity and alleviate CD8 dependence. J Leukoc Biol, 2018, 103: 973–83.
[49] Teppert K, Wang X, Anders K, et al. Joining forces for cancer treatment: From ″TCR versus CAR″ to ″TCR and CAR″. Int J Mol Sci, 2022, 23: 14563.
[50] Pensato U, Amore G, D′Angelo R, et al. Frontal predominant encephalopathy with early paligraphia as a distinctive signature of CAR T-cell therapy-related neurotoxicity. J Neurol, 2022, 269: 609–15.
[51] Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. N Engl J Med, 2017, 377: 2531–44.
[52] Bao L, Bo XC, Cao HW, et al. Engineered T cells and their therapeutic applications in autoimmune diseases. Zool Res, 2022, 43: 150–65.
[53] Lamarche C, Ward-Hartstonge K, Mi T, et al. Tonic-signaling chimeric antigen receptors drive human regulatory T cell exhaustion. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023, 120: e2219086120.
[54] Gilham DE, Debets R, Pule M, et al. CAR-T cells and solid tumors: Tuning T cells to challenge an inveterate foe. Trends Mol Med, 2012, 18: 377–84.
[55] Boroughs AC, Larson RC, Choi BD, et al. Chimeric antigen receptor costimulation domains modulate human regulatory T cell function. JCI Insight, 2019, 5: e126194.
[56] Long AH, Haso WM, Shern JF, et al. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors. Nat Med, 2015, 21: 581–90.
[57] Quintarelli C, Orlando D, Boffa I, et al. Choice of costimulatory domains and of cytokines determines CAR T-cell activity in neuroblastoma. Oncoimmunology, 2018, 7: e1433518.
[58] Prins RM, Shu CJ, Radu CG, et al. Anti-tumor activity and trafficking of self, tumor-specific T cells against tumors located in the brain. Cancer Immunol Immunother, 2008, 57: 1279–89.
[59] Kagoya Y, Tanaka S, Guo T, et al. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects. Nat Med, 2018, 24: 352–9.

[60] Zheng W, O'Hear CE, Alli R, et al. PI3K orchestration of the *in vivo* persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells. Leukemia, 2018, 32: 1157–67.

[61] Chaudhry A, Rudensky AY. Control of inflammation by integration of environmental cues by regulatory T cells. J Clin Invest, 2013, 123: 939–44.

[62] Amberger M, Grueso E, Ivics Z. CRISISS: A novel, transcriptionally and post-translationally inducible CRISPR/Cas9-based cellular suicide switch. Int J Mol Sci, 2023, 24: 9799.

[63] Lamarthée B, Marchal A, Charbonnier S, et al. Transient mTOR inhibition rescues 4-1BB CAR-Treg from tonic signal-induced dysfunction. Nat Commun, 2021, 12: 6446.

[64] Harris F, Berdugo YA, Tree T. IL-2-based approaches to Treg enhancement. Clin Exp Immunol, 2023, 211: 149–63.

[65] Burke SJ, Karlstad MD, Eder AE, et al. Pancreatic β-cell production of CXCR3 ligands precedes diabetes onset. Biofactors, 2016, 42: 703–15.