

白细胞介素 13(IL-13)的研究进展

(综述)

浙江医科大学临床医学系 90 级七年制 李 岩 祝文娴 审校

白细胞介素 13(IL-13)是近年发现的细胞因子,现就该因子的研究进展作一综述。

1 IL-13 的发现

1987 年,Cherwinski 等用 RNA 杂交、功能性单特异的生物检测和单克隆抗体等方法,研究小鼠 Th₁ 和 Th₂ 细胞克隆合成淋巴因子时发现,激活的 Th₂ 细胞除合成 IL-4、IL-5 外,尚可检测到诱导基因 P₆₀₀ 的 mRNA^[1]。1989 年,Brown 等人确定此 P₆₀₀ 的基因编码一种新的具有疏水 N 末端序列的由 131 个氨基酸组成的蛋白质,在 Th₂ 亚群中大量表达^[2]。1993 年,Mckenzie 等人从激活的人类 T 细胞 cDNA 文库中,筛选分离出与 P₆₀₀ 相对应的人类 cDNA 克隆,并对其编码蛋白质进行了一系列生物学活性的研究,揭示了这种新蛋白质主要作用于单核细胞和 B 细胞,类似于 IL-4^[3]。同时,Minty 等人也从激活的人外周血单个核细胞 cDNA 文库中,鉴别筛选出相似的 cDNA 编码的新细胞因子(NC₃₀)^[6],并在 1993 年的 Keystone 细胞因子会议上被命名为 IL-13。

2 IL-13 的分子生物学特性

2.1 IL-13 的核酸和蛋白质结构 RNA 杂交分析显示^[3,4],激活的人 T 细胞克隆可检测到 hIL-13 的 mRNA(1.3 kb),而在未激活的 T 细胞,以及心、脑、胎盘、肺、肝、骨骼肌等其它组织中,均未能检测到。激活的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞克隆均能分泌 hIL-13,其中

CD4⁺ 细胞具有 Th₀、Th₁ 和 Th₂ 特性^[5]。T 细胞克隆在激活后 1 h 就诱导出较高水平的 IL-13 mRNA,2 h 后达到峰值,72 h 后仍能检测出相当水平的 mRNA,hIL-13 mRNA 的此种生成动力学显著不同于 IL-4 的迟发而短暂的生成特性。推测 IL-13 是各种 T 细胞亚群激活后快速而持续作用的一种主要细胞因子。

小鼠 IL-13(mIL-13)的 cDNA(即 P₆₀₀)来自于 Cl. Ly-1⁺2⁻/9 Th₂ 细胞株的诱导特异的 mRNA^[2]。当用 P₆₀₀ cDNA 作探针筛选人类 T 细胞 mRNA 构建的 cDNA 文库时,获得以下结果:①在 B₂₁CD4⁺ T 细胞克隆(属 Th₀)的 cDNA 中可观察到有确定的杂交;②全长度的人 IL-13 cDNA 克隆可从 ConA 激活的 A10CD8⁺ T 细胞克隆的一个文库中读出^[3],从 PMA、抗 CD28 单抗激活的外周淋巴细胞的 cDNA 文库中获同样结果^[4];此外,以有邻近 IL-4 和 IL-5 基因编码的基因组 DNA 与激活的人外周血淋巴细胞 cDNA 文库杂交,也分离出一部分 IL-13 的 cDNA^[6]。

IL-13 cDNA 编码 131 个氨基酸,而 hIL-13 cDNA 开放读码框也编码类似的 132 个氨基酸^[3,4]。hIL-13 可有不同的形式,一小部分编码蛋白质在第 61 位上 Asp 置换 Gly^[4],也有许多蛋白在第 98 位上编码一个附加的 Gln 残基^[3]。编码蛋白的 N 末端区域为疏水区,构成常见分泌蛋白的信号肽,而成熟分泌蛋白的 N 端蛋白基因为 Gly-21 或 Ser-19。hIL-13 cDNA 有 2 个可能的蛋氨酸

起始密码,其 3'非编码区有 4 个拷贝的(A/T)ATTTA(A/T)序列,与 mRNA 的不稳定性有关。hIL-13 的 cDNA 核苷酸序列有 66% 与 mIL-13 同源;它们的编码蛋白也有 58% 以上的氨基酸序列相同,两者均有 5 个半胱氨酸残基;hIL-13 有 4 个潜在的 N-连接的糖基化位点,而 mIL-13 则有 3 个^[3,4]。

