文章编号：1001-6325(2026)08-1027-09

研究论文

TLR7/8 激动剂 R848 抑制 Vδ2 γδ Treg 的诱导及功能

再吐娜·热合木，党光蕾，张祥晋，张建民，何 维，陈 慧*

中国医学科学院北京协和医学院 基础医学研究所 免疫学系，北京 100005

摘要：目的 探讨 TLR7/8 激动剂雷西莫特(R848)对转化生长因子 β1(TGF-β1)诱导的 γδ Treg 产生及其免疫抑制功能的影响，并分析其相关分子机制。**方法** 用抗人 γδ TCR 抗体扩增外周血 γδ T 细胞；同时，加入不同浓度 TGF-β1，流式细胞术检测转录因子叉头框 P3(FoxP3)的表达，确定诱导 γδ Treg 的条件；分别进行 Vδ1 和 Vδ2 γδ Treg 诱导，流式细胞术检测 R848 对 $FoxP3^+$ γδ Treg 比例的影响；磁珠分选诱导的 Vδ1 和 Vδ2 γδ T 细胞，用 CFSE 实验检测 R848 对 γδ Treg 抑制 $CD4^+$ T 细胞增殖作用的影响，并用流式细胞术、Western blot 和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 γδ Treg 穿孔素、颗粒酶 B 和颗粒酶 K 的表达以及 TGF-β1 的分泌；用 RNA-seq 探究 R848 发挥功能的相关分子机制，并对关键差异表达蛋白进行 Western blot 验证。**结果** 3 ng/mL TGF-β1 能在体外成功诱导 γδ T 细胞表达 FoxP3；R848 对 TGF-β1 诱导的 $FoxP3^+$ Vδ1 γδ Treg 的产生没有影响，但能显著降低 $FoxP3^+$ Vδ2 γδ Treg 的比例；R848 处理能逆转 Vδ2 γδ Treg 对 $CD4^+$ T 细胞的增殖抑制作用，而对 Vδ1 γδ Treg 无效；R848 能部分逆转 Vδ2 γδ Treg 的抑制功能，促进其表达颗粒酶 B；同时，显著降低其自身 TGF-β1 的分泌水平；RNA-seq 分析及 Western blot 验证结果显示，R848 通过抑制 Janus 酪氨酸激酶(JAK)/信号转导和转录激活因子(STAT)通路的关键负调控蛋白 SOCS1 和 CISH 的表达以及抑制 STAT3 的磷酸化，实现对 Vδ2 γδ Treg 功能的逆转。**结论** TLR7/8 激动剂 R848 能部分逆转 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 产生及其抑制功能，为 γδ T 细胞联合 R848 协同增效的肿瘤免疫治疗策略提供了实验支持。

关键词： γδ T 细胞；Toll 样受体激动剂；R848；转化生长因子 β1

中图分类号：R392.12 **文献标志码：**A

DOI：10.16352/j.issn.1001-6325.2026.08.1027

TLR7/8 agonist R848 inhibits the induction and function of Vδ2 γδ Treg

Zaituna REHEMU, DANG Guanglei, ZHANG Xiangjin, ZHANG Jianmin, HE Wei, CHEN Hui*

Department of Immunology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Abstract: Objective To investigate the effects of TLR7/8 agonist Resiquimod (R848) on the generation and immunosuppressive function of γδ Treg induced by TGF-β1, and explore the underlying molecular mechanisms. **Methods** γδ T cells were expanded with anti-human γδ TCR antibodies in the presence of different concentrations of TGF-β1, and the expression of transcription factor forkhead box protein P3 (FoxP3) in γδ T cells was subsequently analyzed by flow cytometry. Then Vδ1 and Vδ2 γδ T cells were amplified by anti-human Vδ1 TCR anti-

收稿日期：2026-04-02 **修回日期：**2026-04-28

基金项目：中国医学科学院医学与健康科技创新工程科技攻关项目(2025-I2M-KJ-012)；国家自然科学基金面上项目(32270915)；常州西太湖细胞治疗前沿技术发展基金会项目(2024-P-013)

* **通信作者(corresponding author)：**chenhui_1980@126.com

body and anti-human γδ TCR antibody respectively, and R848 was added to the induction system to examine its effect on the proportion of FoxP3$^+$γδ Treg. Induced Vδ1 and Vδ2 γδ T cells were isolated by magnetic-activated cell sorting, and the effect of R848 on their suppressive function against CD4$^+$ T cell proliferation was assessed by a CFSE dilution assay. Flow cytometry was used to detect the expression of perforin and granzyme B. Western blot was performed to measure the expression level of granzyme K. ELISA was used to determine the concentration of TGF-β1 in the supernatant, and RNA sequencing was performed to identify differentially expressed genes after R848 treatment with validation using Western blot. **Results** 3 ng/mL TGF-β1 significantly increased the expression of FoxP3 in γδ T cells. R848 had no significant effect on the generation of TGF-β1-induced FoxP3$^+$ Vδ1 γδ Treg, but significantly reduced the proportion of FoxP3$^+$ Vδ2 γδ Treg. R848 treatment reversed the suppressive effect of Vδ2 γδ Treg on CD4$^+$ T cell proliferation, whereas no such effect was observed in Vδ1 γδ Treg. R848 partially reversed the suppressive function of Vδ2 γδ Treg, promoted granzyme B expression, and significantly decreased their secretion of TGF-β1. RNA-seq analysis and Western blot validation demonstrated that R848 reversed the suppressive function of Vδ2 γδ Treg by downregulating the expression of SOCS1 and CISH, two key negative regulators of the JAK/STAT signaling pathway and inhibiting STAT3 phosphorylation. **Conclusions** The TLR7/8 agonist R848 reverses the generation and suppressive function of TGF-β1-induced Vδ2 γδ Treg. These findings provide experimental support for the development of a combinational immunotherapeutic strategy involving γδ T cells and R848.

