

Research
Immunology—Review

作为免疫疗法靶点的 FOXP3 及其辅因子

Yasuhiro Nagai, Lian Lam, Mark I. Greene, Hongtao Zhang *

Department of Pathology and Laboratory Medicine, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA 19104-4238, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 July 2018

Revised 11 December 2018

Accepted 5 January 2019

Available online 11 January 2019

关键词

调节性 T 细胞

叉头框蛋白 P3 (FOXP3)

翻译后修饰

自体免疫

癌症

摘要

叉头框蛋白 P3 (FOXP3) 是调节性 T 细胞 (Tregs) 的一个主要调节因子, 调节性 T 细胞是能抑制抗原特异性免疫反应的 T 细胞亚群, 在增强宿主耐受性和维持免疫平衡方面发挥着重要作用。众所周知, FOXP3 与多种蛋白质形成复合物, 并能通过乙酰化、磷酸化、泛素化和甲基化等各种翻译后修饰 (PTM) 进行调节。因此, 翻译后修饰可改变 FOXP3 的稳定性及其调节基因表达的能力, 并最终影响调节性 T 细胞活性。虽然 FOXP3 自身并非理想的药物靶点, 但脱乙酰酶、乙酰转移酶、激酶和其他可调节 FOXP3 的翻译后修饰的酶均为调控 FOXP3 和调节性 T 细胞活性的潜在靶点。但 FOXP3 并非这些酶的唯一底物; 因此, 当使用相关抑制剂时, 必须考虑是否存在有害的“FOXP3 脱靶”副作用。在本文中, 我们总结了有关 FOXP3 辅助因子和蛋白质翻译后修饰的最新研究进展, 以及它们在自体免疫和癌症免疫中的潜在临床应用。

© 2018 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 叉头框蛋白 P3 作为调节性 T 细胞的主要调节因子

调节性 T 细胞 (Tregs) 是抑制宿主免疫的 T 细胞的主要亚群。它们最初被称为分化簇 (CD)4⁺CD25^{high} T 细胞群 [1], 后来发现其主要表达叉头框蛋白 P3 (FOXP3) [2]。Ramsdell 和 Ziegler [3] 在发表的一篇综述中对 FOXP3 的历史进行了总结。自从发现了调节性 T 细胞后, 人们已进行了大量研究, 以揭示这种独特的 T 细胞亚群的作用和功能。

FOXP3 是一种属于叉头框蛋白家族的转录因子。它包含三个主要结构域: N 端结构域, 又称为“阻遏结构域” [4]; 锌指和亮氨酸拉链结构域 (ZL 结构域), 该结构域位于中心位置, 有助于形成 FOXP3 的同源二聚体,

或与其他 FOXP 家族成员 (如 FOXP1 和 FOXP4) 形成异二聚体 [5]; 以及位于羧基端且负责与 DNA 结合的高度保守的叉头 (FKH) 结构域。

Foxp3 基因作为导致 scurfy 小鼠 [6] 和人类 [7,8] 免疫失调、多内分泌腺病、肠病和性连锁 (IPEX) 综合征的致病基因被克隆发现。Scurfy 小鼠在 *Foxp3* 的 8 号外显子中被插入了两个碱基对 (bp), 这导致 FOXP3 蛋白质功能失常, 并使小鼠在大约三周龄时死亡 [6]。另外, 迄今为止, 在 IPEX 患者中已发现了 70 多种 *FOXP3* 突变位点 [9–11]。大部分突变发生在叉头结构域, 但在整个蛋白质的其他位置也发现了突变, 这表明 FOXP3 中的所有结构域对其免疫抑制功能均具有重要意义。

众所周知, FOXP3 形成了包含多种蛋白质的大型复合物。首先, Li 和 Greene [12] 发现 FOXP3 形成了从

* Corresponding author.

E-mail address: zhanghon@mail.med.upenn.edu (H. Zhang).

300 kDa到超过1200 kDa的不同分子量大小的大型复合物。随后, Rudra等[13]利用生化法和质谱法发现FOXP3能与360多种蛋白质形成复合物。有趣的是, Kwon等[14]已证明FOXP3可形成大小不一的复合物, 并且每个复合物具有不同的辅因子。例如, FOXP3既能与RelA、赖氨酸乙酰转移酶(KAT)5[也称为Tat的相互作用蛋白60(Tip60)]以及p300形成大型复合物, 又能与Ikaros家族锌指蛋白(IKZF)3、阴阳因子1(YY1)和组蛋白甲基转移酶2(EZH2)形成小型复合物。以上结果表明, FOXP3可通过协调多种辅因子来调节其靶向基因, 从而使T细胞具有调节功能。

2. FOXP3 与转录因子的关联

以下几种转录因子被确定为FOXP3辅因子:

活化T细胞核因子(NFAT): NFAT对外周诱导调节性T细胞(pTregs)或体外诱导调节性T细胞(iTregs)具有重要作用, 但对胸腺衍生调节性T细胞(tTregs)没有太大影响[15]。NFAT与FOXP3结合, 并抑制NFAT所调控的靶基因表达[16]。

Runt相关转录因子1(RUNX1): RUNX1与FOXP3发生相互作用, 并诱导FOXP3调控的基因表达[17]。此外, RUNX1与核心结合因子 β 亚单位(CBF β)形成复合物, 并直接与*Foxp3*启动子区中的保守非编码序列区2(CNS2)结合[18], 调节性T细胞内的*Foxp3*启动子区高度去甲基化, 并且在维持FOXP3表达[18]和调节性T细胞细胞谱系稳定性[19]方面发挥重要作用。

NF- κ B中的RelA和c-Rel分子: 如果小鼠敲除(KO)了c-Rel, 其胸腺发育阶段的调节性T细胞群会大幅减少[20]。Rel对外周诱导调节性T细胞的发育和FOXP3调节基因的表达/抑制也具有重要意义[21,22]。有趣的是, 与c-Rel缺失相比, *Foxp3*特异性RelA缺失易导致更严重的自体免疫症状, 这表明RelA在调节性T细胞的功能方面比c-Rel重要[22]。

干扰素调节因子4(IRF4): Treg特异性IRF4缺失导致辅助性T细胞2(Th2)选择性失调和自体免疫[23]。

除上述转录因子外, 还有许多其他转录因子被确定为FOXP3辅因子, 如Eos(IKZF4)[24]、Helios(IKZF2)[14,25]、视黄酸相关孤儿受体(ROR) γ [26,27]、ROR α [28]、缺氧诱导因子1- α (HIF1 α)[29]、信号转导和转录激活因子(STAT)3[30]、GATA3[13]、KRAB相关蛋白1(KAP1)[31,32]、YY1[13,33]和EZH2[34]。其

中, HIF1 α 和YY1似乎抑制了FOXP3的功能, 而其他辅因子则诱导FOXP3稳定和(或)协助调节性T细胞中的FOXP3靶向基因调节。值得注意的是, 根据Rubtsov等[35]建立的*Foxp3*^{YFP-Cre}模型显示, 此类基因在调节性T细胞中的基因缺失导致出现某些自体免疫表型, 但其结果不如在scurfy小鼠(表1)中的结果严重[13,15,19,22,23,25,27,29,30,32,34]。以上事实表明, 这些转录因子与FOXP3的关联对FOXP3的功能有重要意义, 但并不是最关键的。

