

白细胞介素-35 在类风湿关节炎中作用的研究进展

徐文俊¹, 蔡辉²

(1. 安徽中医药大学研究生院, 安徽 合肥 230012; 2. 中国人民解放军南京总医院, 江苏 南京 210002)

摘要: 类风湿关节炎(RA)是一种慢性炎症性疾病,疾病晚期可出现关节畸形和功能障碍,严重危害人类健康。RA的确切发病机制目前尚未阐明,遗传、免疫及环境等因素均发挥了一定作用。白细胞介素-35(IL-35)是由人类疱疹病毒4型(HHV-4)又称EB病毒(EBV)诱导基因3(EBI3)和p35两个亚基所组成的异源二聚体蛋白,是白细胞介素-12(IL-12)家族细胞因子成员之一。IL-35由调节性T细胞(Treg)分泌,具有抑制效应T细胞活性的作用,参与多种自身免疫性疾病、炎症性疾病以及感染性疾病的发生和发展。研究发现IL-35与RA之间有重要关系。该文对IL-35在RA的作用方面进行综述。

关键词: 白细胞介素-35; 类风湿关节炎; 调节T细胞; 自身免疫病

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2018.03.003

Research progress on the role of IL-35 in treating rheumatoid arthritis

XU Wenjun¹, CAI Hui²

(1. Graduate School of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230012, China;

2. Nanjing General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Nanjing, Jiangsu 210002, China)

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) is a kind of chronic inflammatory disease. Joint deformity and dysfunction can be found in the last stage of the disease, which is harmful to human health. The exact pathogenesis of RA has not yet been elucidated, however, it is known that there are genetic, immune and environmental factors. Interleukin 35 (IL-35) is a heterodimer protein, which is composed of p35 and human herpes virus 4 (HHV-4), also called Epstein-Barr virus-induced gene 3 (EBI3) subunits. It is one of the cytokine members of interleukin 12 (IL-12) family. Secreted by regulatory T cells, IL-35 suppresses the activity of effector T cells and participates in the occurrence and development of various autoimmune, inflammatory, and infectious diseases. A large number of studies have found that there is an important relationship between IL-35 and RA. This paper mainly summarizes the role of IL-35 in treating RA.

Keywords: IL-35; RA; Treg; autoimmune disease

类风湿关节炎(RA)是一种以对称性、多关节炎为主要表现的慢性、全身性自身免疫性疾病。目前病因及发病机制尚未完全明确。白细胞介素-35(IL-35)是白细胞介素-12(IL-12)家族细胞因子中目前出现的新成员,其在某些自身免疫疾病方面发挥关键作用^[1],每一个家族成员均有一个 α 链和一个 β 链组成, α 链(包含p19、p28、p35), β 链(包含p40、EBI3), α 链包含一个四螺旋束结构,而 β 链含有一个I类细胞因子受体结构。IL-35由p35和诱导基因3(EBI3)合成,IL-35以p35亚基作为配体,EBI3亚基主要发挥免疫调节作用^[2],因此,IL-35主要发挥调节功能。研究IL-35的生物学功能对RA的治疗具有十分重要的临床意义。

1 IL-35的生物学功能

2007年IL-35被发现。IL-35大部分由调节性

T细胞(Treg)分泌^[3],少数可由活化的B细胞、内皮细胞、平滑肌细胞和单核细胞分泌^[4-7]。IL-35在小鼠和人体内均能诱导产生IL-35的T淋巴细胞(iTr35 cells)的形成^[8]。与其他IL-12家族细胞因子的促炎作用不同,IL-35是CD4 + CD25 + Treg细胞分泌的抑制性细胞因子,它能抑制效应T细胞增殖,同时增加培养液中干扰素 γ (INF- γ)浓度而显著的抑制CD + CD25 - 效应性T淋巴细胞(Teff)的分化。

