

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01077

## 转录因子 FOXP3 在肿瘤免疫中的作用

薛磊,徐志飞\*

第二军医大学长征医院胸心外科,上海 200003

**[摘要]** 叉头样转录因子(FOXP3)是脊椎动物叉头样转录因子家族中的一员,通过调控 Treg 细胞的发育、分化和成熟,发挥其免疫抑制作用。在肿瘤学的研究领域中,FOXP3<sup>+</sup> Treg 细胞在肿瘤免疫逃逸机制中发挥了相当重要的作用。本文就 FOXP3 在各类肿瘤中的表达、肿瘤免疫中的作用机制以及免疫治疗中的作用作一综述。

**[关键词]** FOXP3; Treg 细胞; 肿瘤免疫

**[中图分类号]** R 730.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)09-1077-04

### Role of FOXP3 in tumor immunity

XUE Lei, XU Zhi-fei\*

Department of Cardiothoracic Surgery, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

**[ABSTRACT]** FOXP3, a member of the forkhead/winged-helix family, exerts its immunosuppression effect by regulating the development, differentiation and maturation of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells (Treg). Treg plays an important role in immune escape mechanism in oncology research. This article reviews the expression of FOXP3 in various types of tumors and its role in tumor immunology and immunotherapy.

**[KEY WORDS]** forkhead box protein 3; regulatory T cell; tumor immunity

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(9):1077-1080]

叉头样转录因子 3(forkhead box protein 3, FOXP3)是脊椎动物叉头样转录因子家族中的一员,由 Brunkow 等在 2001 年首次报道<sup>[1]</sup>,于 2003 年被证实为 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)的特异性标志<sup>[2]</sup>。由于其高表达于免疫系统中“主动”机制(由一群功能上起抑制作用的细胞介导的耐受机制)的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞,目前已成为医学工作者的研究热点,研究范围涵盖免疫学、肿瘤学、移植学等多个领域。

在肿瘤学的研究领域中,学者们认识到 FOXP3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞在肿瘤免疫逃逸机制中发挥作用<sup>[3]</sup>,并先后在黑色素瘤、胰腺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌、肺癌等肿瘤中检测到 FOXP3 的高表达<sup>[4-7]</sup>。并有研究证实,FOXP3 表达的高低可作为评价治疗效果和有无复发转移的一个很有意义的指标。

### 1 FOXP3 的生物学特性

**1.1 FOXP3 的命名方法** FOX(forkhead box)是脊椎动物叉头样转录因子的总称,是一个具有多种功能的转录因子大家族,通常与细胞生长发育的调控有关<sup>[8]</sup>。到目前为止,已经定义了 15 类 FOX 蛋白<sup>[9]</sup>,每类都以 1 个英文字母表示,而各类中的不同基因则以数字编号来区分。编码人类 FOX

转录因子的基因都以大写字母表示(如 FOXP3),而编码小鼠的则仅首字母大写(如 Foxp3)。对于 FOX 基因编码的相应蛋白质,则无论何种种属均以大写字母表示。

**1.2 FOXP3 的结构特征** 人 FOXP3 基因定位于 Xp11.23~Xq13.3<sup>[10]</sup>,属于转录因子 forkhead/winged-helix 家族,该基因家族由大量分布极广的转录因子组成,该家族成员具有共同的保守序列“叉状头”/“翅膀状螺旋”(forkhead/winged-helix)DNA 结构域,通过该结构域与 DNA 特定位点结合,调节目的基因的活化和表达。该家族的大部分成员的 forkhead 结构域位于氨基端,但在 FOXP3 中, forkhead 结构域位于羧基端(氨基酸残基的 337~420)<sup>[11]</sup>。人 FOXP3 含有 11 个外显子和 10 个内含子, cDNA 全长为 1 869 bp,其编码的蛋白 FOXP3/Scurfin 由 431 个氨基酸组成, N 末端有锌指蛋白、亮氨酸拉链和一个富含脯氨酸的区域;而小鼠 Foxp3 基因位于其 X 染色体 2.1 cm 处, cDNA 全长为 3 739 bp(包含 5' 端非编码的外显子), FOXP3 蛋白由 429 个氨基酸组成,经 Blast 比较与人类的同源性达 86%。