3. FOXP3 与翻译后修饰蛋白的关联

FOXP3通过翻译后修饰(PTM)调节[36], 包括磷酸化、乙酰化、泛素化和甲基化。与上述转录因子相比, 调节性T细胞中蛋白质翻译后修饰的条件性缺失易导致更严重的自体免疫表型(表2)[37-49]。但所述蛋白质翻译后修饰也通过表观遗传修饰组蛋白质和其他蛋白质来调节细胞功能。FOXP3的蛋白质翻译后修饰是否足以独立维持调节性T细胞的稳定性和功能, 或者任何其他蛋白质的表观遗传修饰是否对此有所帮助, 目前尚待阐明。

3.1. FOXP3 的乙酰化和脱乙酰化

众所周知, 赖氨酸乙酰转移酶可将FOXP3乙酰化。赖氨酸乙酰转移酶可在其靶蛋白的赖氨酸中添加乙酰基。在赖氨酸乙酰转移酶中, Tip60(KAT5)和CREB(环磷酸腺苷反应元件结合蛋白)结合蛋白(CBP)/p300(KAT3A/3B)直接与FOXP3结合并将其乙酰化, 从而增强DNA结合力和稳定性[38,50,51]。

因为FOXP3中的乙酰化位点与泛素化位点重叠, 所以可通过赖氨酸乙酰转移酶进行乙酰化来预防泛素依赖性蛋白酶降解(见下文), 并诱导FOXP3蛋白的稳定性。

我们发现Tip60和p300可相互乙酰化, 并进一步诱导FOXP3乙酰化[37]。已有结构模型表明, 通过p300单独对K327位点的Tip60进行乙酰化有利于FOXP3与Tip60裂隙结合。调节性T细胞中的Tip60基因缺失会导致与scurfy小鼠相似的严重自体免疫问题, 表明Tip60对调节性T细胞功能具有至关重要的作用。

我们还曾报道, 作为天然的p300抑制剂, 山竹醇通过溶酶体依赖途径诱导FOXP3降解, 这表明p300在溶酶体依赖性FOXP3降解中发挥了作用[52]。但是, 如

表1 小鼠中转录因子基因缺失的表型

| Protein name | Mouse model | Phenotype | Ref. |
|------------------|--|--|------|
| NFAT | <i>Cd4^{Cre}/(NFAT1^{-/-}NFAT4^{-/-})^{NFAT2^{fl/fl}}</i> | Impaired iTreg induction; functionally no difference | [15] |
| RUNX-CBF β | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/CBFβ^{fl/fl}</i> | Lymphadenopathy and splenomegaly at 5–8 weeks old; not lethal, no obvious sign of autoimmunity up to 8–10 months of age | [19] |
| c-Rel, RelA | <i>Cd4^{Cre}/c-R^{el}fl/fl</i> <i>Cd4^{Cre}/RelA^{fl/fl}</i> <i>Cd4^{Cre}/c-Rel^{fl/fl}/RelA^{fl/fl}</i> <i>Foxp3^{YFP-Cre}/c-Rel^{fl/fl}</i> <i>Foxp3^{YFP-Cre}/RelA^{fl/fl}</i> <i>Foxp3^{YFP-Cre}/c-Rel^{fl/fl}/RelA^{fl/fl}</i> | Impaired Treg maturation in thymus Slight reduction of Treg population in thymus Dramatic reduction of Treg population in lymphoid tissues No obvious symptoms; impaired Treg function in colitis model Lethal by 15 weeks of age; no population change but impaired function of Tregs Lethal by 4 weeks of age; dramatic reduction of Treg population and function | [22] |
| IRF4 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/IRF4^{fl/fl}</i> | Showing autoimmune phenotypes at 3–4 months of age | [23] |
| Helios | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/Helios^{fl/fl}</i> | Not lethal; lymphadenopathy and splenomegaly at 6 months of age | [25] |
| ROR γ t | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/RORC^{fl/fl}</i> | Ameliorate glomerulonephritis in mouse model | [27] |
| HIF1 α | <i>Cd4^{Cre}/HIF1α^{fl/fl}</i> | Increased Treg and reduced Th17 population, resistant to EAE model | [29] |
| STAT3 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/STAT3^{fl/fl}</i> | Inflammatory bowel disease symptoms by 12–14 weeks of age | [30] |
| GATA3 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/GATA3^{fl/fl}</i> | Intestinal pathology and dermatitis develop after 6 months | [13] |
| KAP1 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/KAP1^{fl/fl}</i> | Lymphadenopathy and lung inflammation develop at 8–12 weeks of age | [32] |
| EZH2 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/EZH2^{fl/fl}</i> | 50% of lethality by 175 d after birth; showing various autoimmune symptoms | [34] |

EAE: experimental autoimmune encephalomyelitis; $-/-$: double KO; fl/fl: flox/flox, floxed; YFP: yellow fluorescent protein; Cre: Cre recombinase.

表2 小鼠中翻译后修饰基因缺失的表型

| Protein name | Mouse model | Phenotype | Ref. |
|--------------|---|---|----------------------|
| Tip60 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/Tip60^{fl/fl}</i> | Lethal by 4 weeks of age; significant reduction of Treg population and function | [37] |
| CBP/p300 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/EP300^{fl/fl}</i> <i>Foxp3^{YFP-Cre}/CREBBP^{fl/fl}</i> <i>Foxp3^{YFP-Cre}/(CREBBP^{fl/fl}EP300^{fl/fl})</i> | Mild autoimmunity develops at 10 weeks of age; less Treg-suppressive function 50% of mice have enlarged peripheral lymphoid tissues at 8–10 weeks of age; less Treg function Lethal by 4 weeks of age; dramatic reduction of Treg population and function | [38] [39] [39] |
| HDAC3 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/Hdac^{c3}fl/fl</i> | Lethal by 6 weeks of age; impaired Treg function | [40] |
| HDAC6 | KO | Increased Treg-suppressive function; regulated Foxp3 acetylation | [41] |
| HDAC9 | KO | Increased Treg-suppressive function | [42] |
| HDAC11 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/Hdac¹¹fl/fl</i> | Increased Treg-suppressive function; regulated Foxp3 acetylation | [43] |
| SIRT1 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}, Cd4^{Cre}/Sir¹fl/fl</i> | Increased Treg-suppressive function; regulated Foxp3 acetylation | [44] |
| Pim2 | KO | Increased Foxp3 expression and Treg-suppressive function | [45] |
| CDK | KO | Increased Treg-suppressive function | [46] |
| Cbl-b | KO | Increased Treg population | [47] |
| USP7 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/USP7^{fl/fl}</i> | Lethal by 4 weeks of age; significant reduction of Treg population and function | [48] |
| USP21 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/USP21^{fl/fl}</i> | Lymphadenopathy and splenomegaly develop at the age of 6–8 months | [49] |
| PRMT5 | <i>Foxp3^{YFP-Cre}/PRMT5^{fl/fl}</i> | Lethal by 4 weeks of age; significant reduction of splenic Treg and overall Treg function | — ^a |

CBP: cyclic adenosine monophosphate (cAMP) response element-binding protein (CREB)-binding protein; HDAC: histone deacetylase; SIRT1: sirtuin-1; CDK: cyclin-dependent kinase; Cbl-b: Casitas-B-lineage lymphoma protein-b; USP: ubiquitin-specific peptidase; PRMT: protein arginine methyltransferase.
^a Unpublished data by Nagai et al.

