

新型免疫抑制因子白细胞介素 35 与自身免疫性疾病

师佩佩 综述 谭利明, 李罗清 审校

中南大学湘雅二医院神经内科, 湖南省长沙市 410000

摘要: 白细胞介素 35 (IL-35) 是最近发现的新型免疫抑制/抗炎因子, 是 IL-12 家族成员之一, 它是由 IL-12 α 、Ebi3 两个亚基组成的二聚体蛋白, 主要由调节性 T 细胞 (Treg) 组成性分泌, 它对于 Treg 细胞功效的发挥是必需的, IL-35 通过诱导调节性 T 细胞扩增、抑制效应细胞如 Th17 细胞增殖, 明显抑制实验性结肠炎、实验性自身免疫性脑脊髓炎等自身免疫疾病症状。本文阐述了 IL-35 作用机制及其在自身免疫性疾病中的调控机制, 为寻找新的治疗靶点提供新思路。

关键词: 白细胞介素 35; 调节性 T 细胞; Th17 细胞; 自身免疫疾病; EB 病毒诱导基因 3

2007 年 Collison 等^[1] 研究发现, 特化的免疫淋巴细胞——调节性 T 细胞能够释放一种由 Ebi3 (EBV-induced gene 3) 和 IL-12 α 两个蛋白质构成的二聚体蛋白, 它被认为是一种新型免疫抑制/抗炎因子。国际免疫学协会将其正式命名为白细胞介素 35 (IL-35), 它通过扩增调节性 T 细胞 (Treg cells)、抑制 Th17 细胞 (T-helper type 17 cells) 发展从而抑制免疫反应, 事实上, 缺失了 Ebi3 和 IL-12 α 的调节性 T 细胞也失去了抑制效应性 T 细胞的大部分作用。Chaturvedi 等^[2] 在其研究中认为, 人类 Treg 细胞发挥调节抑制功能或感染耐受功能需要 IL-35。小鼠 Treg 细胞在 IL-35 的存在下能将原始 T 细胞转化为 iTreg35 细胞——一种 IL-35 诱导的 Treg 细胞群, 该细胞群能够抑制 T 细胞增殖, 在调控感染耐受方面发挥重要作用^[3]。

1 IL-35 基本作用机制

1.1 基本情况

IL-35 被认为是 IL-12 家族成员之一, 它与 IL-12 共享 IL-12 α 亚基, 同 IL-27 共享 Ebi3 亚基。Ebi3 首次被发现于 EB 病毒感染的 B 细胞内, 另外它在扁桃体、脾脏也有表达, Liu 等^[4] 认为 Ebi3 能抑制 Th1、Th17、Treg 细胞反应。同其他 IL-12 家族成员主要由树突状细胞、巨噬细胞等产生不同, IL-35 由 Treg 细胞分泌, 并且其功能是抑制性的。Collison 等^[1] 研究发现缺乏 Ebi3 或 IL-12 α , 小鼠 Treg 细胞抑制能力均降低。

Li 等^[5] 检测组织中 IL-35 的表达谱及其调节机制, 结果证明, IL-35 是经各种促炎症转录因子或细胞内毒素 (LPS) 刺激后, 由血管内皮细胞、平

滑肌细胞和单个核细胞表达生成。他们还发现 IL-35 表达与以下两个机制相关: 即 NF- κ B 转录因子可能参与调控 Ebi3 和 IL-12 α 亚基的表达。IL-35 的两个亚基 IL-12 α 、Ebi3 分别被不同 MicroRNA 以“双伐门”方式调控, 只有当两个亚基均被诱导时其表达才上调。作者还提示一种新的可能性, 认为 IL-35 与同为二聚体的 IL-12 之间的竞争有可能参与其炎症抑制活动。

1.2 IL-35 与调节性 T 细胞

Treg 是一种很重要的 CD4⁺ T 细胞的亚型, 多个实验研究表明 CD4⁺ CD25⁺ Tregs 清除或功能缺陷与多种自身免疫疾病发生有关^[6-8]。而过继转移 CD4⁺ CD25⁺ Tregs 能对多种实验性自身免疫病如结肠炎、实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 等提供显著的保护作用^[9, 10]。最近研究证实, 在体内外实验 Treg 细胞介导的抑制活动中, IL-35 均发挥很重要的作用。