### 2 FOXP3 在肿瘤免疫中的研究

**2.1 各类肿瘤中的表达** 2001 年, Woo 等<sup>[12]</sup>首次报道了 Treg 在非小细胞肺癌及卵巢癌患者肿瘤浸润淋巴细胞中的

**[收稿日期]** 2008-12-21 **[接受日期]** 2009-03-22

**[作者简介]** 薛磊, 硕士, 主治医师. E-mail: tommyxuel@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81885701, E-mail: xu\_zhi\_fei@yahoo.com.cn

比例上调,这是在人类肿瘤中 Treg 造成患者抗肿瘤免疫反应缺陷的第一个直接证据。随后,在肺癌、胃癌和食管癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌、黑色素瘤、胰腺癌、淋巴瘤中 Treg 细胞数目、比例上调和 FOXP3 的表达上调陆续被报道。

(1) 肺癌: Treg 在非小细胞肺癌及卵巢癌患者肿瘤浸润淋巴细胞中的比例上调,可分泌 TGF- $\beta_1$ ,并能抑制 T 细胞活化增殖<sup>[12]</sup>。Meloni 等<sup>[13]</sup>在对肺癌外周血 T 细胞亚型的分析中发现,在肺癌患者中 FOXP3 不仅高表达在 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 细胞中,同时也高表达在 CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> 细胞中,这两类细胞在 T 细胞亚型中的比例均上调。国内近年来也有此类的报道,崔永生等<sup>[5]</sup>对肺癌患者外周血中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞及 FOXP3 mRNA 的变化特点进行研究,发现肺癌患者的外周血单个核细胞(PBMC)中 FOXP3 mRNA 的表达水平高于非肿瘤患者表达水平,肺癌患者外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 比例增加。刘荣军等<sup>[11]</sup>研究肺癌患者外周血及肿瘤浸润淋巴细胞中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> T 细胞和 FOXP3 的变化,发现外周血及肿瘤浸润淋巴细胞中 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值降低,而 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞在 CD4<sup>+</sup> T 细胞中所占比例升高,FOXP3 基因仅在肿瘤浸润淋巴细胞中高表达,而在外周血中低或不表达,表明肿瘤局部的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞主要是 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Treg,且在肺腺癌比例较高,可能的机制是其通过细胞与细胞间接触抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞的杀伤效应,最终发挥免疫抑制效应。

(2) 胃癌和食管癌: Kono 等<sup>[7]</sup>在对胃癌和食管癌患者 PBMC 分离后发现,CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞的比例较正常人群上调,而且肿瘤分期不同,其比例增高的情况不一样。Mizukami 等<sup>[15]</sup>在对胃癌组织浸润的淋巴细胞中 FOXP3 表达的研究中发现,患者的生存期与 FOXP3 的表达量多少无关,而与 FOXP3 的表达位置有关,在癌周表达 FOXP3 的比癌组织弥漫表达 FOXP3 生存期要长。卢剑等<sup>[6]</sup>在对不同分期的胃癌患者外周血淋巴细胞 FOXP3 mRNA 表达水平的研究中观察到,与正常对照比,胃癌患者外周血淋巴细胞的 FOXP3 基因表达上调,且表达量也与肿瘤 TNM 分期有关,Ⅲ期和Ⅳ期较Ⅰ期和Ⅱ期表达高,与 Sasada 等<sup>[16]</sup>结论一致。

(3) 乳腺癌: Wolf 等<sup>[17]</sup>在对浸润性乳腺癌中 FOXP3 的表达研究中发现,FOXP3 表达的高低与淋巴结转移的情况密切相关,而与肿瘤大小、浸润程度、激素受体、孕酮水平、是否绝经等无关。Zuo 等<sup>[18]</sup>在对超过 200 例的乳腺癌标本研究中的发现与其他文献的结果不一致,认为 FOXP3 可以抑制癌基因 SKP2 转录,降低乳腺癌的发病率,FOXP3 基因突变会导致 SKP2 表达上调,增加患乳腺癌的概率。