仅缺失p300[38]或CBP[39]之一，则只会导致相对轻微的自体免疫。因CBP和p300具有高度同源性且功能保守[53]，所以p300或CBP单独缺失不能有效地限制所需要的功能。p300和CBP的双重缺失证实了这一点，所导致的自体免疫疾病症状与Tip60缺失所导致的严重程度类似[39]。

赖氨酸脱乙酰酶，有时被称为组蛋白脱乙酰酶或HDAC，也可调节FOXP3功能。HDAC根据细胞定位、大小、催化袋中心数量以及与酵母原型的同源性划分为以下四类[54]：

- I类：HDAC1、2、3和8；
- II类：HDAC4、5、6、7、9和10；

- III类: SIRT1-7;
- IV类: HDAC11。

I类HDAC似乎能增强调节性T细胞功能。在调节性T细胞中, HDAC3的条件性缺失导致调节性T细胞功能下降, 并产生严重的scurfy样表型[40]。其他I类HDAC(即HDAC1和HDAC2)也在N端与FOXP3结合, 以调节多种基因的表达[55]。这些I类HDAC似乎并未改变FOXP3的翻译后修饰, 相反, 它们似乎被FOXP3募集, 因而抵消了启动子的高度乙酰化, 从而关闭炎症基因。

Li等[55]发现, FOXP3在N端区域直接与Tip60、HDAC7和HDAC9结合, 形成染色质重塑复合物。虽然HDAC7与FOXP3和Tip60的关联看似对FOXP3抑制靶向基因[56]具有重要意义, 但尚不清楚其确切机制。因为HDAC7几乎不具有酶活性, 并且需要与HDAC3等其他因子形成复合物后方可发挥功能[40], 但HDAC7在募集其他FOXP3辅因子方面可能具有重要作用。然而, 除了增强调节性T细胞功能之外, 缺失HDAC6[41,57]、HDAC9[42,57]、sirtuin-1 (SIRT1) [44,57,58,59]或HDAC11[43]还提高了FOXP3的乙酰化水平和总体表达量。

3.2. FOXP3 与激酶的相互作用

FOXP3的磷酸化最早由Samanta等[60]提出。此后, 据报道, 某些激酶会使FOXP3磷酸化[18, 36], 如周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 2、Pim1、Pim2和淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶 (LCK)。FOXP3经CDK2[46,61]、Pim1[62]和Pim2[45]磷酸化后, 会减弱FOXP3功能。CDK缺失的调节性T细胞显示出比野生型细胞更强的抑制功能。在FOXP3的CDK结合位点发生的突变增强了FOXP3的表达和功能。

Pim1在S418位点使FOXP3磷酸化, 这减少了FOXP3与靶向基因的染色质结合, 还进一步防止了FOXP3在S422位点的磷酸化。据报道, 在S422位点磷酸化对于FOXP3功能具有重要影响[63]。Pim2主要被确定为FOXP3依赖性基因, 并参与调节性T细胞体外扩增[64]。我们发现Pim2直接与FOXP3发生相互作用, 并在N端位点将FOXP3磷酸化[45]。Pim2 KO小鼠的调节性T细胞具有更强的FOXP3表达和抑制功能, 并且对右旋糖酐硫酸酯钠 (DSS) 诱导的结肠炎有抗性; 这表明FOXP3通过Pim2进行磷酸化也会影响FOXP3稳定性和功能。在癌细胞里, LCK在Y342位点使FOXP3磷酸化, 并提高其功能[65]。但尚不清楚LCK与FOXP3相互作用并影响后续磷酸化的机制。

未知激酶在S418位点对FOXP3的磷酸化能增强FOXP3与染色质DNA结合[63]。该位点的去磷酸化由肿瘤坏死因子 (TNF) 诱导的蛋白磷酸酶I (PP1) 所导致, 这在关节炎患者中被发现并报道过。在关节炎患者中, 调节性T细胞的免疫抑制功能受到明显损伤[63]。

3.3. FOXP3 的泛素化和降解

蛋白质泛素化是由E1、E2和E3连接酶家族所调节的多步过程。泛素化由泛素肽与靶蛋白的赖氨酸残基结合而发生。泛素肽本身含7个赖氨酸残基, 包括K48和K63。在各泛素肽上的这些赖氨酸残基中, 至少须通过其中之一形成多聚泛素链[66]。第48位赖氨酸 (K48) 相连的多聚泛素化是标记蛋白质被26S蛋白酶体降解的最普遍形式, 而非K48多聚泛素化通常涉及调节靶蛋白的功能, 而非蛋白质降解[67]。FOXP3泛素化大多与K48泛素化和降解有关[18,36]。

FOXP3泛素化通过以下几种途径诱导。HIF1 α 在缺氧条件下被诱导并直接与FOXP3结合, 导致FOXP3多聚泛素化和降解[29]。趋化因子 (C-C motif) 配体3 (CCL3) 信号也通过激活牛皮癣微环境中的蛋白激酶B α (PKB α) 途径诱导多聚泛素化; 但尚不清楚其确切机制[68]。在T细胞受体 (TCR) 刺激期间, 磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)-AKT信号通路发现选择性抑制, 从而抑制调节性T细胞的增殖, 但未对常规T细胞的增殖有任何明显抑制; 这表明调节性T细胞更依赖PI3K-AKT途径, 所以, 如果AKT抑制剂能特异性地递送至调节性T细胞, 则该抑制剂可限制调节性T细胞对肿瘤的浸润, 并刺激机体产生对肿瘤的免疫力[69]。

导致FOXP3泛素化并降解的酶是HSC70-相互作用蛋白 (CHIP) 羧基端和泛素连接酶 (Cbl-b)。Chen等[70]已表明STUB1以热休克蛋白 (HSP) 70依赖的方式在K227、K250、K263和K268残基处使FOXP3发生K48型泛素化。特异敲除STUB1或HSP70可提高FOXP3的表达, 并且STUB1在调节性T细胞中的过度表达降低了FOXP3的表达水平, 导致体外研究和体内小鼠模型中抑制性调节性T细胞功能降低。Cbl-b在TCR刺激下也会与FOXP3结合, 并与STUB1协作, 使FOXP3泛素化并降解[47]。