当重组 IL-13 经 COS^[3,4]或 E. Coli^[3]等宿主细胞表达后,得到成熟的分泌蛋白,非糖基化和糖基化 IL-13 的分子量分别为 9 kDa 和 17 kDa。进一步研究显示,IL-13 和 IL-4 氨基酸序列有 25%~30% 是同源的^[4,7],IL-13 中保留了 IL-4 疏水核心结构中的 25 个氨基酸,两者多仅在 4 个 α 螺旋与 2 个短 β 折叠之间的连接环有较大区别;圆二色性(CD)分光镜分析也揭示,mIL-13 和 hIL-4 都有高度的 α -螺旋特性^[7]。

2.2 IL-13 的基因结构与定位 hIL-13 和 mIL-13 的 DNA 序列长度分别为 4.6 kb 和 4.3 kb,基因均含有 4 个外显子和 3 个内含子,在单倍体基因组中呈单拷贝,其中 hIL-13 基因的外显子 4 的 5' 末端存在一个改变的 3'-剪接/接受体的位点,所以 hIL-13 的 98 位 Gln 残基可出现或缺失,而在其它细胞因子的基因中,内含子-外显子的连接并不影响氨基酸的密码子^[9]。

hIL-13 基因位于 5q31,而 mIL-13 基因位于第 11 号染色体上^[9]。而且一个与造血和免疫调节有关的基因簇 IL-3、IL-4、IL-5、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)也位于此区域^[5]。hIL-13 基因位于 IL-4 基因上游 50 kb 以内^[6]。这些基因簇编码的蛋白质均具有 4 个 α -螺旋束的核心结构,与 IL-13 一样(mIL-13 除外),具有共同的内含子-外显子结构。这种基因结构相似性提示,它们可能由同一原始基因复制而来,并控制它们协调表达^[9]。

3 IL-13 的生物学活性

对重组 hIL-13 和 mIL-13 一系列生物学

活性的研究显示,IL-13 主要作用于 B 细胞、单核细胞、巨噬细胞,而对 T 细胞无作用。hIL-13 和 mIL-13 对人类细胞具有同样的活性,但 mIL-13 对小鼠细胞作用更强^[5]。

3.1 IL-13 对人 B 细胞的作用 IL-13 对不同成熟阶段 B 细胞表现不同的作用。①在 B 细胞激活的早期,IL-13 使其 CD23 和主要组织相容性复合体(MHC) I 类抗原表达增强^[9,10],也上调 sIgM、CD71、CD72 的表达,但对 CD19、CD20、CD25、CD40 和 MHC I 类抗原、B7、ICAM-1、LFA-1、LFA-3^[9] 等表达无显著影响。②IL-13 可促进活化 B 细胞的生长:在抗 Ig 和抗 CD40 抗体存在时,IL-13 刺激 B 细胞生长,且呈剂量依赖性^[3,10,11],IL-2 和 IL-10 对此有协同作用,IL-13 优先作用于 sIgD⁻ B 细胞^[10]。③对 Ig 合成的影响:在 B 细胞分化阶段,IL-13 诱导 IgE 和 IgG₄ 的合成,促进 IgM 和总 IgG 的产生,但未观察到 IgA 合成^[9~11]。IgE 和 IgG₄ 合成的增加,并非由于 IL-13 促进少数 IgE 定型 B 细胞过多的增殖,而因 Ig 类型转换所致。这可能在超敏反应中起重要作用。④诱导 B 细胞胚系 ϵ 的转录,可测得其合成的 mRNA^[9],此转录往往和随后进行的 IgE 转换合成相关联。mIL-13 或 hIL-13 均不能诱导小鼠 B 细胞合成 IgE,可能与小鼠 B 细胞缺少功能性 IL-13 受体有关^[5]。

3.2 IL-13 对人单核细胞的作用 IL-13 对人单核细胞的形态、表面抗原表达、抗体依赖的细胞毒作用(ADCC)、细胞因子合成均有较强的影响^[3,4,12]。①单核细胞在 IL-13 作用下可形成许多长突起,细胞相互聚集,并更牢固地粘附底物;IL-13 还可延长其培养生存时间(30 天以上)^[3]。②IL-13 对一些整合素超家族成员如 CD11b、CD11c、CD18、CD49(VLA-5)等的表达有增强作用,但对 CD11a、CD49b(VLA-2)、VLA-3、CD49d(VLA-4)、CD49f(VLA-6)、CD61(β_3)、 β_1 则无影响;IL-13 能上调 MHC I 类抗原、CD13、CD23 的表