IL-35 作为一种新型的由 Treg 分泌的抑制因子, 不仅有助于其抑制活性, 同时能促进该细胞生成^[11]。Collison 等^[1] 从小鼠功能基因组中识别该新型抑制性分子, 结果 Ebi3 在小鼠 Treg 细胞中表达较 Teff (effector CD4⁺ T) 细胞更高。将两种细胞共培养时, 发现 Ebi3 和 IL-12 α 的 mRNA 明显上调, 因而 IL-35 转录水平明显提高。而 RT-PCR 分析此共培养体系显示, Teff 细胞表达的 Ebi3、IL-12 α 几乎可以忽略不计。作者分别检测了野生型、Ebi3 缺陷型、IL-12 α 缺陷型小鼠 Treg 细胞体外抑制野生型小鼠 Teff 细胞的能力, 结果同后两种缺陷小鼠相反, 野生鼠 Treg 细胞展现出强大的调控抑制 Teff

收稿日期: 2012-12-31; 修回日期: 2013-04-07

作者简介: 师佩佩 (1987-), 女, 在读硕士, 主要从事神经免疫基础及临床研究。

通讯作者: 李罗清, 男, 教授, 主任医师, 主要从事神经免疫治疗与颅内动脉瘤介入治疗研究。Email: luql99s@163.com。

细胞增殖的活性。这些数据都表明这种新型二聚体细胞因子 IL-35 主要来自 Treg 细胞分泌,且其对于 Treg 细胞活性最大化是必要的。该作者^[12]将 Treg 细胞与原始 T 细胞 (Tconv) 置于 Transwell 板上,首先利用半透膜隔离,随后与 Tconv 细胞接触,结果 IL-35 分泌水平提高 40 倍。这意味着 IL-35 是由 Treg、Tconv 细胞接触后产生的。另外与野生型 Treg 相比,IL-10⁻ Treg 与 Tconv 直接接触后其抑制功能有所下降,而与 Tconv 未接触时,这种下降趋势更明显。故我们认为 IL-35、IL-10 联合或协同作用能使 Treg 细胞抑制活性最大化,并且抑制活性经 Tconv 细胞激活后增强。关于内源性 IL-35,已有证据^[13]证实是由 Treg 细胞在炎症刺激下反应性诱导生成并持续表达,从而发挥其抑制作用,而 Treg 能限制 IL-35 生成可能是由于 Ebi3 是 Foxp3 (翅膀状螺旋转录因子, forkhead box P3) 的下游目标,而 Foxp3 对于 Treg 细胞发展及功能是必须的^[1]。

1.3 IL-35 与 Th17 细胞关系

Harrington 等^[14]和 Park 等^[15]分别发现了一类与 Th1 细胞和 Th2 细胞不同的 T 细胞亚群并命名为 Th17 细胞 (T-helper type 17 cells),它能分泌 IL-17A、IL-17F 等细胞因子。近年来越来越多的研究发现 Th17 细胞在炎症与自身免疫性疾病发展变化中发挥了重要作用。它分泌一定水平 IL-17、IL-22 等炎症介质引起炎症细胞浸润和组织损伤^[15]。

IL-35 能够抑制 Teff 细胞、抑制初始 CD4⁺ T 细胞向 Th 17 细胞极化。Wirtz 等^[16]构建了载体表达 Ebi3 并共价连接 IL-12p35 形成重组 IL-35 (rIL-35),结果发现 rIL-35 能够明显减轻实验性结肠炎病情的发展,并伴随着 Th17 细胞标志物 IL-17 因子分泌水平降低。Niedbala 等^[17]研究认为 IL-35 能够通过扩增 Treg 细胞、抑制 Th17 细胞发展抑制免疫反应。IL-35 在强烈抗原刺激如急性 EBV (EB 病毒, Epstein-Barr virus) 感染中能够激活 Th1 样细胞从而有助于感染的控制,它也能够对 Treg 细胞进行扩增作用,在随后的慢性感染阶段通过抑制剩余效应性细胞阻止附带的炎症损害,甚至它也能抑制 Th17 细胞分化从而预防过度自身免疫反应的发生。而在慢性炎症刺激下,IL-35 可能选择性抑制效应细胞,如 Th17 细胞,这可能导致自身免疫性疾病病情减轻。不同于其他抑制因子只能在炎症的初始阶段起作用,IL-35 对于已经发生的自身免疫疾病也有作用,总之,我们认为 IL-35 主要通过