因多聚泛素化降低了FOXP3的稳定性, 所以预计去泛素化酶将提高FOXP3的稳定性。据报道, 泛素特异性肽酶 (USP) 7[48,71]和USP21[49]直接与FOXP3发生相互作用, 以通过降解泛素诱导稳定性。论证USP7

和USP21的重要性时显示，这两种肽酶中任意一个在调节性T细胞中特异性缺失，可引起小鼠的自体免疫反应[48,49]。需注意的是，尽管这两种去泛素化酶均会导致自体免疫，但USP7缺失会导致更严重的表型。在这些调节性T细胞中，Tip60表达也显著降低，表明Tip60功能失常也是造成这种严重自体免疫反应的原因之一。

3.4. FOXP3 的甲基化

最近的质谱分析结果显示FOXP3可被去甲基化。Geoghegan等[72]使用异构蛋氨酸和特异性精氨酸甲基化抗体确认了来自人类T细胞的1257种组织特异性和管家蛋白中的2502个精氨酸甲基化位点。他们从这些肽中鉴定出一个位于R51位点的甲基化FOXP3肽。我们独立鉴定了蛋白质精氨酸甲基转移酶（PRMT）5，作为FOXP3的新辅因子，它能使精氨酸对称性去甲基化[73][†]。调节性T细胞中PRMT5的条件性缺失导致严重的scurfy样表型，说明FOXP3甲基化对FOXP3功能也具有至关重要的作用。

4. Foxp3 及其辅因子的靶向治疗应用

因为调节性T细胞是抑制宿主免疫力的主要T细胞，所以它们被视为自体免疫[74]和癌症免疫疗法[75]临床应

用的重要靶点。为此，很多研究已对多种抑制剂和调节子进行探索，以试图直接调节FOXP3辅因子或FOXP3蛋白的表达（图1）。但这些研究大多作为概念验证使用动物模型进行。仅少数研究在临床环境中进行测试。

4.1. HDAC 抑制剂

因为HDAC抑制剂能增强FOXP3表达，并增加FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺调节性T细胞的数量和功能，所以这些抑制剂已在自体免疫和器官移植疾病模型中被用作治疗剂，以增强调节性T细胞活性。与调节性T细胞功能增强一致，使用HDAC抑制剂后，观察到调节性T细胞中的FOXP3被诱导乙酰化，并且数种具有功能活性的调节性T细胞相关标记物[FOXP3、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体相关蛋白（GITR）、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白（CTLA）4、程序性细胞死亡蛋白（PD）-1和白细胞介素（IL）-10]上调[76]。

在BALB/c至C57BL/6心脏移植模型中，HDAC抑制剂（曲古抑菌素）与低剂量雷帕霉素的联合使用使永久性同种异体移植存活[77]。移植前胸腺切除术和使用抗CD25单克隆抗体（mAb）（PC-61）清除中央和外周CD4⁺CD25⁺调节性T细胞，可以加速同种异体移植物的排斥反应，这也证实了调节性T细胞在这一过程中的作用。

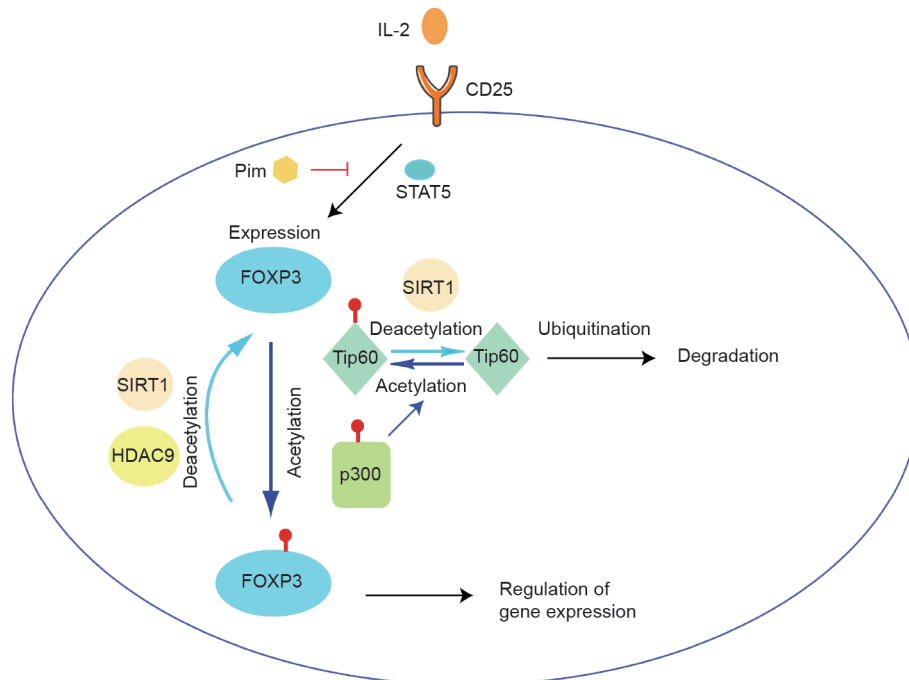


图1. 调节Foxp3和调节性T细胞功能的靶点路线图。IL：白细胞介素。

[†] Unpublished data by Nagai et al.

通过疾病模型的研究,也证明了曲古抑菌素A (TSA)和丙戊酸等Pan-HDAC抑制剂,可以治疗自体免疫性疾病,如结肠炎[77]和胶原蛋白诱导性关节炎[78]。因能调节调节性T细胞功能,丙戊酸也被用于增强腺病毒载体介导的呼吸道基因在囊胞性纤维症小鼠模型中的表达[79]。

在实验性自体免疫性前列腺炎(EAP)模型中,大鼠的雄性副腺中极易检测到细胞和体液前列腺特异性自体免疫反应。这种自体免疫炎症类似于人类的慢性前列腺炎和慢性盆腔疼痛综合征。用HDAC抑制剂MS-275进行治疗可显著减少在前列腺组织中局部累积的免疫细胞,并降低前列腺组织中促炎代表性分子的mRNA水平。最重要的是,MS-275治疗可增大淋巴结和外周血中FOXP3⁺CD4⁺调节性T细胞的比例。这项研究表明,MS-275可作为治疗炎症性前列腺炎的潜在候选药物[80]。

大部分用于治疗自体免疫疾病的HDAC抑制剂显示出广泛的抑制活性。但它们的靶点被认为是为II类HDAC[81]。因为I类HDAC与调节性T细胞活性呈正相关性,所以I类HDAC的选择性抑制剂在癌症治疗中具有较好应用性。

因为HDAC抑制剂也影响其他蛋白质,特别是组蛋白,所以它们可用于靶向癌细胞。事实上,已有数种HDAC在中国被批准用于治疗几类癌症,包括用于治疗T细胞淋巴瘤的罗米地辛、伏立诺他和贝利司他,以及用于治疗复发性或难治性外周T细胞淋巴瘤的西达本胺。