Key words: γδ T cells; TLR agonist; R848; TGF-β1

γδ T 细胞是一类固有免疫样 T 细胞亚群,优势定植于实体肿瘤高发的黏膜组织,能够以主要组织相容性复合体非限制性的方式直接识别广谱的肿瘤相关抗原,在体外具有强大的细胞毒活性;并且γδ T 细胞易于扩增培养,能制备同种异体的现货型细胞产品,在肿瘤免疫治疗中具有独特优势[1]。然而,天然 γδ T 细胞临床试验疗效不尽如人意。因此,联合协同增效的策略是提升 γδ T 细胞体内疗效的关键。

咪唑喹啉类抗病毒化合物雷西莫特(resiquimod,R848)作为 Toll 样受体(Toll like receptor,TLR)7/8(TLR7/8)的激动剂,在抗肿瘤免疫中发挥重要调控作用。有研究表明,R848 可以重编程肿瘤相关巨噬细胞,使其向抗肿瘤表型转化,从而抑制肿瘤生长[2]。R848 还能通过增强肿瘤部位 CD8$^+$ T 细胞的浸润,降低调节性 T 细胞(regulatory T cell,Treg)的比例,重塑肿瘤微环境的免疫组成,促进抗肿瘤免疫应答[3]。

本实验室前期研究发现,R848 可通过协同激活 γδ TCR 与 TLR 信号,增强 Vδ2 γδ T 细胞的增殖与细胞毒活性[4];在转化生长因子 β1(transforming growth factor β1,TGF-β1)诱导下,抗肿瘤的 γδ T 细胞可表达 FoxP3 而呈现出类似 Treg 的 γδ Treg 的表型和功能特征[5]。目前,R848 对 γδ Treg 的诱导及功能是否具有调控作用尚不清楚。因此,本文旨在探索 R848 对 γδ Treg 诱导及功能的影响及其可能的作用机制,以期为 γδ T 细胞过继免疫治疗协同增效提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞:外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells,PBMCs)来源于健康志愿者。本项目经中国医学科学院基础医学研究所伦理审查委员会批准(项目批号:2022015),供者均签署知情同意书。

1.1.2 试剂及试剂盒:RPMI-1640 培养基和胎牛血清(Gibco 公司);淋巴细胞分离液(天津灏洋公司);IL-2(北京四环制药有限公司);抗人 Vδ1 TCR 单克隆抗体和抗人 γδ TCR 单克隆抗体(Beckman Coulter 公司);1 000×布雷非德菌素 A 蛋白转运阻断剂(brefeldin A,BFA)、APC 标记的鼠抗人颗粒酶 B 抗体、PE 标记的鼠抗人穿孔素抗体、APC isotype Ctrl 抗体、FITC isotype Ctrl 抗体和 PE isotype Ctrl 抗体(Biolegend 公司);γδ TCR 磁珠阴选试剂盒、生物素标记的抗人 Vδ1 TCR 抗体、抗生物素磁珠和 CD4$^+$ T

细胞阴选试剂盒(美天旎公司);流式细胞术用 CFSE 细胞增殖试剂盒(Invitrogen 公司);鼠抗人 CD3 抗体、鼠抗人 CD28 抗体(BD Biosciences 公司);TGF-β1 重组蛋白(R&D System 公司);TLR7/8 激动剂 R848(InvivoGen 公司);TGF-β1 ELISA 试剂盒(华美生物公司);PE 标记的鼠抗人 FoxP3 抗体、FoxP3/Transcription Factor Staining Buffer Set 染色溶液、ECL 化学发光显影液、BCA 试剂盒和 Trizol(ThermoFisher Scientific 公司);Anti-β-actin 抗体(CST 公司);HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体和 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥生物科技有限公司);FITC 标记的鼠抗人 γδ TCR 抗体、FITC 标记的鼠抗人 Vδ1 γδ TCR 抗体、抗 CISH/CIS 抗体、抗 SOCS1 抗体、抗颗粒酶 K 抗体、抗 STAT3 抗体和抗 STAT3(phospho Y705)抗体(Abcam 公司)。

1.2　方法

1.2.1　不同浓度 TGF-β1 诱导 γδ Treg:用淋巴细胞分离液从正常人静脉血中分离得到 PBMCs,计数后按照 3×10^6 PBMCs/孔移入抗人 γδ TCR 单克隆抗体包被的 24 孔板中,分别加入含 0、1、3 及 10 ng/mL TGF-β1的 1640 完全培养基进行培养扩增。在37 ℃培养箱中静置 4 d 后,将细胞移入新孔后继续培养。第 10 天在 BD Accuri C6 流式细胞仪上检测 γδ T 细胞纯度及 γδ T 细胞中 FoxP3 的表达。

1.2.2　R848 对 TGF-β1 诱导 Vδ1 γδ Treg 和 Vδ2 γδ Treg 表达 FoxP3 的影响:分离所得 PBMCs 分别接种于抗人 γδ TCR 单克隆抗体或抗人 Vδ1 TCR 单克隆抗体包被的 24 孔板中,分别按下述条件诱导分组:1640 完全培养基(control 组)、1640 完全培养基+3 ng/mL TGF-β1(TGF-β1 组)、1 640 完全培养基+5 μg/mL R848(R848 组)、1640 完全培养基+3 ng/mL TGF-β1 + 5 μg/mL R848(TGF-β1 + R848 组)。第 10 天,在 BD AccuriC6 流式细胞仪上检测 γδ T 细胞的纯度以及 Vδ1 γδ T 细胞和 Vδ2 γδ T 细胞中 FoxP3 的表达。