(4) 肝癌: 张蕤等<sup>[19]</sup>研究肝癌荷瘤小鼠 Treg 细胞数量的改变及其与肿瘤生长的关系中得出结论: 肝癌细胞在小鼠体内的生长可以提高 Treg 细胞的数量,上调 Foxp3 mRNA 的表达,其数量的高低与肿瘤的大小正相关,提示清除 Treg 细胞将是肿瘤免疫治疗的策略之一。

(5) 前列腺癌: Kaniwa 等<sup>[20]</sup>在对前列腺癌肿瘤浸润淋巴细胞的研究中发现,通常认为绝大多数在 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞中表达的 FOXP3,同样也在 CD8<sup>+</sup> Treg 细胞表达,且 CD8<sup>+</sup> Treg 细胞的免疫抑制作用与 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞

类似,但 CD8<sup>+</sup> Treg 细胞的免疫抑制作用可以被 TLR8 的配体逆转,因此可以利用 TLR8 的配体对 Treg 细胞进行功能上的调整,以期达到肿瘤免疫治疗的作用。

(6) 黑色素瘤: Miracco 等<sup>[21]</sup>对复发的表皮黑色素瘤研究中发现,无论在瘤组织内、肿瘤浸润淋巴细胞和肿瘤组织边缘,CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Treg 细胞数目远大于未复发者,且结合临床指标,如生存期和远处转移情况,均说明 CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Treg 细胞可以作为黑色素瘤的有力的预后指标。

(7) 胰腺癌: Hinz 等<sup>[22]</sup>对通过插入 siRNA 下调胰腺癌上皮细胞中 FOXP3 的表达,结果导致细胞中 IL-6、IL-8 表达上调,说明 FOXP3 的抑制作用同样存在于胰腺癌上皮细胞,提出模拟 Treg 细胞的作用可以代表胰腺癌发病过程中的一种新的免疫逃逸机制。

(8) 血液系统恶性肿瘤: Tzankov 等<sup>[23]</sup>对滤泡性淋巴瘤、弥漫型大 B 细胞淋巴瘤和经典的霍奇金淋巴瘤组织中 FOXP3<sup>+</sup> Treg 细胞的表达研究中发现,FOXP3<sup>+</sup> Treg 细胞在滤泡性淋巴瘤中表达最高,且在肿瘤微环境中起到非常重要的调节作用。

2.2 肿瘤细胞免疫逃逸 FOXP3 通过其转录因子的作用,调控 Treg 细胞的发育、分化和成熟。Treg 细胞有很多亚型,但在很多文献中,Treg 细胞特指 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 细胞,由于其在免疫调节中的重要作用,在 1995 年由 Sakaguchi 等<sup>[24]</sup>首次报道后即引起广泛关注。研究证明,FOXP3 在 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞特异性表达,且 FOXP3 在 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞的发育和功能上是必需的。没有 FOXP3,就没有 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞。FOXP3 是 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞发育的一个重要开关<sup>[2,25-26]</sup>。而 Treg 细胞能通过不同的机制抑制一系列免疫反应,促使肿瘤细胞免疫耐受、逃逸。TCR 信号所激活的 Treg 能够抑制 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的活化、增殖,并且这种抑制作用是非抗原特异性的。除此之外,Treg 细胞还能抑制 NK 细胞的增殖、细胞因子分泌和细胞毒作用,以及对单核/巨噬细胞、树突状细胞、B 细胞等免疫活性细胞起抑制或杀伤作用。目前研究<sup>[27]</sup>认为,Treg 细胞发挥作用的可能机制有:(1)通过分泌 IL-10、TGF- $\beta_1$  等抑制性细胞因子和细胞接触依赖的抑制途径,抑制免疫效应细胞的功能。体内实验发现,IL-10 或 TGF- $\beta_1$  单克隆抗体可降低 Treg 细胞的免疫抑制作用。但 Treg 细胞是否通过细胞因子起作用还存在争议,体外实验发现其免疫抑制作用并非依赖于抑制性细胞因子,而是依赖于细胞间接触。(2)通过与效应性 T 细胞竞争性结合 IL-2 或直接作用,抑制其功能。Schubert 等<sup>[28]</sup>在 IL-2 启动子上发现一个 FOXP3 的结合位点,紧邻着 NFAT(活化 T 细胞核因子)的结合位点。并发现 IL-2 表达依靠 NFAT,而 FOXP3 结合位点与 NFAT 结合位点重叠,在表达 FOXP3 的细胞中 NFAT 转录子明显减少,提示可能通过“竞争机制”达到抑制 NFAT 对 IL-2 的启动作用来降低 IL-2 的表达。研究还提示: FOXP3 也是细胞因子(包括 IL-2、IL-4 和 IFN- $\gamma$ )基因的转录阻遏物,在编码 IL-4、TNF 和单核/巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)的基因启动子上也找到了可能的 FOXP3 结合位点。(3)通过表达颗粒酶、穿孔素直接杀伤免疫效应细胞。