抑制 Th17 细胞发展从而抑制免疫反应。

2 IL-35 在自身免疫性疾病中作用

2.1 IL-35 与胶原诱导的自身免疫性关节炎

类风湿性关节炎一种以损害滑膜、软骨和骨的一种慢性炎性自身免疫性疾病,其病因与发病机制尚不明确。胶原性关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 鼠模型为鸡、牛、大鼠的 II 型胶原诱导,它与人 RA 发病机制、病理变化类似。Niedbala 等^[17]共价连接 Ebi3 与 IL-12p35 构建成一个异二聚体蛋白并命名为融合蛋白 IL-35,该蛋白在体外经刺激后能诱导小鼠 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞增殖,而扩增后的 Treg 群 Foxp3 表达水平、IL-10 产生水平均增高,且它在体外仍能抑制 Teff 与 Th17 细胞增殖。在体内实验中,经 IL-35 融合蛋白处理过的小鼠发生胶原诱导关节损害的严重程度明显减轻,并伴随 IL-17 生成的减少及 IFN- γ 的增加。故我们认为 IL-35 主要是通过抑制体内 Th1、Th17 反应,抑制胶原诱导的关节炎发展,并阻止已经形成的关节炎炎症进程^[18]。

2.2 IL-35 与中枢神经系统脑脊髓炎

实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 是中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 白质脱髓鞘为特征的迟发性变态反应性自身免疫疾病,是人类多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 的理想动物模型^[19]。Liu 等^[4]用髓鞘少突胶质细胞糖蛋白 (myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG) 肽段诱导剔除 Ebi3 基因 (Ebi3⁻) 的小鼠建立 EAE 模型并检测发病情况,结果 Ebi3⁻与野生型对照小鼠相比并没有出现自身免疫或炎症性疾病过度的效果,只是发病症状较后者稍严重而已。然而 Ebi3⁻鼠外周淋巴器官 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数量却显著增加、在体内外抑制功能也有明显增强,且生成的 IL-2、IL-17 明显增多。这些数据支持 Ebi3 对 Th1、Th17 细胞及 Treg 细胞反应的抑制能力,但缺陷组小鼠 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞调控抑制功能反而增强,该结果与先前对于 IL-35 功能的研究相反。因此我们认为 Ebi3 能够抑制 Th1、Th17 细胞反应与促进 IL-2、IL-17 生成,从而减弱 EAE 病情发展。但并不能认为其对 Treg 细胞反应有促进作用。Tirota 等^[20]将嗜神经性的 JHM 病毒株 (mouse hepatitis virus, JHMV) 感染 Ebi3⁻小鼠后引起急性脱髓鞘病变,死亡率较野生小鼠明显升高,从受感染的 Ebi3⁻小鼠体内分离出

的病毒特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞数量较野生型小鼠增加,但分泌的 IL-10 水平变化却很小。这些都证明在 JHMV 感染 CNS 后,Ebi3 对于病毒特异性 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的功能有重要影响,提示我们 Ebi3 相关的细胞因子对宿主 CNS 病毒感染的控制有调节作用。Zandian 等^[21]建立了一种由表达 IL-2 的 I 型单疱病毒(HSV-1)即重组 HSV-IL-2 病毒诱导形成的小鼠 CNS 脱髓鞘模型,研究人员发现,注射 HSV-IL-12p70(IL-12 p35、IL-12p40 双表达的 IL-12 异二聚体)重组病毒、IL-12p70 质粒 DNA 均能剂量依赖性地阻断 HSV-IL-2 重组病毒诱导的小鼠脑、视神经与脊髓脱髓鞘病变,而注射 IL-35 DNA 对鼠脑、视神经也产生相同抑制效应,而对脊髓则发挥减弱效应。因此我们推测 IL-35 信号通路通过抑制自身反应性 T 细胞发展从而抑制 HSV-IL-2 诱导的免疫病变。IL-35 这种免疫抑制活性预示着 Treg 细胞将成为治疗肿瘤^[22]及自身免疫疾病的潜力目标。