1.2.3　R848 对 γδ Treg 抑制 $CD4^+$ T 细胞增殖功能的影响:在 1.2.2 所述诱导条件下培养 PBMCs 10 d 后,用磁珠阴性分选 Vδ2 γδ T 细胞,用磁珠阳性分选 Vδ1 γδ T 细胞并继续培养 12 h。$CD4^+$ T 细胞用磁珠阴性分选法从新鲜 PBMCs 中分离获得。分选后的 $CD4^+$ T 细胞经 CFSE 标记(工作浓度为 0.5 μmol/L,37 ℃孵育 10 min),加 5 倍体积预冷的 1640 培养基(含 5%胎牛血清),终止反应并洗涤,重悬于含 5 μg/mL CD28 抗体的 1640 完全培养基中。48 孔板预先用抗 CD3 抗体(1 μg/mL,500 μL)37 ℃包被 2 h。取磁珠分选获得的 Vδ1 和 Vδ2 γδ T 细胞,分别与 CFSE 染色的天然 $CD4^+$ T 细胞按1∶1的比例共培养,每种细胞接种量均为 2×10^5 个/孔,补加完全培养基至终体积 1 mL,于细胞培养箱中培养 3 d。用 $CD4^+$ T 细胞 CFSE 平均荧光强度和增殖的 $CD4^+$ T 细胞比例两个指标来评价 γδ Treg 对 $CD4^+$ T 细胞增殖的抑制作用。在 BD Accuri C6 流式细胞仪上检测各组中 $CD4^+$ T 细胞的增殖。

1.2.4　R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 细胞毒效应分子表达及 TGF-β1 分泌的调控作用:经三种诱导方案(control 组、TGF-β1 组及 TGF-β1 + R848 组)培养并进行磁珠阴性分选法富集的 Vδ2 γδ T 细胞于 1640 完全培养基重悬并计数,调整细胞浓度为 2×10^5/mL,分别接种于 48 孔板,在 37 ℃培养箱中静置培养。一批培养至 24 h 后收集细胞上清液备用,依照 ELISA 试剂盒说明书流程进行操作,检测细胞上清液中 TGF-β1 的吸光度(A)值。另一批培养至 12 h,每孔加入 1 μL 1 000×Brefeldin A 阻断剂,混匀后继续孵育 4 h,收集各孔细胞,PBS 洗涤两遍,1% BSA 封闭液 4 ℃封闭 10 min。每组加入 FITC 标记的抗人 γδ TCR 抗体,同时设同型对照组,4 ℃避光孵育 30 min,PBS 洗涤 3 遍。经细胞固定破膜后进行胞内染色。用 BD Accuri C6 流式细胞仪检测 Vδ2 γδ T 细胞穿孔素和颗粒酶 B 的表达。

1.2.5　RNA 测序分析 R848 联合 TGF-β1 诱导 Vδ2 γδ T 细胞中差异表达基因:实验分组同 1.2.4。分别计数三种诱导方案分选后的 γδ T 细胞,取约 5×10^6 个细胞,洗涤并重悬于 500 μL Trizol 中,多次吹打使细胞沉淀完全打散,储存于−80 ℃备用。制备的细胞样品经诺禾致源公司提取 RNA 以及 mRNA 测序,三组进行两两之间及整体的数据比较分析,统计有明显表达差异的基因,并基于 Hallmark 基因集进行富集分析。

1.2.6　Western blot 验证 R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 关键差异表达蛋白的影响:实验分组同 1.2.4。使用前加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂

的 RIPA 裂解液提取三组细胞总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度。进行常规电泳操作，并进行转膜。转印膜以 5%脱脂奶粉或 5% BSA 室温封闭 2 h 后，依次与一抗和二抗孵育。最后用 ECL 超敏发光显影液对蛋白质条带进行曝光显影。图像经软件 ImageJ 进行相对吸光度测定，并对数据进行统计学分析。

1.3 统计学分析

实验数据均由 GraphPad Prism8.0.1 软件进行统计学分析，计量资料以平均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组之间比较用 t 检验进行差异性分析。

2 结果

2.1 TGF-β1 诱导外周血 γδ Treg 的产生

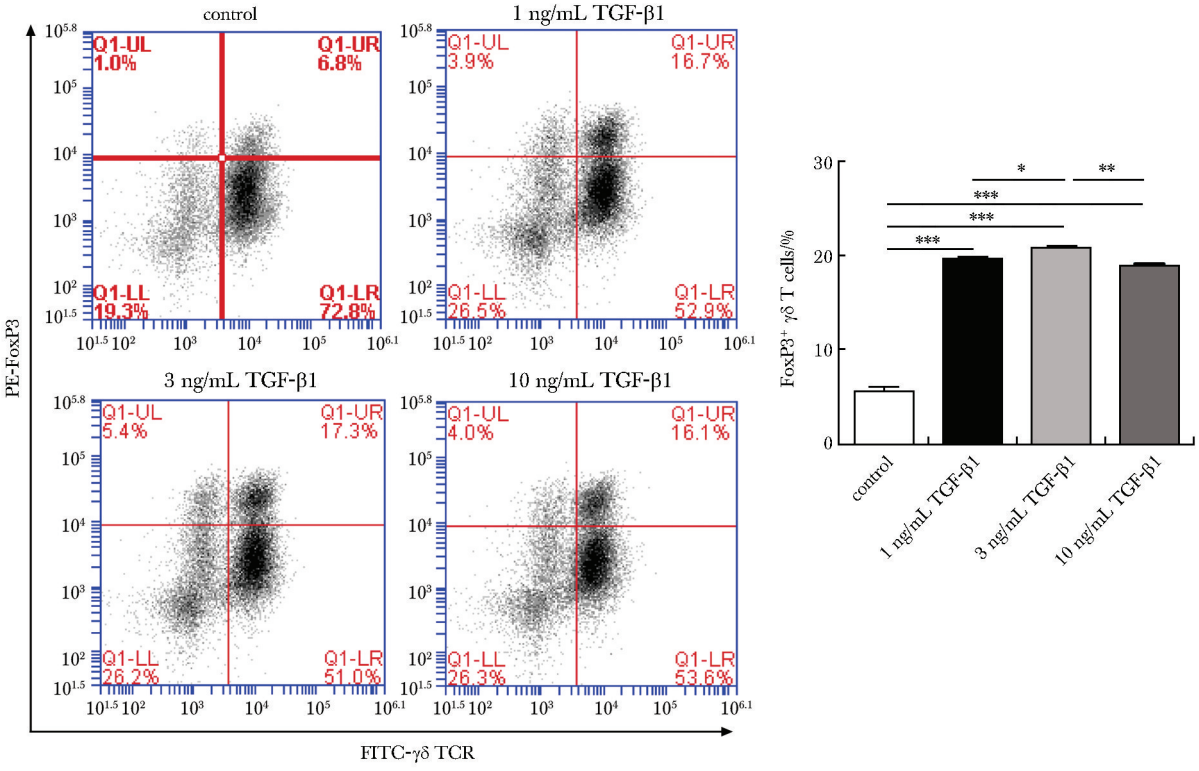
与对照组相比，各组 $Foxp3^+$ γδ Treg 比例均显著增加；其中 3 ng/mL TGF-β1 诱导的 γδ Treg 比例显著高于其他浓度（图 1）。根据此实验结果，后续选择使用 3 ng/mL TGF-β1 来诱导 γδ Treg。