Treg通过释放白细胞介素10(IL-10)、转化生长因子- β (TGF- β)、IL-35或与CD39、细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(CTLA-4)表面分子接触诱导Treg产生,Treg根据来源分为天然性调节性T细胞(nTreg)和诱导性T细胞(irTreg),nTreg以CD4 + CD25 + Foxp3 + 为表型,irTreg在IL-10、TGF- β 、IL-35的刺激下产生^[9-10]。

iTr35细胞只通过IL-35介导免疫抑制,而不

是通过其他已知的抑制性细胞因子(如 IL-10 或者 TGF- β)^[11-13]。iT₃₅ 细胞是由 IL-35 和 IL-10 在体外合成,在体内如实验小鼠模型中感染肠道蠕虫鼠鞭虫的肠道局部或者在肠道肿瘤组织内合成。因此, iT₃₅ 是炎症或者肿瘤耐受的重要调节点^[3,8,14]。

每个 IL-12 家族成员的信号都有一个不同的受体。IL-12 受体和 IL-23 受体都有一共同的 IL-12R β 1 亚基,但 IL-12 有 IL-12R β 2 亚基,IL-23 有 IL-23R 亚基,IL-27 有 gp130 和 WSX-1 (IL-27R) 亚基,IL-35 受体与 IL-27 受体都有一相同的 gp130 亚基,以及与 IL-12 受体都有一个相同的 IL-12R β 2 亚基,IL-35 借助同源二聚体 gp130 和 IL-12R β 2 能够参与信号转导^[15], IL-12R β 2 受体的表达除了发现 Treg 细胞外,还发现其他细胞(包括 B 细胞和树突状细胞(DC)),在免疫系统方面这也许会影响 IL-35 的生物学功能^[16], gp130 在大多数细胞中都有表达,IL-12R β 2 主要表达于激活的 T 细胞和自然杀伤细胞(NK)^[17],但不表达于静止的 T 细胞^[18]。研究发现^[19], IL-12R β 2 缺陷的小鼠更易患自身免疫病和 B 细胞介导的恶性肿瘤。

来源于 EBI3 或 p35 基因缺失小鼠的 Treg 在体内外实验中的调节活性明显降低,也提示 IL-35 为 Treg 细胞发挥正常功能所必需的^[3]。P35 或 EBI3 基因缺失的小鼠不会发生自身免疫性疾病和炎症性疾病^[20],此类小鼠体内 Treg 的比例以及 Foxp3 基因的表达水平与野生小鼠相同。无论 T 细胞如何增殖,EBI3^{-/-}和 IL-12 α ^{-/-}Treg 的免疫抑制能力与野生小鼠相比显著降低。

IL-35 的信号转导主要通过 IL-35 与其细胞受体相互作用诱导的酪氨酸蛋白激酶(JAK)家族蛋白依赖的磷酸化作用,JAK 家族(JAKs)活化后激活信号传导及转录激活因子(STATs)(如 STAT1 和 STAT4),STAT 与其受体结合并在 JAK 激酶的作用下实现其磷酸化,两个磷酸化的 STAT 分子形成同异二聚体并离开受体进入细胞核,在核内他们与靶基因的启动子中特异的 DNA 序列结合,从而调节细胞因子特异的基因表达和相应的生物学效应^[21]。

IL-35 通过 p35 和 EBI3 亚基分别与相应受体的不同部位结合,利用转录因子 STAT1 和 STAT4 传递转录信号。IL-35 主要由 Treg 细胞分泌,它可以有效抑制效应 T 细胞增殖、Th17 分化和 IL-17 的分泌^[4,16]。iIL-35 能够诱导 Treg 细胞表达共抑制分子 CTLA-4 与抗原提呈细胞(APCs)表面标记分子 CD80 和 CD86 高亲和力结合而启动抑制信号,T 细

胞接受抗原刺激后,经过增殖、分化,形成效应 T 细胞^[22]。体液免疫也一直被认为是通过重组白细胞介素-35 (rIL-35)作用来发挥抑制,通过人 B 细胞转化为调节性 B 细胞,产生 IL-35 以及 IL-10^[6]。