(4)诱导抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)向免疫耐受的方向发展。研究<sup>[3]</sup>发现, Treg 可通过 CTLA-4 信号途径, 诱导 APC 表达吲哚胺 2,3-二氧化酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO), 使之成为抑制性 IDO<sup>+</sup> APC; 通过尚未明确的机制, 诱导共抑制分子 B7-H4 在 APC 的表达, 赋予 APC 抑制抗肿瘤免疫反应的功能。(5)抑制免疫效应细胞向肿瘤局部微环境聚集。Treg 的抑制作用既发生在淋巴组织, 抑制效应细胞活化的最初启动阶段, 又发生在肿瘤微环境等外周性部位, 抑制效应性细胞发挥杀伤肿瘤细胞等作用的最终效应阶段。

FOXP3 还可通过作用于其他免疫细胞影响免疫功能。实验<sup>[3]</sup>证实, 通过去除鼠的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞引起的自身免疫性疾病不会导致鼠的迅速死亡, 而缺失功能性的 FOXP3 可导致 Treg 细胞种群全部丧失对自身反应细胞的抑制功能, 从而急速加剧自身免疫表型症状以至鼠迅速死亡。分析可能的原因是 FOXP3 不仅特异性表达在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞, 还可能具有诱导小鼠体内静止的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞向 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞转化的功能; 或体内自身高亲和力 T 细胞克隆由于缺乏 FOXP3 的诱导作用, 没有发育成为 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞, 而成为自身反应性 T 细胞。Verhasselt 等<sup>[29]</sup>认为成熟 DC 能够诱导自体 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞向 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞转化, 其作用是 FOXP3 依赖的。Fantini 等<sup>[30]</sup>在研究外周 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞向调节性 T 细胞转变的机制时发现, TGF- $\beta$  能够诱导 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞上调表达 FOXP3, 而 FOXP3 则通过下调 Smad7 进而增强 TGF- $\beta$  的信号通路, 介导 FOXP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞的抑制功能。Mizukami 等<sup>[31]</sup>在对胃癌组织研究中发现, 在肿瘤浸润淋巴细胞中 FOXP3<sup>+</sup>Treg 细胞和 CCL17<sup>+</sup>或 CCL22<sup>+</sup>细胞均增高, 同时在体外细胞迁移试验中发现 CCL17<sup>+</sup>或者 CCL22<sup>+</sup>可能是 FOXP3<sup>+</sup>Treg 细胞向癌组织聚集的趋化因子。也有学者持相反的意见, Degl'Innocenti 等<sup>[32]</sup>在 TRAMP 小鼠前列腺癌动物模型发现没有 Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞, 早期在 6 周之内免疫耐受尚未形成, 但到了第 12 周, 无论有无 Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞, 均形成机体的免疫耐受。

2.3 FOXP3 在肿瘤免疫治疗中的研究 理想的肿瘤免疫治疗疗效的取得, 必须首先克服荷瘤宿主体内的免疫抑制网络。通过对 FOXP3<sup>+</sup>Treg 作用机制的研究不断深入, 可望对肿瘤免疫逃逸机制的深入理解和肿瘤免疫治疗上有新的突破。因 FOXP3<sup>+</sup>Treg 细胞在肿瘤免疫逃逸中的免疫抑制作用为广大学者所共识, 目前已作为各种免疫治疗效果和肿瘤疫苗研制的评价指标。

Egilmez 等<sup>[33]</sup>在使用混合的细胞因子(IL-2、IL-12、GM-CSF 或 TNF- $\alpha$ )对肿瘤细胞进行控制释放的免疫治疗时发现, 可以逆转原发性肿瘤细胞, 同时可以诱导抗肿瘤的 T 细胞和 NK 细胞的应答, 在治疗后观察肿瘤的微环境, 发现 FOXP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞明显减少, 而具有杀伤肿瘤作用的 CD8<sup>+</sup>T 细胞数量增加。