达,下调 CD64 (FcrRI)、CD32 (FcrR I)、CD16 (FcrR III) 和 CD14 的表达,但不影响 MHC I 类抗原 CD54 (ICAM-1)、ICAM-2 和 CD58 (IHA-3) 的表达^[12]。③hIL-13 抑制单核细胞的 ADCC 作用,且能拮抗 IFN- γ 和 IL-10 对 ADCC 的增强作用^[12],可能与 IL-13 下调 FcrR I 表达等有关。④IL-13 对单核细胞合成炎症性细胞因子有抑制作用,包括 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、MIP-1 α 、TNF- α 、IL-10、IL-12、GM-CSF 和 G-CSF 等,同时增强 IL-1 受体拮抗剂 IL-1ra 的分泌,此特性与 IL-4 和 IL-10 类似。IL-13 和 IL-4 的此种抑制作用发生在转录水平上,与内源性 IL-10 自身分泌作用无关,IL-13 抑制单核细胞细胞因子生成的生理意义有待于进一步阐明,可能与 IL-4 一样,通过抑制这些细胞因子的生成以抑制 Th₁ 细胞的形成,从而有利于 Th₂ 细胞应答的发展。

3.3 IL-13 对小鼠巨噬细胞的作用 IL-13 可抑制与炎症反应有关的巨噬细胞活性,这种作用类似 IL-4 和 IL-10^[13],主要表现为:①影响 M Φ 的形态:GMM Φ (在 GM-CSF 存在下培养的小鼠巨噬细胞)和 MM Φ (在 M-CSF 存在下培养的巨噬细胞)在 IL-13 作用下胞体更长,突起更复杂,甚至融合成巨细胞;IL-13 虽不导致 M Φ 增殖,但延长其存活时间(1 月以上)^[13]。②对表面抗原的影响:IL-13 对 M Φ 的 MHC I 类和 I 类抗原表达都有增强作用,CD11b (MAC-1) 有轻微增加,对 GMM Φ 和 MM Φ 的 Fc γ R 均有抑制作用,而对 Fc α R 无影响,对其它表面标记如 F4/80 等亦无影响^[13]。③IL-13 可中度抑制 M Φ 产生炎症性细胞因子,如 IL-1、IL-6、TNF- α 、IL-12 等^[13]。④IL-13 抑制一氧化氮(NO)介导的细胞毒作用:NO 在清除胞内寄生物的反应中起重要作用,与 IL-4、IL-10 类似,IL-13 也抑制激活的 M Φ 产生 NO。用 IL-13 作预处理的 GMM Φ 经脂多糖活化后释放相当的 NO,其生成量与胞内寄生物(如利什曼

原虫)的生存时间成反比;而产生低基础水平 NO 的 MM Φ 则对 IL-13 或 IL-4 有抵抗作用,胞内寄生物生存也不受影响^[13]。尽管 IL-13 使 GMM Φ 产生 NO 的功能降低,但一般不影响 M Φ 吞噬功能和抗原递呈功能^[13]。⑤IL-13 对骨髓来源的 M Φ 的发育影响:在小鼠骨髓的培养中,mIL-13 可诱发大量粘附细胞的产生,这些粘附细胞可能来源于一种骨髓中少见而在胸腺、脾脏缺失的非粘附前体细胞,它们表现出成熟 M Φ 的标志,如 MAC-1 和 F4/80 等,其抗原递呈功能与 GMM Φ 相同,但吞噬能力却比 GMM Φ 和 MM Φ 低得多,可见这种 mIL-13 诱导的巨噬细胞样的细胞有别于 GMM Φ 和 MM Φ ^[5]。

3.4 IL-13 的其它生物学效应 IL-13 对大颗粒淋巴细胞(LGL)合成 IFN- γ 有直接的作用,且与亚适剂量和最适剂量的 IL-2 有协同作用。而 IL-4 则强烈抑制 IL-2 诱导合成 IFN- γ ^[4]。

与 IL-4 不同,IL-13 不激活人类 T 细胞^[5,7],包括植物凝集素激活的 T 细胞和 CD4 或 CD8 T 细胞克隆,而且,在较大浓度范围内并不阻断 IL-4 所诱导的 T 细胞增殖效应,说明 IL-13 并非以 IL-4 拮抗剂而起作用。IL-13 也不诱导 CD4⁺ 或 CD4⁻ T 细胞表达 CD8a,可能与人 T 细胞缺少功能性 IL-13 受体有关^[5]。