2.3 IL-35 与炎症性肠病(实验性结肠炎)

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)其病因和发病机制尚不清楚,现在大多数认为是肠黏膜免疫细胞的活化伴正常黏膜功能下调,导致了炎症级联放大和局部炎症介质对组织的损伤。Wirtz 等^[16]研究发现,同正常对照小鼠相比,Ebi3-(缺陷)小鼠诱导的结肠炎其肠道病理特征明显增多,而且存活时间明显减短。作者还发现经 IL-35 重复注射处理后的小鼠明显恢复体重及食欲,而产生的 IL-17 等因子的量均较对照组更少。另外经检测处理后的小鼠 Th1、Th17 细胞相关的转录因子也明显受到抑制。因此我们认为 IL-35 有能力抑制 Th1、Th17 介导的炎症免疫反应,从而保护小鼠肠道免受免疫反应损害,故 IL-35 或许能作为慢性结肠炎患者的治疗目标发展。

2.4 IL-35 与 I 型糖尿病

I 型糖尿病也是一种自身免疫性慢性疾病,它的自我免疫反应导致胰岛 β 细胞损伤致胰岛素分泌障碍。Bettini 等^[23]利用质粒重组造出一种非肥胖糖尿病(nonobese diabetic, NOD) RIP-IL-35 转基因小鼠,该小鼠在鼠胰岛素促进剂(rat insulin promoter, RIP)作用下实现 IL-35 在胰岛 β 细胞靶表达。他们分析评估了自身免疫性糖尿病、胰岛炎以及浸润的细胞群,发现尽管胰岛内 IL-35 分泌有限,但胰腺 β 细胞 IL-35 异位表达仍对自身免疫性

糖尿病显示了长期的实质性保护作用。而在该糖尿病小鼠体内,其胰岛 T 细胞浸润与增殖明显降低,胰岛内浸润的 CD4⁺ 与 CD8⁺ T 细胞数量大量减少,这些变化都代表着 IL-35 的生物活性。该研究反应了在一定环境下原始的、生物学活性的 IL-35 有能力充分保护胰岛 β 细胞免受自身免疫攻击。这些直接或间接证明 IL-35 对 I 型糖尿病有潜在的治疗能力。

3 结语

综上所述,IL-35 的发现具有非常重要的意义,这个新发现的抑制性细胞因子有多种调控效应,能够在体内外参与 Treg 扩增,也能抑制 Teff 及 Th17 细胞增殖,目前自身免疫性疾病确切的发病机制并不清楚,但已发现 IL-35 是免疫抑制性的,可能是一种新型抵抗炎症性疾病的成员,参与调控包括 RA 在内的多种自身免疫性疾病,故对于 IL-35 作用机制及治疗潜力的研究绝对有必要,这或许能够有助于研究人员开发出癌症新疫苗、免疫疾病和炎症的新疗法^[24]。因此,需要更多的分子生物学、遗传学、免疫学及其他相关学科的共同研究,进一步阐明 IL-35 参与自身免疫性疾病及其他炎症的发病机制。

参 考 文 献

- [1] Collison LW. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, 2007, 450(7169): 566-569.
- [2] Chaturvedi V. Cutting edge: Human regulatory T cells require IL-35 to mediate suppression and infectious tolerance. *J Immunol*, 2011, 186(12): 6661-6666.
- [3] Collison LW. IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nat Immunol*, 2010, 11(12): 1093-1101.
- [4] Liu JQ. Increased Th17 and regulatory T cell responses in EBV-induced gene 3-deficient mice lead to marginally enhanced development of autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*, 2012, 188(7): 3099-3106.
- [5] Li X. IL-35 is a novel responsive anti-inflammatory cytokine—a new system of categorizing anti-inflammatory cytokines. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33628.
- [6] Xystrakis E, Boswell SE, Hawrylowicz CM. T regulatory cells and the control of allergic disease. *Expert Opin Biol Ther*, 2006, 6(2): 121-133.
- [7] Coombes JL. Regulatory T cells and intestinal homeostasis. *Immunol Rev*, 2005, 204: 184-194.
- [8] Vignali D. How many mechanisms do regulatory T cells need? *Eur J Immunol*, 2008, 38(4): 908-911.