Ahonen 等<sup>[34]</sup>在研制多因子肿瘤疫苗(CD40 和 TLR 促效剂)中使用肿瘤组织中 FOXP3<sup>+</sup>Treg 的减少数量作为评

价其效果的指标。IL-2 对 Treg 在胸腺的发育、外周的增殖及抑制功能的维持起着关键性的作用。

### 3 展望

在免疫调节机制中, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞在免疫调节中的重要作用已经得到肯定, FOXP3 被证实在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞的发育和功能起关键作用的调节因子。目前, FOXP3 的研究常用定量 RT-PCR, 在 mRNA 水平上进行。随着 FOXP3 的特异性单抗的产生, 可以进一步在蛋白水平对 FOXP3 进行研究, 通过深入了解其表达和作用的分子机制, 探索其更广泛的功能, 以期在肿瘤免疫方面发挥有效的治疗作用。

### [参考文献]

- [1] Brunkow M E, Jeffery E W, Hjerrild K A, Paepfer B, Clark L B, Yasayko S A, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse[J]. *Nat Genet*, 2001, 27:68-73.
- [2] Hori S, Nomra T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3[J]. *Science*, 2003, 299:1057-1061.
- [3] Gallimore A, Godkin A. Regulatory T cells and tumour immunity-observations in mice and men[J]. *Immunology*, 2008, 123: 157-163.
- [4] Wolf D, Wolf A M, Rumpold H, Fiegl H, Zeimet A G, Muller-Holzner E, et al. The expression of the regulatory T cell-specific forkhead box transcription factor FoxP3 is associated with poor prognosis in ovarian cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 8326-8331.
- [5] 崔永生, 李欣, 于春雷, 辛精卫, 李一, 付彤. 肺癌和乳腺癌患者外周血中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞及 foxp3 mRNA 的变化特点及临床意义[J]. *吉林大学学报:医学版*, 2006, 32: 843-846.
- [6] 卢剑, 袁向亮, 沈立松. 不同分期胃癌患者外周血淋巴细胞 Foxp3 mRNA 表达水平的研究[J]. *临床检验杂志*, 2007, 25: 215-217.
- [7] Kono K, Kawaida H, Takahashi A, Sugai H, Mimura K, Miyagawa N, et al. CD4<sup>+</sup>CD25 high regulatory T cells increase with tumor stage in patients with gastric and esophageal cancers[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2006, 55:1064-1071.
- [8] Cofer P J, Burgering B M. Forkhead-box transcription factors and their role in the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4:889-899.
- [9] Kaestner K H, Knoc H W, Martinez D E. Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors[J]. *Genes Dev*, 2000, 14:142-146.
- [10] Bassuny W M, Ihara K, Sasaki Y, Kuromaru R, Kohno H, Matsuuru N, et al. A functional polymorphism in the promote/enhancer region of the FOXP3/Scurfin gene associated with type 1 diabetes[J]. *Immunogenetics*, 2003, 55:149-156.
- [11] Carlsson P, Mahlapuu M. Forkhead transcription factors: key players in development and metabolism[J]. *Dev Biol*, 2002, 250:1-23.