2.2 R848 对 TGF-β1 诱导 γδ Treg 产生的影响

在 Vδ1 γδ Treg 诱导体系中，与对照组相比，加入 TGF-β1 诱导使 $Foxp3^+$ Vδ1 γδ T 细胞比例显著增加；但 R848 并不能抑制 TGF-β1 诱导的 $Foxp3^+$ Vδ1 γδ Treg 比例的升高（图 2B）。而在 Vδ2 γδ Treg 诱导体系中情况却有所不同，TGF-β1 同样能诱导 $Foxp3^+$ Vδ2 γδ T 细胞比例显著提高，但 R848 却能显著降低 TGF-β1 诱导的 $Foxp3^+$ Vδ2 γδ Treg 的比例（图 2D）。表明 R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ1 γδ Treg 的产生没有影响，但能显著抑制 Vδ2 γδ Treg 的产生。

2.3 R848 对 γδ Treg 抑制 $CD4^+$ T 细胞增殖功能的影响

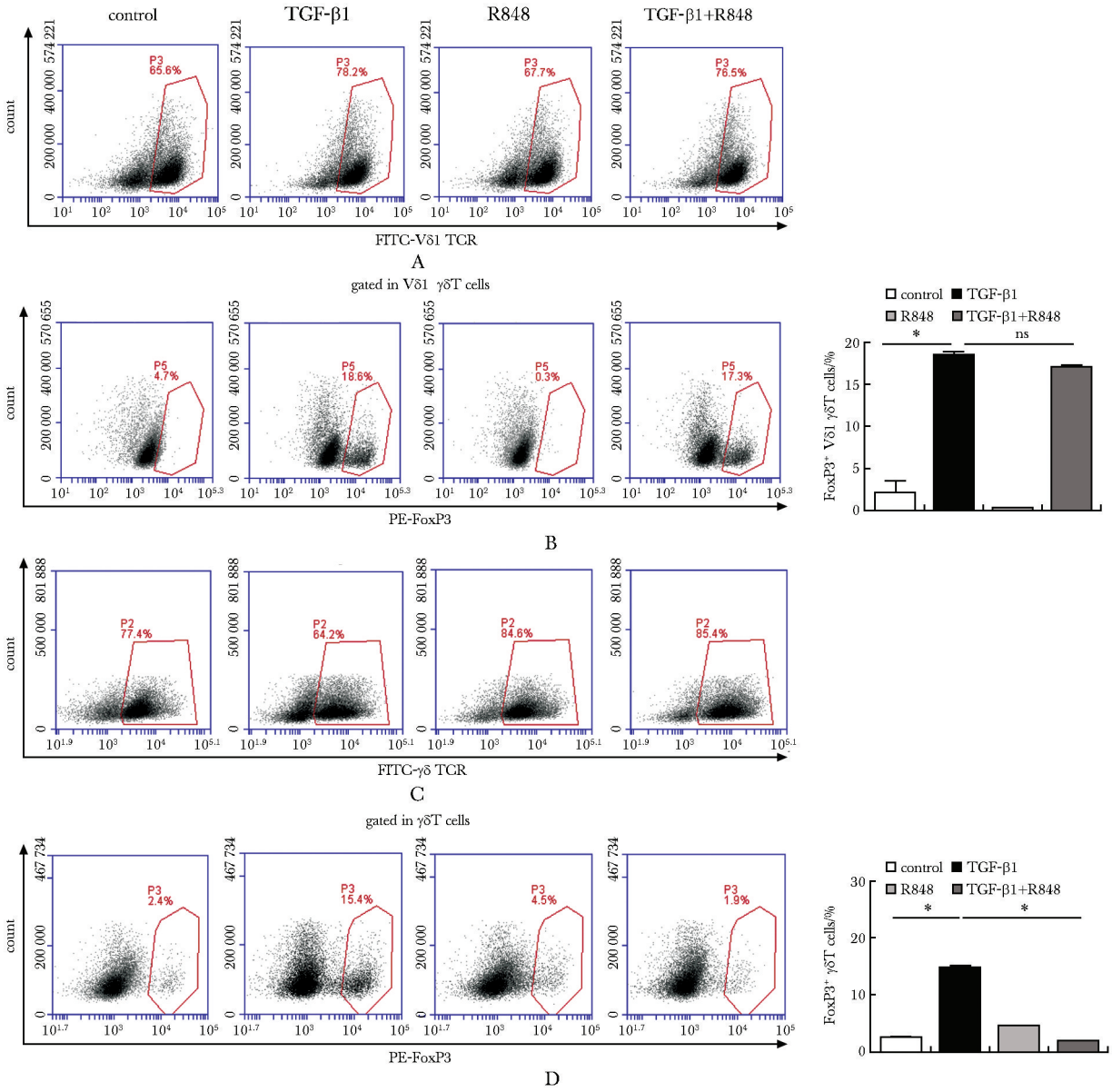
与对照组相比，TGF-β1 诱导的 Vδ1 γδ Treg 和 Vδ2 γδ Treg 均能显著升高 $CD4^+$ T 细胞 CFSE 平均荧光强度（图 3A，C），并显著降低增殖的 $CD4^+$ T 细胞比例（图 3B，D）。但是，与 TGF-β1 单独诱导组相比，TGF-β1 与 R848 联合组 Vδ1 γδ Treg 对 $CD4^+$ T 细