- [9] Morgan ME. CD25⁺ cell depletion hastens the onset of severe disease in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(5): 1452-1460.
- [10] Sydora BC. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells have divergent effects on intestinal inflammation in IL-10 gene-deficient mice. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(6): 1544-1552.
- [11] Brusko TM. Functional defects and the influence of age on the frequency of CD4⁺ CD25⁺ T-cells in type 1 diabetes. *Diabetes*, 2005, 54(5): 1407-1414.
- [12] Collison LW. Regulatory T cell suppression is potentiated by target T cells in a cell contact, IL-35-and IL-10-dependent manner. *J Immunol*, 2009, 182(10): 6121-6128.
- [13] Bettini M, Vignali DA. Regulatory T cells and inhibitory cytokines in autoimmunity. *Curr Opin Immunol*, 2009, 21(6): 612-618.
- [14] Harrington LE. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1123-1132.
- [15] Peron JP. Oral tolerance reduces Th17 cells as well as the overall inflammation in the central nervous system of EAE mice. *J Neuroimmunol*, 2010, 227(1-2): 10-17.
- [16] Wirtz S. Interleukin-35 mediates mucosal immune responses that protect against T-cell-dependent colitis. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1875-1886.
- [17] Niedbala W. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells. *Eur J Immunol*, 2007, 37(11): 3021-3029.
- [18] Kochetkova I. IL-35 stimulation of CD39⁺ regulatory T cells confers protection against collagen II-induced arthritis via the production of IL-10. *J Immunol*, 2010, 184(12): 7144-7153.
- [19] Petry KG. Experimental allergic encephalomyelitis animal models for analyzing features of multiple sclerosis. *Pathol Biol (Paris)*, 2000, 48(1): 47-53.
- [20] Tirotta E. Epstein-Barr virus-induced gene 3 negatively regulates neuroinflammation and T cell activation following coronavirus-induced encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*, 2013, 254(1-2): 110-116.
- [21] Zandian M. Use of cytokine immunotherapy to block CNS demyelination induced by a recombinant HSV-1 expressing IL-2. *Gene Ther*, 2011 18(7): 734-742.
- [22] 韦浩,陈春美,杨卫忠. 调节性 T 细胞与胶质瘤免疫研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2011(6): 605-608.
- [23] Bettini M. Prevention of autoimmune diabetes by ectopic pancreatic beta-cell expression of interleukin-35. *Diabetes*, 2012, 61(6): 1519-1526.
- [24] Ye S. Interleukin-35: The Future of Hyperimmune-Related Diseases? *J Interferon Cytokine Res*, 2013.

良性脑膜瘤侵袭性的分子机制研究进展

刘迎锋 综述 潘亚文* 袁国强 审校

1. 兰州大学第二医院神经外科医学中心,甘肃 兰州 730030
2. 兰州大学神经病学研究所,甘肃 兰州 730030

摘要: 脑膜瘤虽是良性肿瘤,但其生物学行为表现有一定的侵袭性,常侵袭周围组织和结构,导致术中切除不彻底和术后复发。而且目前研究认为,脑膜瘤的术后效果和术后复发与脑膜瘤的侵袭性密切相关。随着外科手术技术和生物医学技术的发展,为了提高脑膜瘤的手术治疗效果和减少术后复发,脑膜瘤的侵袭性受到大家的关注,尤其是在侵袭性形成的分子机制和基因方面。现就与脑膜瘤侵袭性相关的分子生物学方面的研究进展进行综述。

关键词: 脑膜瘤; 侵袭性; 分子生物学; 遗传学;

大部分脑膜瘤的临床和形态学是良性表现, 一般生长缓慢, 仅对周围组织和结构产生压迫作

收稿日期:2012-12-21;修回日期:2013-04-15

¹ 作者简介:刘迎锋(1984-),男,在读硕士研究生,研究方向:脑膜瘤

* 通讯作者:潘亚文,博士,教授,研究方向:颅底肿瘤,脑膜瘤。