- [12] Woo E Y, Chu C S, Goletz T J, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, et al. Regulatory CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2001, 61:4766-4772.
- [13] Meloni F, Morosini M, Solari N, Passadore I, Nascimbene C, Novo M, et al. Foxp3 expressing CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> CD28<sup>-</sup> T regulatory cells in the peripheral blood of patients with lung cancer and pleural mesothelioma[J]. *Hum Immunol*, 2006, 67:1-12.
- [14] 刘荣军, 葛 棣, 丁建勇, 熊思东, 赵 强, 张 镭, 等. 肺癌患者 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> Foxp3<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的格局变化及意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2006, 22:531-534.
- [15] Mizukami Y, Kono K, Kawaguchi Y, Akaike H, Kamimura K, Sugai H, et al. Localisation pattern of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells is associated with clinical behaviour in gastric cancer[J]. *Br J Cancer*, 2008, 98:148-153.
- [16] Sasada T, Kimura M, Yoshida Y, Kanai M, Takabayashi A. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: possible involvement of regulatory T cells in disease progression[J]. *Cancer*, 2003, 98:1089-1099.
- [17] Wolf A M, Rumpold H, Wolf D, Gastl G, Reimer D, Jenewein N, et al. Role of forkhead box protein 3 expression in invasive breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25:4499-4500.
- [18] Zuo T, Liu R, Zhang H, Chang X, Liu Y, Wang L, et al. FOXP3 is a novel transcriptional repressor for the breast cancer oncogene SKP2[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117:3765-3773.
- [19] 张 蕪, 张利宁, 朱法良, 王 群, 王晓燕, 李海艳, 等. 肝癌荷瘤小鼠调节性 T 细胞数量的改变及其与肿瘤生长的关系[J]. *中华肿瘤杂志*, 2007, 29:342-345.
- [20] Kiniwa Y, Miyahara Y, Wang H Y, Peng W, Peng G, Wheeler T M, et al. CD8<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells mediate immunosuppression in prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13:6947-6958.
- [21] Miracco C, Mourmouras V, Biagioli M, Rubegni P, Mannucci S, Monciatti I, et al. Utility of tumour-infiltrating CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cell evaluation in predicting local recurrence in vertical growth phase cutaneous melanoma[J]. *Oncol Rep*, 2007, 18:1115-1122.
- [22] Hinz S, Pagerols-Raluy L, Oberg H H, Ammerpohl O, Grüssel S, Sipos B, et al. Foxp3 expression in pancreatic carcinoma cells as a novel mechanism of immune evasion in cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67:8344-8350.
- [23] Tzankov A, Meier C, Hirschmann P, Went P, Pileri S A, Dirnhofer S. Correlation of high numbers of intratumoral FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells with improved survival in germinal center-like diffuse large B-cell lymphoma, follicular lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma[J]. *Haematologica*, 2008, 93:193-200.
- [24] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. 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, 155:1151-1164.
- [25] Fontenot J D, Gavin M A, Rudensky A Y. Foxp3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells[J]. *Nat Immunol*, 2003, 4:330-336.
- [26] Khattri R, Cox T, Yasayko S A, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T regulatory cells[J]. *Nat Immunol*, 2003, 4:337-342.
- [27] Wilczynski J R, Radwan M, Kalinka J. The characterization and role of regulatory T cells in immune reactions[J]. *Front Biosci*, 2008, 13:2266-2274.
- [28] Schubert L A, Jeffery E, Zhang Y, Ramsdell F, Ziegler S F. Scurfin(FOXP3) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276:37672-37679.
- [29] Verhasselt V, Vosters O, Beuneu C, Nicaise C, Stordeur P, Goldman M. Induction of FOXP3-expressing regulatory CD4<sup>pos</sup> T cells by human mature autologous dendritic cells[J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34:762-772.
- [30] Fantini M C, Becker C, Monteleone G, Pallone F, Galle P R, Neurath M F. Cutting edge: TGF-beta induces a regulatory phenotype in CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T cells through Foxp3 induction and down-regulation of Smad7[J]. *J Immunol*, 2004, 172:5149-5153.
- [31] Mizukami Y, Kono K, Kawaguchi Y, Akaike H, Kamimura K, Sugai H, et al. CCL17 and CCL22 chemokines within tumor microenvironment are related to accumulation of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in gastric cancer[J]. *Int J Cancer*, 2008, 122:2286-2293.
- [32] Degl' Innocenti E, Grioni M, Capuano G, Jachetti E, Freschi M, Bertilaccio M T, et al. Peripheral T-cell tolerance associated with prostate cancer is independent from CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68:292-300.
- [33] Egilmez N K, Kilinc M O, Gu T, Conway T F. Controlled-release particulate cytokine adjuvants for cancer therapy[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2007, 7:266-270.
- [34] Ahonen C L, Wasiuk A, Fuse S, Turk M J, Ernstoff M S, Suriawinata A A, et al. Enhanced efficacy and reduced toxicity of multifactorial adjuvants compared to unitary adjuvants as cancer vaccines[J]. *Blood*, 2008, 111:3116-3125.