但这些HDAC抑制剂除了攻击癌细胞本身外,可能还具有其他活性。在临床研究中,除化疗外,患者接受贝利司他治疗后也会出现调节性T细胞下降,并且下降幅度取与治疗反应($P = 0.0041$)和无进展生存期($P = 0.021$)有关[82]。与无应答者相比,应答者的T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子(TIM)-3⁺CD8⁺T细胞的下降更明显($P = 0.049$)。

在三阴性乳腺癌(TNBC)模型中,HDAC抑制剂伏立诺他以时间依赖的方式上调TNBC细胞中PD-L1 mRNA和蛋白质表达,并在体外下调共培养的CD4⁺FOXP3⁺调节性T细胞。在体内三阴性4T1乳腺癌小鼠模型中,伏立诺他明显增强了对PD-1/CTLA4阻断的体内反应[83]。当然,需要通过临床研究及检查点抑制剂相结合的策略方可确认这种HDAC抑制剂是否能有效用于治疗人三阴性乳腺癌。

4.2. 组蛋白乙酰转移酶(HAT)抑制剂

修饰辅因子与FOXP3关联的小分子变构化合物可能是调节FOXP3功能的良好候选化合物。我们使用空洞诱导变构修饰(CIAM)法[84]开发了Tip60的变构修饰因子[85]。变构修饰因子B7A和SGF003对通过Tip60实施的组蛋白乙酰化的影响较小,但发现两者可诱导Tip60及其靶蛋白(包括FOXP3)之间的关联。根据小鼠结肠炎和胶原诱导性关节炎(CIA)模型可见,用以上化合物治疗可使自体免疫症状[85]得到明显改善。

A384T是FOXP3中存在的一种天然IPEX突变,它使FOXP3无法与Tip60结合,但保留了FOXP3正常的DNA结合能力和蛋白质稳定性。然而,正常的调节性T细胞功能受损。有趣的是,据报道,用CIAM化合物进行治疗可以修复FOXP3所调节基因的表达谱以及T细胞的免疫抑制功能[85]。

Tip60和p300抑制剂也是肿瘤治疗的良好候选抑制剂。据报道,Tip60抑制剂可通过诱导细胞凋亡抑制前列腺癌生长。NU9056在低浓度下能特异性降低调节性T细胞的抑制性,同时不影响效应T细胞增殖(未显示数据)。p300抑制剂也被证明能通过抑制调节性T细胞功能来提高肿瘤免疫性[38,39]。

4.3. 靶向FOXP3表达

除了靶向调节FOXP3的翻译后修饰来改变蛋白质稳定性外,还可靶向调节*Foxp3*在调节性T细胞中的转录,从而调节调节性T细胞功能。EZH2是组蛋白-赖氨酸N-甲基转移酶,在人类和小鼠模型中,可以增强肿瘤浸润调节性T细胞的活性[86]。Wang等[86]使用特异性EZH2抑制剂能破坏FOXP3表达的稳定性,并重新编码肿瘤浸润调节性T细胞,以显示其促炎性活性。在小鼠结肠肿瘤模型(MC38)中,有正常免疫系统的小鼠口服EZH2抑制剂可阻碍其肿瘤生长,但T细胞缺失重组激活基因1(Rag-1)^{-/-}小鼠的肿瘤生长未受阻碍;这一发现表明肿瘤浸润调节性T细胞活性起到了关键作用。

基于目前对Pim1和Pim2激酶在抑制FOXP3表达和调节性T细胞功能中所起作用的认识,这些激酶的抑制剂可以用作天然或实验性自体免疫疾病的治疗剂。Pim1/2抑制剂在人类[62]和小鼠[45]模型中均显示能增强调节性T细胞功能。

经探索,大剂量IL-2已作为一种用于促进T细胞功能和肿瘤免疫性的癌症免疫疗法;然而,它会以某种方式产生毒性。另据观察,大剂量IL-2会导致调节性T细

胞的抑制能力受损。据报道，大剂量IL-2对人体免疫系统（HIS）的毒性可通过使用Pim1激酶抑制剂山奈酚[87]在小鼠模型中得到缓解。

调节性T细胞表达有丰富的IL-2受体CD25。FOXP3的诱导和胸腺内调节性T细胞的分化高度依赖于IL-2以及作为IL-2R关键下游靶的STAT5。虽然IL-2已经被用于调节性T细胞体外扩增，但因其对其他T细胞也有刺激活性，所以它不是理想的调节性T细胞特异性治疗剂。最近，一种全人源抗IL-2抗体（F5111.2）已显示能稳定IL-2构象，从而在体外实验中导致STAT5优先磷酸化，在体内实验中导致调节性T细胞选择性扩张[88]。F5111.2能抑制IL-2与IL-2R β 结合，同时减少IL-2与IL-2R α 结合。通过三种疾病模型，F5111.2对自身免疫疾病的潜在治疗能力获得了证明：在非肥胖型糖尿病（NOD）小鼠模型中诱导1型糖尿病缓解；在实验性自身免疫性脑脊髓炎（EAE）模型中降低疾病严重程度；以及预防小鼠罹患异种移植物抗宿主病[88]。

4.4. 其他抑制剂

有趣的是，FOXP3的部分表观遗传修饰因子或翻译后修饰因子是癌细胞中的常见治疗靶点；这表明可以研制同时抑制肿瘤生长和调节性T细胞抑制功能的治疗剂[89,90]。众所周知，PRMT5在多类肿瘤中均过度表达[73,91]。我们最近的研究表明，*S*-腺苷甲硫氨酸竞争性抑制剂（但并非底物竞争性抑制剂）能有效降低FOXP3甲基水平化，并且特异性地降低人类和小鼠调节性T细胞的抑制功能。*S*-腺苷甲硫氨酸竞争性PRMT5抑制剂已用于诱导肿瘤免疫来改善抗erbB2/neu靶向治疗。[†]

调节FOXP3与其他辅因子的关联可能是调控调节性T细胞活性的新策略。Lozano等已研制出与FOXP3结合的细胞穿膜肽，以抑制FOXP3与NFAT[92]或RUNX1[93]的相互作用。这两项研究均在小鼠肿瘤模型中表现出肿瘤抑制活性。但是，治疗性多肽的稳定性一般较低，体内半衰期较短。这种缺点阻碍了该方法的临床应用，所以必须采用更好的策略加以克服[94,95]。

5. 结论

FOXP3是调节性T细胞的主调节因子，它具有多种辅因子，因此能通过非常复杂的机制调节其靶基因。虽

然据报道，FOXP3在其他细胞类型中也有表达，如活化T细胞、数种免疫细胞和肿瘤细胞，但调节性T细胞依然是FOXP3高水平表达的主要细胞类型[18]。因此，为了治疗自体免疫疾病以及癌症，靶向FOXP3在未来的临床应用中是一种值得考虑的思路。同时靶向FOXP3蛋白翻译后修饰和肿瘤细胞生长可能是一种很好的治疗癌症的策略。Foxp3辅因子的变构修饰可能是调节FOXP3功能的新策略。通过揭示FOXP3集合及其精确调节，可对调节性T细胞功能进行微调，以治疗多种疾病。

Acknowledgement

We acknowledge grant supports from the Breast Cancer Research Foundation and the National Institutes of Health to M.I. Greene (RO1CA219034).