2 IL-35 在治疗 RA 中的临床应用前景

IL-35 可被应用于以下自身免疫系统疾病:RA、系统性红斑狼疮(SLE)、系统性硬皮病(SSC)等^[23]。IL-35 是一群来源于 Treg 的抑制性细胞因子,具有促进 Treg 的分化和增殖,发挥免疫调节的功能。在这项研究中,我们主要目的是确定 IL-35 能有效地抑制胶原诱导型关节炎(CIA)的发展及关节进行性破坏^[24]。在 CIA 中:IL-35 能抑制核因子- κ B 受体,通过活化因子配体(RANKL)的表达,促进氧基聚明胶(OPG)的表达,这进一步说明 IL-35 可用于治疗 RA^[25]。

Hou 等^[26]为了探讨 IL-35 对 IL-10、TGF- β 、INF- γ 、IL-12 和 IL-17 的潜在影响,将一个含 pcDNA3.1 的 IL-35 的质粒注射到 BALB/c 小鼠的玻璃体腔内使 IL-35 过表达,发现 IL-10 和 TGF- β 的表达升高,分别在注射后 1 周和 2 周达到最高水平。此外,在注射 IL-35 表达质粒后 2 周,INF- γ 和 IL-12 的表达明显降低,且在注射 IL-35 表达质粒后 4 周明显抑制 IL-17 的表达。因此,IL-35 的质粒注射至小鼠的玻璃体内,会下调促炎细胞因子的表达,并上调抗炎细胞因子的表达。Houshmandi 等^[27]的研究发现:一些细胞因子介导的促生长因子-1(IGF-1)的作用是针对炎症方面的,而且 IGF-1 和血管内皮功能失调之间相关联。在慢性关节炎和滑膜血流量方面,这些细胞因子和他们的 IGF-1 介导作用的效应已经被研究^[27]。

IL-35 特异性表达和它的调节功能将会在慢性炎症方面成为潜在的治疗靶点,同时与 IL-12 其他家族成员的受体共享相同的亚基,这对于 IL-35 特异性试剂发展存在潜在障碍。然而,它与 RA 骨破坏的发生有直接关系。Tregs 表达 IL-35,因此通过恢复 Treg 细胞抑制能力和抑制 Th17 通路来发挥抗炎作用^[28]。IL-35 通过抑制 Th17 等效应分子发挥免疫调节作用,参与自身免疫系统疾病(如胶原诱导的关节炎)^[29]。研究发现:构建的 EBI3-p35-Fc 融合蛋白在体外能促进 CD4 + CD25 + Treg 增殖,抑制 CD4 + CD25 - Treg 增殖,体内外均可以抑制 Th17 分化,减少 IL-17 的分泌,增强 IFN- γ 分泌,从而达到减轻 CIA 症状的效果^[30]。在自身免疫系统疾病发病机制方面 IL-35 能发挥关键作用。Ning 等^[31]对参加实验的 100 例 RA 患者和 50 例健康受

试人群血清中 IL-35 的检测水平进行一系列比较发现:(1)RA 患者较健康受试人群水平低;(2)侵蚀性关节炎 RA 组较无侵蚀性关节炎 RA 组患者的水平低;(3)RA 患者抗环瓜氨酸肽 (CCP)阳性组与阴性组之间差异无统计学意义;(4)IL-35 与 RA 患者年龄、类风湿因子 (RF)和嗜酸性粒细胞百分比之间存在显著的负相关。结果显示,在 RA 患者的发病机制中 IL-35 发挥保护性作用。