Representative flow cytometry plots (left) and statistical quantification (right) of FoxP3 expression in γδ T cells induced by different concentrations of TGF-β1; $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

图 1 抗人 γδ TCR 抗体联合 TGF-β1 诱导外周血 γδ Treg

Fig 1 Peripheral γδ Treg induced by TGF-β1 and anti-γδ TCR ($n=3$)



A. flow cytometric analysis of the purity of TGF-β1-induced Vδ1 γδ T cells treated with R848; B. representative flow cytometry plots (left) and statistical quantification (right) of FoxP3 expression in TGF-β1-induced Vδ1 γδ T cells treated with R848; C. flow cytometric analysis of the purity of TGF-β1-induced Vδ2 γδ T cells treated with R848; D. representative flow cytometry plots (left) and statistical quantification (right) of FoxP3 expression in TGF-β1-induced Vδ2 γδ T cells treated with R848; ns. $P>0.05$; $^{*}P<0.001$.

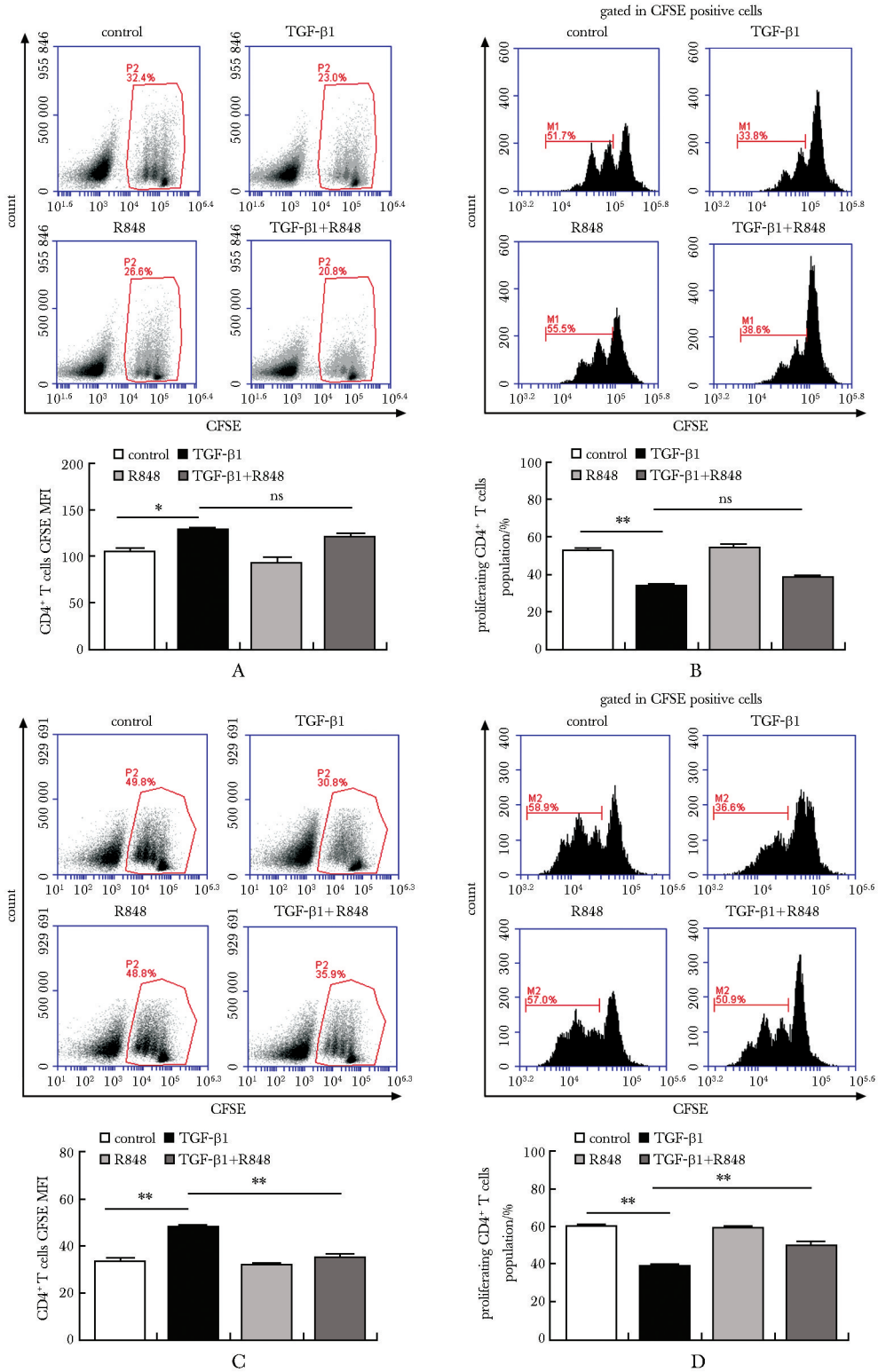
图 2　R848 对 TGF-β1 诱导 γδ Treg 产生的影响

Fig 2　Effect of R848 on TGF-β1-induced γδ Treg($n=3$)

胞的平均 CFSE 荧光值及增殖群比例无显著差异(图 3A,B),而 TGF-β1 与 R848 联合处理所获得的 Vδ2 γδ Treg 却失去了对 $CD4^+$ T 细胞增殖的抑制功能(图 3C,D)。这些结果表明 R848 能逆转 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 对 $CD4^+$ T 细胞增殖的抑制作用,但对 Vδ1 γδ Treg 的功能无显著影响。