Compliance with ethics guidelines

Yasuhiro Nagai, Lian Lam, Mark I. Greene, and Hongtao Zhang declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic selftolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of selftolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155(3):1151–64.
- [2] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299(5609):1057–61.
- [3] Ramsdell F, Ziegler SF. FOXP3 and scurfy: how it all began. *Nat Rev Immunol* 2014;14(5):343–9.
- [4] Deng G, Xiao Y, Zhou Z, Nagai Y, Zhang H, Li B, et al. Molecular and biological role of the FOXP3 N-terminal domain in immune regulation by T regulatory/suppressor cells. *Exp Mol Pathol* 2012;93(3):334–8.
- [5] Song X, Li B, Xiao Y, Chen C, Wang Q, Liu Y, et al. Structural and biological features of FOXP3 dimerization relevant to regulatory T cell function. *Cell Rep* 2012;1(6):665–75.
- [6] Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, Paepfer B, Clark LB, Yasayko SA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001;27(1):68–73.
- [7] Chatila TA, Blaeser F, Ho N, Lederman HM, Voulgaropoulos C, Helms C, et al. JM2, encoding a fork head-related protein, is mutated in X-linked autoimmunity-allergic dysregulation syndrome. *J Clin Invest* 2000;106(12):R75–81.
- [8] Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001;27(1):20–1.
- [9] Barzagli F, Passerini L, Bacchetta R. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome: a paradigm of immunodeficiency with autoimmunity. *Front Immunol* 2012;3:211.
- [10] d’Henze E, Ben-Shoshan M, Ochs HD, Torgerson TR, Russell LJ, Lejtényi C, et al. FOXP3 forkhead domain mutation and regulatory T cells in the IPEX

[†] Unpublished data by nagai et al.