IL-13 能减少化脓菌所诱导的内皮细胞和单核细胞促凝血活性的表达。与 IL-4 一样,IL-13 能抑制脂多糖、IL-1 和 TNF 引起的组织因子表达和下调血栓调节素的表达,从而保护内皮和单核细胞免受炎症介质所引起的促凝血倾向的危害^[14]。

IL-13 在体外可抑制人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)在 M Φ 中的繁殖,主要表现抑制病毒蛋白(P24)、逆转录病毒以及细胞病变效应,但仍可测得前病毒的 DNA,提示 HIV 并未消除,而且对外周血淋巴细胞(包括 T 细胞)中的 HIV 无明显作用。IL-13 对

病毒的抑制作用呈剂量和时间依赖性,且不改变病毒进入、逆转录酶,以及病毒释放等环节,其机理还需进一步阐明^[15]。

4 IL-13 的潜在临床意义

IL-13 可抑制单核细胞产生各种炎症性细胞因子,同时上调抗炎因子 IL-1ra,提示它可作为一种抗炎因子应用于炎症治疗,如脓毒性休克,类风湿关节炎等^[6],还能保护内皮和单核细胞免受炎症介质所致凝血倾向的损伤^[14]。IL-13 可诱导 B 细胞的 IgE 转换合成,从而可能在超敏反应中起重要的调节作用。一种对 IL-4 和 IL-13 受体均有拮抗作用的 IL-4 变异蛋白能有效阻断 IgE 的合成,从而可能在治疗 IgE 介导的过敏性疾病中有广阔的应用前景^[5]。

IL-13 在体外可抑制单核巨噬细胞中的 HIV 复制,因此有可能成为抑制 HIV 感染的一种细胞因子^[4]。IL-13 对 LGL 的作用在临床上也令人注意,与 IL-4 不同,它不减弱,甚至增强 IL-2 诱导的 LAK 活性;而且,在体内,分泌 IL-13 的肿瘤细胞可诱导对亲代肿瘤细胞的系统免疫,因此,IL-13 可成为治疗性细胞因子武器库中一种潜在的重要的新成员^[6]。

5 展望

综上所述,目前对新发现的 IL-13 的研究,主要集中在分子和细胞生物学方面。作为新的免疫和炎症调节因子,IL-13 的许多生物学活性类似于 IL-4,在一般情况下活性效能比 IL-4 低;但两者作用是相互独立的,IL-

13 在抗 IL-4 单抗存在时,仍显示出调节作用,而且两者共存时不表现相加或协同作用。进一步研究显示,克隆的 IL-4 受体蛋白(IL-4R)不结合 IL-13;一些细胞株,如人 T 细胞克隆 SP-B21,仅对 IL-4 有反应,而对 IL-13 无反应;也找到一种 IL-4 突变蛋白(hIL-4.Y₁₂₄D),不仅是 IL-4 受体拮抗剂,而且对 IL-13 作用也有拮抗作用。现有的解释是,IL-4 和 IL-13 受体可能具有一共同亚基,它在信号传递中起重要作用。对于 IL-13 的体内生物学特性,在细胞因子网络中如何与其它因子相互作用,如何调节造血、免疫以及炎症等还缺乏深刻认识,有待于进一步揭示。

参 考 文 献

1. Cherwinski HM, et al. J Exp Med, 1987, 166(5) : 1229
2. Brown KD, et al. J Immunol, 1989, 142(2) : 679
3. Mckenzie ANJ, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90(8) : 3735
4. Minty A, et al. Nature, 1993, 362(6417) : 248
5. Zurawski G, et al. Immunol Today, 1994, 15(1) : 19
6. Morgan JG, et al. Nucleic Acids Res, 1992, 20(19) : 5173
7. Zurawski SM, et al. EMBO J, 1993; 12(7) : 2663
8. Mckenzie ANJ, et al. J Immunol, 1993, 150(12) : 5436
9. Punnonen J, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(8) : 3730
10. Defrance T, et al. J Exp Med, 1994, 179(1) : 135
11. Cocks BG, et al. Int Immunol, 1993, 5(6) : 657
12. de Waal Malefyt R, et al. J Immunol, 1993, 151(11) : 6370
13. Doherty TM, et al. J Immunol, 1993, 151(12) : 7151
14. Herbet JM, et al. FEBS Lett, 1993, 328(3) : 268
15. Montaner IJ, et al. J Exp Med, 1993, 178(2) : 743

(1994 年 11 月 2 日收稿, 1995 年 1 月 5 日修回)