2.4　R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 细胞毒效应分子表达及 TGF-β1 分泌的调控作用

与对照组相比,TGF-β1 诱导能明显降低 Vδ2 γδ Treg 穿孔素(图 4A)、颗粒酶 B(图 4B)和颗粒酶 K(图 4C)的表达,而其自身分泌 TGF-β1 水平也显著升高(图 4D);与 TGF-β1 组相比,R848 联合处理



Vδ1 or Vδ2 γδ T cells were co-cultured with CFSE-labeled $CD4^+$T cells at a ratio of 1∶1 for 3 days under different treatment conditions; A. representative flow cytometry plots for the proportion of $CD4^+$T cells and statistical analysis of CFSE mean fluorescence intensity (MFI); B. representative flow cytometry plots and statistical analysis of the proportion of proliferating $CD4^+$ T cells in the Vδ1 γδ T cell co-culture system; C, D. the corresponding parameters in the Vδ2 γδ T cell co-culture system; ns. $P>0.05$; $^*P<0.01$, $^{**}P<0.001$.

图 3 R848 对 TGF-β1 诱导 Vδ1 γδ Treg 和 Vδ2 γδ Treg 免疫抑制功能的影响

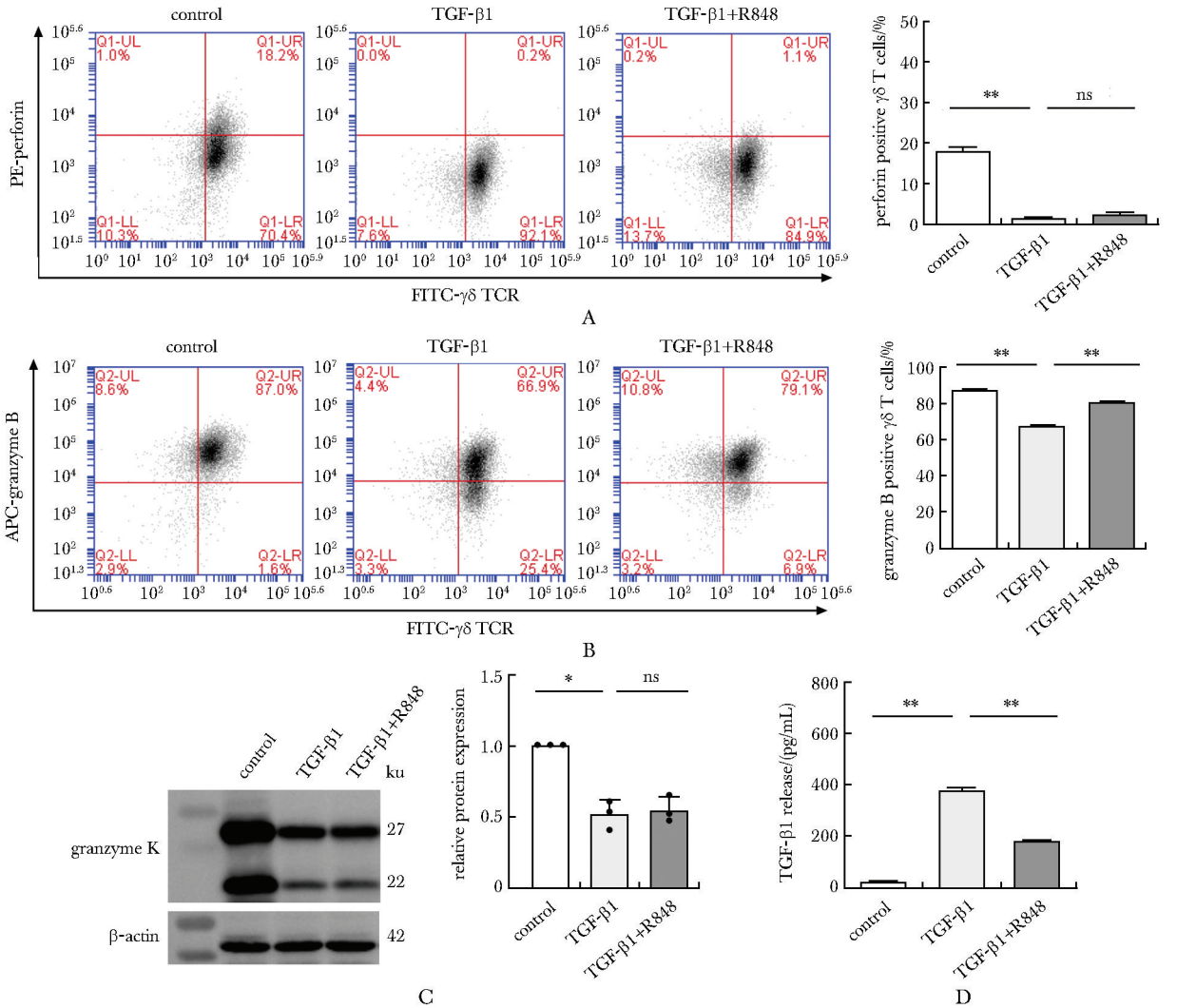
Fig 3 Effects of R848 on immune suppression of Vδ1 γδ Treg and Vδ2 γδ Treg induced by TGF-β1

能使颗粒酶 B 表达显著升高(图 4B),TGF-β1 分泌明显减少(图 4D),而穿孔素和颗粒酶 K 有升高的趋势,但无统计学差异(图 4A,4C)。以上结果表明 R848 能使 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 抑制性细胞因子分泌减弱,而杀伤功能增强。