- syndrome. *N Engl J Med* 2009;361(17):1710–3.
- [11] Bacchetta R, Barzaghi F, Roncarolo MG. From IPEX syndrome to FOXP3 mutation: a lesson on immune dysregulation. *Ann N Y Acad Sci* 2018;1417(1):5–22.
- [12] Li B, Greene MI. FOXP3 actively represses transcription by recruiting the HAT/HDAC complex. *Cell Cycle* 2007;6(12):1431–5.
- [13] Rudra D, deRoos P, Chaudhry A, Niec RE, Arvey A, Samstein RM, et al. Transcription factor Foxp3 and its protein partners form a complex regulatory network. *Nat Immunol* 2012;13(10):1010–9.
- [14] Kwon HK, Chen HM, Mathis D, Benoist C. Different molecular complexes that mediate transcriptional induction and repression by Foxp3. *Nat Immunol* 2017;18(11):1238–48.
- [15] Vaeth M, Schliesser U, Müller G, Reissig S, Satoh K, Tuettenberg A, et al. Dependence on nuclear factor of activated T-cells (NFAT) levels discriminates conventional T cells from Foxp3⁺ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(40):16258–63.
- [16] Wu Y, Borde M, Heissmeyer V, Feuerer M, Lapan AD, Stroud JC, et al. FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell* 2006;126(2):375–87.
- [17] Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, et al. Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/RUNX1. *Nature* 2007;446(7136):685–9.
- [18] Lu L, Barbi J, Pan F. The regulation of immune tolerance by FOXP3. *Nat Rev Immunol* 2017;17(11):703–17.
- [19] Rudra D, Egawa T, Chong MM, Treuting P, Littman DR, Rudensky AY. RUNXCBFB complexes control expression of the transcription factor Foxp3 in regulatory T cells. *Nat Immunol* 2009;10(11):1170–7.
- [20] Ruan Q, Kameswaran V, Tone Y, Li L, Liou HC, Greene MI, et al. Development of Foxp3⁺ regulatory T cells is driven by the c-Rel enhanceosome. *Immunity* 2009;31(6):932–40.
- [21] Grinberg-Bleyer Y, Oh H, Desrichard A, Bhatt DM, Caron R, Chan TA, et al. NF- κ B c-Rel is crucial for the regulatory T cell immune checkpoint in cancer. *Cell* 2017;170(6). 1096–108.e13.
- [22] Oh H, Grinberg-Bleyer Y, Liao W, Maloney D, Wang P, Wu Z, et al. An NF- κ B transcription-factor-dependent lineage-specific transcriptional program promotes regulatory T cell identity and function. *Immunity* 2017;47(3):450–65.e5.
- [23] Zheng Y, Chaudhry A, Kas A, deRoos P, Kim JM, Chu TT, et al. Regulatory T-cell suppressor program co-opts transcription factor IRF4 to control TH2 responses. *Nature* 2009;458(7236):351–6.
- [24] Pan F, Yu H, Dang EV, Barbi J, Pan X, Grosso JF, et al. Eos mediates Foxp3-dependent gene silencing in CD4⁺ regulatory T cells. *Science* 2009;325(5944):1142–6.
- [25] Sebastian M, Lopez-Ocasio M, Metidji A, Rieder SA, Shevach EM, Thornton AM. Helios controls a limited subset of regulatory T cell functions. *J Immunol* 2016;196(1):144–55.
- [26] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, Ivanov II, Min R, Victora GD, et al. TGF- β -induced Foxp3 inhibits T_H17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t function. *Nature* 2008;453(7192):236–40.
- [27] Kluger MA, Meyer MC, Nosko A, Goerke B, Luig M, Wegscheid C, et al. ROR γ t/Foxp3⁺ cells are an independent bifunctional regulatory T cell lineage and mediate crescentic GN. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(2):454–65.
- [28] Du J, Huang C, Zhou B, Ziegler SF. Isoform-specific inhibition of ROR γ mediated transcriptional activation by human FOXP3. *J Immunol* 2008;180(7):4785–92.
- [29] Dang EV, Barbi J, Yang HY, Jinasena D, Yu H, Zheng Y, et al. Control of T_H17/T_{reg} balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell* 2011;146(5):772–84.
- [30] Chaudhry A, Rudra D, Treuting P, Samstein RM, Liang Y, Kas A, et al. CD4⁺ regulatory T cells control T_H17 responses in a STAT3-dependent manner. *Science* 2009;326(5955):986–91.
- [31] Huang C, Martin S, Pflieger C, Du J, Buckner JH, Bluestone JA, et al. Cutting edge: a novel, human-specific interacting protein couples FOXP3 to a chromatin remodeling complex that contains KAP1/TRIM28. *J Immunol* 2013;190(9):4470–3.
- [32] Tanaka S, Pflieger C, Lai JF, Roan F, Sun SC, Ziegler SF. KAP1 regulates regulatory T cell function and proliferation in both FOXP3-dependent and -independent manners. *Cell Rep* 2018;23(3):796–807.
- [33] Hwang SS, Jang SW, Kim MK, Kim LK, Kim BS, Kim HS, et al. YY1 inhibits differentiation and function of regulatory T cells by blocking FOXP3 expression and activity. *Nat Commun* 2016;7(1):10789.
- [34] DuPage M, Chopra G, Quiros J, Rosenthal WL, Morar MM, Holohan D, et al. The chromatin-modifying enzyme EZH2 is critical for the maintenance of regulatory T cell identity after activation. *Immunity* 2015;42(2):227–38.
- [35] Rubtsov YP, Rasmussen JR, Chi EY, Fontenot J, Castelli L, Ye X, et al. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity* 2008;28(4):546–58.
- [36] van Loosdregt J, Coffey PJ. Post-translational modification networks regulating FOXP3 function. *Trends Immunol* 2014;35(8):368–78.
- [37] Xiao Y, Nagai Y, Deng G, Ohtani T, Zhu Z, Zhou Z, et al. Dynamic interactions between Tip60 and p300 regulate FOXP3 function through a structural switch defined by a single lysine on Tip60. *Cell Rep* 2014;7(5):1471–80.
- [38] Liu Y, Wang L, Predina J, Han R, Beier UH, Wang LC, et al. Inhibition of p300 impairs Foxp3⁺ T regulatory cell function and promotes antitumor immunity. *Nat Med* 2013;19(9):1173–7.
- [39] Liu Y, Wang L, Han R, Beier UH, Akimova T, Bhatti T, et al. Two histone/protein acetyltransferases, CBP and p300, are indispensable for Foxp3⁺ Regulatory cell development and function. *Mol Cell Biol* 2014;34(21):3993–4007.
- [40] Wang L, Liu Y, Han R, Beier UH, Bhatti TR, Akimova T, et al. FOXP3⁺ regulatory T cell development and function require histone/protein deacetylase 3. *J Clin Invest* 2015;125(8):3304.
- [41] de Zoeten EF, Wang L, Butler K, Beier UH, Akimova T, Sai H, et al. Histone deacetylase 6 and heat shock protein 90 control the functions of Foxp3⁺ Regulatory cells. *Mol Cell Biol* 2011;31(10):2066–78.
- [42] de Zoeten EF, Wang L, Sai H, Dillmann WH, Hancock WW. Inhibition of HDAC9 increases T regulatory cell function and prevents colitis in mice. *Gastroenterology* 2010;138(2):583–94.
- [43] Huang J, Wang L, Dahiya S, Beier UH, Han R, Samanta A, et al. Histone/protein deacetylase 11 targeting promotes Foxp3⁺ Treg function. *Sci Rep* 2017;7(1):8626.
- [44] Beier UH, Wang L, Bhatti TR, Liu Y, Han R, Ge G, et al. Sirtuin-1 targeting promotes Foxp3⁺ T-regulatory cell function and prolongs allograft survival. *Mol Cell Biol* 2011;31(5):1022–9.
- [45] Deng G, Nagai Y, Xiao Y, Li Z, Dai S, Ohtani T, et al. Pim-2 kinase influences regulatory T cell function and stability by mediating Foxp3 protein N-terminal phosphorylation. *J Biol Chem* 2015;290(33):20211–20.
- [46] Chunder N, Wang L, Chen C, Hancock WW, Wells AD. Cyclin-dependent kinase 2 controls peripheral immune tolerance. *J Immunol* 2012;189(12):5659–66.
- [47] Zhao Y, Guo H, Qiao G, Zucker M, Langdon WY, Zhang J. E3 ubiquitin ligase Cblb regulates thymic-derived CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell development by targeting Foxp3 for ubiquitination. *J Immunol* 2015;194(4):1639–45.
- [48] Wang L, Kumar S, Dahiya S, Wang F, Wu J, Newick K, et al. Ubiquitin-specific protease-7 inhibition impairs Tip60-dependent Foxp3⁺ T-regulatory cell function and promotes antitumor immunity. *EBioMedicine* 2016;13:99–112.
- [49] Li Y, Lu Y, Wang S, Han Z, Zhu F, Ni Y, et al. USP21 prevents the generation of Thelper-1-like Treg cells. *Nat Commun* 2016;7(1):13559.
- [50] van Loosdregt J, Vercoulen Y, Guichelaar T, Gent YY, Beekman JM, van Beekum O, et al. Regulation of Treg functionality by acetylation-mediated Foxp3 protein stabilization. *Blood* 2010;115(5):965–74.
- [51] Li B, Samanta A, Song X, Iacono KT, Bembas K, Tao R, et al. FOXP3 interactions with histone acetyltransferase and class II histone deacetylases are required for repression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(11):4571–6.
- [52] Du T, Nagai Y, Xiao Y, Greene MI, Lysosome-dependent p300/FOXP3 degradation and limits Treg cell functions and enhances targeted therapy against cancers. *Exp Mol Pathol* 2013;95(1):38–45.
- [53] Chan HM, La Thangue NB. p300/CBP proteins: HATs for transcriptional bridges and scaffolds. *J Cell Sci* 2001;114(Pt 13):2363–73.
- [54] Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5(9):769–84.
- [55] Li B, Samanta A, Song X, Iacono KT, Brennan P, Chatila TA, et al. FOXP3 is a homo-oligomer and a component of a supramolecular regulatory complex disabled in the human XLAAD/IPEX autoimmune disease. *Int Immunol* 2007;19(7):825–35.
- [56] Fischle W, Dequiedt F, Fillion M, Hendzel MJ, Voelter W, Verdin E. Human HDAC7 histone deacetylase activity is associated with HDAC3 *in vivo*. *J Biol Chem* 2001;276(38):35826–35.
- [57] Beier UH, Wang L, Han R, Akimova T, Liu Y, Hancock WW. Histone deacetylases 6 and 9 and sirtuin-1 control Foxp3⁺ regulatory T cell function through shared and isoform-specific mechanisms. *Sci Signal* 2012;5(229):ra45.
- [58] van Loosdregt J, Brunen D, Fleskens V, Pals CE, Lam EW, Coffey PJ. Rapid temporal control of Foxp3 protein degradation by sirtuin-1. *PLoS ONE* 2011;6(4):e19047.
- [59] Xie X, Stubbington MJ, Nissen JK, Andersen KG, Hebenstreit D, Teichmann SA, et al. The regulatory T cell lineage factor Foxp3 regulates gene expression through several distinct mechanisms mostly independent of direct DNA binding. *PLoS Genet* 2015;11(6):e1005251.
- [60] Samanta A, Li B, Song X, Bembas K, Zhang G, Katsumata M, et al. TGF- β and IL-6 signals modulate chromatin binding and promoter occupancy by acetylated FOXP3. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(37):14023–7.
- [61] Morawski PA, Mehra P, Chen C, Bhatti T, Wells AD. Foxp3 protein stability is regulated by cyclin-dependent kinase 2. *J Biol Chem* 2013;288(34):24494–502.
- [62] Li Z, Lin F, Zhuo C, Deng G, Chen Z, Yin S, et al. Pim1 kinase phosphorylates the human transcription factor FOXP3 at serine 422 to negatively regulate its activity under inflammation. *J Biol Chem* 2014;289(39):26872–81.
- [63] Nie H, Zheng Y, Li R, Guo TB, He D, Fang L, et al. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF- α in rheumatoid arthritis. *Nat Med* 2013;19(3):322–8.
- [64] Basu S, Golovina T, Mikheeva T, June CH, Riley JL. Cutting edge: Foxp3-mediated induction of Pim 2 allows human T regulatory cells to preferentially expand in rapamycin. *J Immunol* 2008;180(9):5794–8.
- [65] Nakahira K, Morita A, Kim NS, Yanagihara I. Phosphorylation of FOXP3 by LCK downregulates MMP9 expression and represses cell invasion. *PLoS ONE* 2013;8(10):e77099.
- [66] Dikic I, Wakatsuki S, Walters KJ. Ubiquitin-binding domains—from structures to functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009;10(10):659–71.
- [67] Komander D, Rape M. The ubiquitin code. *Annu Rev Biochem* 2012;81(1):203–29.
- [68] Chen L, Wu J, Pier E, Zhao Y, Shen Z. mTORC2-PKBA/AKT1 serine 473