2.5　R848 抑制 Vδ2 γδ Treg 的诱导及功能的分子机制探索

与诱导前相比,TGF-β1 诱导后有一系列基因表达发生变化,而 R848 联合处理可使其逆转。这些差异基因集中在多条与免疫调节相关的信号通路中,其中 IL-6/JAK/STAT3 信号通路在诱导后呈上调趋势(图 5A);而加入 R848 后,该通路的富集程度明显降低(图 5B),提示 R848 可能通过该通路来影响 Vδ2 γδ Treg 的诱导产生和功能。

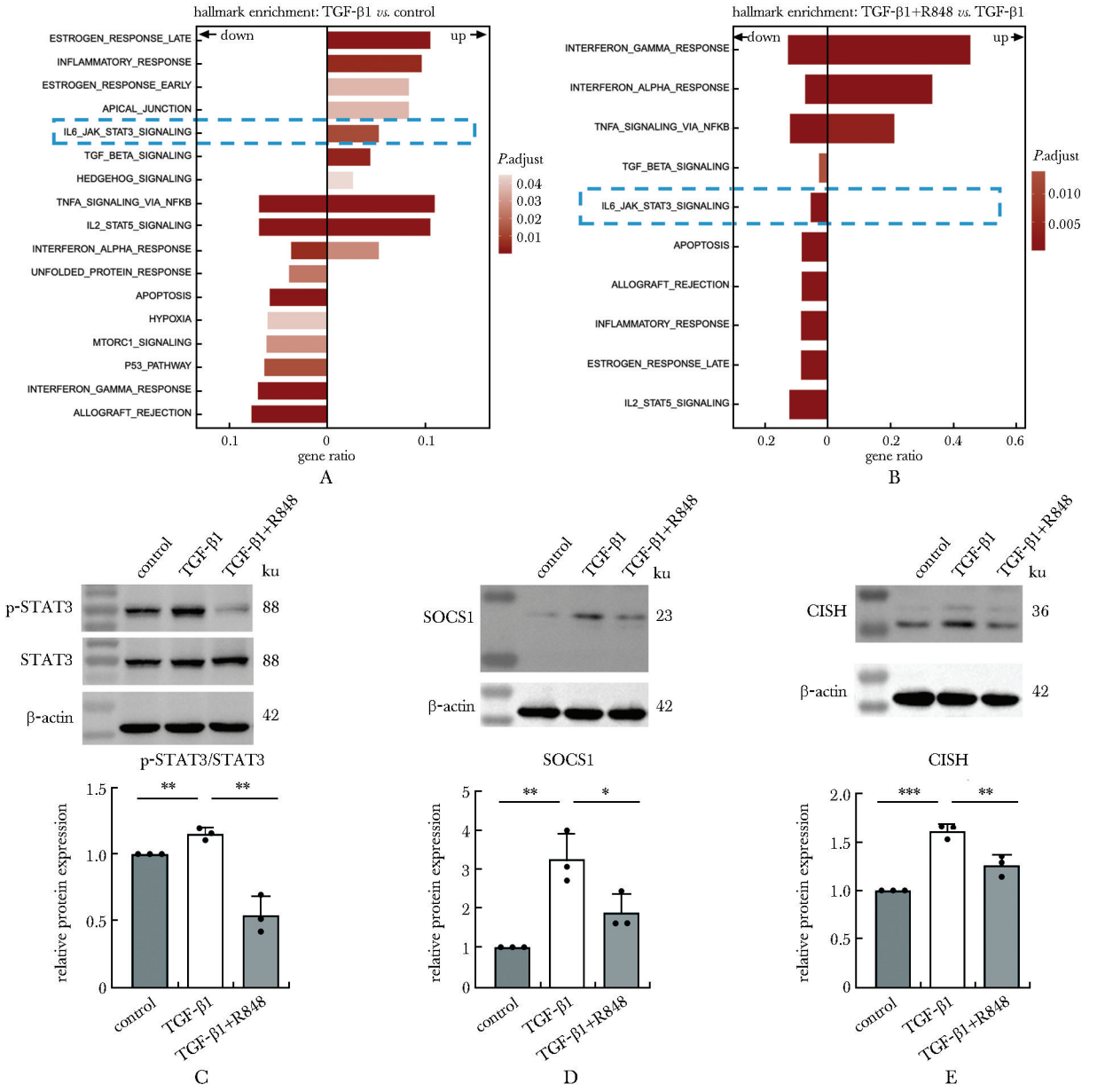
Western blot 结果显示,与对照相比,TGF-β1 诱导后 STAT3 磷酸化水平(图 5C)以及 SOCS1(图 5D)和 CISH(图 5E)的表达显著升高,而 R848 联合处理后都显著降低。这些结果提示 R848 可能通过抑制 JAK/STAT 信号通路的关键负调控蛋白 SOCS1 和 CISH 的表达,以及抑制 STAT3 的磷酸化,实现对 Vδ2 γδ Treg 功能的逆转。



A,B. representative flow cytometry plots and statistical analysis of perforin expression (A) and granzyme B (B); C. Western blot analysis of granzyme K expression in Vδ2 γδ T cells under different treatment conditions; D. TGF-β1 levels in the culture supernatants measured by ELISA; ns. $P>0.05$, $^{*}P<0.01$, $^{**}P<0.001$.