- phosphorylation axis is essential for regulation of FOXP3 stability by chemokine CCL3 in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2013;133(2):418–28.
- [69] Abu-Eid R, Samara RN, Ozbun L, Abdalla MY, Berzofsky JA, Friedman KM, et al. Selective inhibition of regulatory T cells by targeting the PI3K-AKT pathway. *Cancer Immunol Res* 2014;2(11):1080–9.
- [70] Chen Z, Barbi J, Bu S, Yang HY, Li Z, Gao Y, et al. The ubiquitin ligase Stub1 negatively modulates regulatory T cell suppressive activity by promoting degradation of the transcription factor Foxp3. *Immunity* 2013;39(2):272–85.
- [71] van Loosdregt J, Fleskens V, Fu J, Brenkman AB, Bekker CP, Pals CE, et al. Stabilization of the transcription factor Foxp3 by the deubiquitinase USP7 increases Treg-cell-suppressive capacity. *Immunity* 2013;39(2):259–71.
- [72] Geoghegan V, Guo A, Trudgian D, Thomas B, Acuto O. Comprehensive identification of arginine methylation in primary T cells reveals regulatory roles in cell signalling. *Nat Commun* 2015;6(1):6758.
- [73] Stopa N, Krebs JE, Shechter D. The PRMT5 arginine methyltransferase: many roles in development, cancer and beyond. *Cell Mol Life Sci* 2015;72(11):2041–59.
- [74] Tao JH, Cheng M, Tang JP, Liu Q, Pan F, Li XP. Foxp3, regulatory T cell, and autoimmune diseases. *Inflammation* 2017;40(1):328–39.
- [75] Tanaka A, Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Cell Res* 2017;27(1):109–18.
- [76] Tao R, Hancock WW. Regulating regulatory T cells to achieve transplant tolerance. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007;6(4):348–57.
- [77] Tao R, de Zoeten EF, Ozkaynak E, Chen C, Wang L, Porrett PM, et al. Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nat Med* 2007;13(11):1299–307.
- [78] Saouaf SJ, Li B, Zhang G, Shen Y, Furuuchi N, Hancock WW, et al. Deacetylase inhibition increases regulatory T cell function and decreases incidence and severity of collagen-induced arthritis. *Exp Mol Pathol* 2009;87(2):99–104.
- [79] Nagai Y, Limberis MP, Zhang H. Modulation of Treg function improves adenovirus vector-mediated gene expression in the airway. *Gene Ther* 2014;21(2):219–24.
- [80] Zhang ZY, Schluesener HJ. HDAC inhibitor MS-275 attenuates the inflammatory reaction in rat experimental autoimmune prostatitis. *Prostate* 2012;72(1):90–9.
- [81] Wang L, Tao R, Hancock WW. Using histone deacetylase inhibitors to enhance Foxp3⁺ regulatory T-cell function and induce allograft tolerance. *Immunol Cell Biol* 2009;87(3):195–202.
- [82] Thomas A, Rajan A, Szabo E, Tomita Y, Carter CA, Scepura B, et al. A phase I/II trial of belinostat in combination with cisplatin, doxorubicin, and cyclophosphamide in thymic epithelial tumors: a clinical and translational study. *Clin Cancer Res* 2014;20(21):5392–402.
- [83] Terranova-Barberio M, Thomas S, Ali N, Pawlowska N, Park J, Krings G, et al. HDAC inhibition potentiates immunotherapy in triple negative breast cancer. *Oncotarget* 2017;8(69):114156–72.
- [84] Murali R, Cheng X, Berezov A, Du X, Schön A, Freire E, et al. Disabling TNF receptor signaling by induced conformational perturbation of tryptophan-107. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(31):10970–5.
- [85] Bin Dhuban K, d’Hennezel E, Nagai Y, Xiao Y, Shao S, Istomine R, et al. Suppression by human FOXP3⁺ regulatory T cells requires FOXP3–Tip60 interactions. *Sci Immunol* 2017;2(12):eaai9297.
- [86] Wang D, Quiros J, Mahuron K, Pai CC, Ranzani V, Young A, et al. Targeting EZH2 reprograms intratumoral regulatory T cells to enhance cancer immunity. *Cell Rep* 2018;23(11):3262–74.
- [87] Li Y, Strick-Marchand H, Lim AI, Ren J, Masse-Ranson G, Li D, et al. Regulatory T cells control toxicity in a humanized model of IL-2 therapy. *Nat Commun* 2017;8(1):1762.
- [88] Trotta E, Bessette PH, Silveria SL, Ely LK, Jude KM, Le DT, et al. A human anti-IL-2 antibody that potentiates regulatory T cells by a structure-based mechanism. *Nat Med* 2018;24(7):1005–14.
- [89] Biswas S, Rao CM. Epigenetics in cancer: fundamentals and beyond. *Pharmacol Ther* 2017;173:118–34.
- [90] Pfister SX, Ashworth A. Marked for death: targeting epigenetic changes in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2017;16(4):241–63.
- [91] Yang Y, Bedford MT. Protein arginine methyltransferases and cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13(1):37–50.
- [92] Lozano T, Villanueva L, Durántez M, Gorraiz M, Ruiz M, Belsúe V, et al. Inhibition of FOXP3/NFAT interaction enhances T cell function after TCR stimulation. *J Immunol* 2015;195(7):3180–9.
- [93] Lozano T, Gorraiz M, Lasarte-Cía A, Ruiz M, Rabal O, Oyarzabal J, et al. Blockage of FOXP3 transcription factor dimerization and FOXP3/AML1 interaction inhibits T regulatory cell activity: sequence optimization of a peptide inhibitor. *Oncotarget* 2017;8(42):71709–24.
- [94] Mathur D, Prakash S, Anand P, Kaur H, Agrawal P, Mehta A, et al. PEPLife: a repository of the half-life of peptides. *Sci Rep* 2016;6:36617.
- [95] Craik DJ, Fairlie DP, Liras S, Price D. The future of peptide-based drugs. *Chem Biol Drug Des* 2013;81(1):136–47.