图 4　R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ Treg 细胞毒效应分子表达及 TGF-β1 分泌的调控作用

Fig 4　R848 modulated cytotoxic effector molecule expression and TGF-β1 secretion in TGF-β1-induced Vδ2 γδ Treg



A,B. Hallmark pathway enrichment analysis of the TGF-β1 group versus the control group(A) and the TGF-β1+R848 group versus the TGF-β1 group(B), the dashed box highlights the IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway; C-E. Western blot analysis of the phosphorylation level of STAT3(C), SOCS1 expression(D), CISH expression in Vδ2 γδ T cells(E); $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

图 5 R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ2 γδ T 细胞通路富集的影响及 Western blot 验证

Fig 5 Effects of R848 on pathway enrichment in TGF-β1-induced Vδ2 γδ T cells and validation by Western blot

3 讨论

γδ T 细胞作为具有细胞毒活性的固有免疫细胞,有强大的非特异性肿瘤杀伤作用[6]。但也有研究发现,部分肿瘤浸润的 γδ T 细胞可通过促进髓系抑制性细胞扩增等方式,发挥免疫抑制作用[7]。本课题组前期研究发现,小鼠 γδ T 细胞在 TGF-β1 诱导下会产生 $Foxp3^{+}$ γδ Treg[5]。本研究进一步证明,人 γδ T 细胞也能在 TGF-β1 诱导下表达 FoxP3 变成调节性表型,并且能对天然 $CD4^{+}$ T 细胞的增殖产生显著的抑制作用。

R848 在 γδ TCR 共刺激条件下可促进 Vδ2 γδ T细胞扩增并增强其抗肿瘤活性[4]。本研究在此基础上进一步发现,R848 能抑制 TGF-β1 对 Vδ2

γδ Treg 的诱导,下调其 TGF-β1 分泌水平,并逆转其对 $CD4^+$ T 细胞增殖的抑制作用;这些结果提示,R848 可部分解除 Vδ2 γδ Treg 的免疫抑制表型,促使其由调节性表型向效应性功能状态转化,这是对本课题组之前发现的重要补充。值得注意的是,R848 对 TGF-β1 诱导的 Vδ1 γδ Treg 无明显作用,提示其对不同 γδ T 细胞亚群的免疫调控可能具有一定选择性。这种差异可能与两者在 TCR 组成及对炎症信号应答模式等方面的差异密切相关[8]。

有研究表明,在 Treg 中,STAT3 活化可能通过与 FoxP3 相关转录复合体相互作用,参与其抑制性功能的形成与维持[9];CISH 和 SOCS1 通过抑制 JAK/STAT 信号通路维持免疫稳态的同时,也可作为效应 T 细胞的内源性免疫检查点,靶向敲除这些分子可增强 T 细胞对细胞因子刺激的响应性并提高其抗肿瘤活性[10-11]。与此一致,本研究发现,TGF-β1 可显著上调 Vδ2 Treg 的 STAT3 磷酸化水平,而加入 R848 后逆转该效应;同时,TGF-β1 联合 R848 处理后,Vδ2 Treg 的 SOCS1 和 CISH 表达下调;这些结果提示,JAK/STAT 信号通路可能是 R848 逆转 TGF-β1 诱导 Vδ2 Treg 免疫抑制表型和功能的重要枢纽。然而,本研究存在一定的局限性,未来仍需通过 STAT3 功能阻断以及 SOCS1/CISH 敲低或敲除等实验,对该信号轴进行更直接的功能性验证。

综上所述,TLR7/8 激动剂 R848 能够抑制 TGF-β1诱导 Vδ2 γδ Treg 的产生,促进其表达颗粒酶 B,下调 TGF-β1 分泌,解除其对 $CD4^+$ T 细胞增殖的抑制作用,实现对 Vδ2 γδ Treg 免疫抑制功能的逆转,该过程可能是通过 JAK/STAT 信号通路实现的。本研究为临床上在面对复杂的肿瘤微环境时采取更优的 γδ T 细胞协同增效策略提供实验依据。

参考文献:

[1] Li J, Cao Y, Liu Y, *et al*. Multiomics profiling reveals the benefits of gamma-delta (γδ) T lymphocytes for improving the tumor microenvironment, immunotherapy efficacy and prognosis in cervical cancer[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12: e008355. doi: 10.1136/jitc-2023-008355.

[2] Dang BN, Duwa R, Lee S, *et al*. Targeting tumor-associated macrophages with mannosylated nanotherapeutics delivering TLR7/8 agonist enhances cancer immunotherapy [J]. J Control Release, 2024, 372: 587-608.

[3] Michaelis KA, Norgard MA, Zhu X, *et al*. The TLR7/8 agonist R848 remodels tumor and host responses to promote survival in pancreatic cancer[J]. Nat Commun, 2019, 10: 4682. doi: 10.1038/s41467-019-12657-w.

[4] Wang H, Chen H, Liu S, *et al*. Costimulation of γδ TCR and TLR7/8 promotes Vδ2 T-cell antitumor activity by modulating mTOR pathway and APC function[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9: e003339. doi: 10.1136/jitc-2021-003339.

[5] Kang N, Tang L, Li X, *et al*. Identification and characterization of $Foxp3^+$ γδ T cells in mouse and human[J]. Immunol Lett, 2009, 125: 105-113.

[6] Hayati MJ, Yaghmoorian Khojini J, Khara F, *et al*. Gamma delta T cells in the tumour microenvironment: A double-edged sword[J]. Immunology, 2026, 177: 44-58.

[7] Chabab G, Barjon C, Bonnefoy N, *et al*. Pro-tumor γδ T cells in human cancer: polarization, mechanisms of action, and implications for therapy[J]. Front Immunol, 2020, 11: 2186. doi: 10.3389/fimmu.2020.02186.

[8] Hu Y, Hu Q, Li Y, *et al*. γδ T cells: origin and fate, subsets, diseases and immunotherapy [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8: 434. doi: 10.1038/s41392-023-01653-8.

[9] Chaudhry A, Rudra D, Treuting P, *et al*. $CD4^+$ regulatory T cells control Th17 responses in a Stat3-dependent manner[J]. Science, 2009, 326: 986-991.

[10] Lou E, Choudhry MS, Starr TK, *et al*. Targeting the intracellular immune checkpoint CISH with CRISPR-Cas9-edited T cells in patients with metastatic colorectal cancer: a first-in-human, single-centre, phase 1 trial[J]. Lancet Oncol, 2025, 26: 559-570.

[11] Schlabach MR, Lin S, Collester ZR, *et al*. Rational design of a SOCS1-edited tumor-infiltrating lymphocyte therapy using CRISPR/Cas9 screens[J]. J Clin Invest, 2023, 133: e163096. doi: 10.1172/JCI163096.