3 展望

综上所述,IL-35 通过诱导 Treg 细胞增殖和抑制 Th17 分泌 IL-17 以及抑制 Teff 增殖发挥免疫抑制作用。IL-35 作为炎症抑制性细胞因子,有望成为 RA 治疗的新靶点。但 IL-35 具体受体、信号转导机制及对非 T 细胞的影响尚未明确,成为目前最需解决的问题,进一步阐明 RA 发病机制以及探讨应用于临床的 IL-35 免疫抑制剂将十分必要。

参考文献

- [1] LIU N,ZHANG S,LI C,et al. THU0273 Decreased interleukin-35 is associated with higher risk of pregnancy morbidity in patients with antiphospholipid syndrome[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*,2016,75(2):286.
- [2] LIU N,ZHANG S,LI C,et al. Elevated level of interleukin-35 in colorectal cancer induces conversion of T cells into iT35 by activating STAT1/STAT3 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (45): 73003-73015.
- [3] COLLISON LW,WORKMAN CJ,KUO TT,et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function[J]. *Nature*,2007,450(7169):566-569.
- [4] TEDDER TF,LEONARD WJ. Autoimmunity:regulatory B cells — IL-35 and IL-21 regulate the regulators[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014,10(8):452-453.
- [5] BANCHEREAU J,PASCUAL V,O'GARRA A. From IL-2 to IL-37:the expanding spectrum of anti-inflammatory cytokines[J]. *Nat Immunol*,2012,13(10):925-931.
- [6] SHEN P,ROCH T,LAMPROPOULOU V,et al. IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases[J]. *Nature*,2014,507(7492):366-370.
- [7] TERAYAMA H,YOSHIMOTO T,HIRAI S,et al. Contribution of IL-12/IL-35 common subunit p35 to maintaining the testicular immune privilege[J]. *PLoS One*,2014,9(4):e96120.
- [8] COLLISON LW,CHATURVEDI V,HENDERSON AL,et al. IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population[J]. *Nat Immunol*,2010,11(12):1093-1101.
- [9] PANKRATZ S,BITTNER S,HERRMANN AM,et al. Human CD4 + HLA-G + regulatory T cells are potent suppressors of graft-versus-host disease in vivo[J]. *FASEB J*,2014,28(8):3435-3445.
- [10] ZHENG SG,GRAY JD,OHTSUKA K,et al. Generation ex vivo of TGF-beta-producing regulatory T cells from CD4 + CD25 - precursors[J]. *J Immunol*,2002,169(8):4183-4189.
- [11] CUA DJ,SHERLOCK J,CHEN Y,et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain[J]. *Nature*,2003,421(6924):744-748.
- [12] MURPHY CA,LANGRISH CL,CHEN Y,et al. Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation[J]. *J Exp Med*,2003,198(12):1951-1957.
- [13] LANGRISH CL,CHEN Y,BLUMENSCHIEIN WM,et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation[J]. *J Exp Med*,2005,201(2):233-240.
- [14] JONULEIT H,SCHMITT E,KAKIRMAN H,et al. Infectious tolerance;human CD25(+) regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4(+) T helper cells[J]. *J Exp Med*, 2002,196(2):255-260.
- [15] COLLISON LW,DELGOFFE GM,GUY CS,et al. The composition and signaling of the IL-35 receptor are unconventional[J]. *Nat Immunol*,2012,13(3):290-299.
- [16] WANG RX,YU CR,DAMBUZA IM,et al. Interleukin-35 induces regulatory B cells that suppress autoimmune disease[J]. *Nat Med*, 2014,20(6):633-641.
- [17] WU CY,GADINA M,WANG K,et al. Cytokine regulation of IL-12 receptor beta2 expression;differential effects on human T and NK cells[J]. *Eur J Immunol*,2000,30(5):1364-1674.
- [18] KOCH MA,THOMAS KR,PERDUE NR,et al. T-bet(+) Treg cells undergo abortive Th1 cell differentiation due to impaired expression of IL-12 receptor $\beta 2$ [J]. *Immunity*,2012,37(3):501-510.
- [19] AIROLDI I,DI CARLO E,COCCO C,et al. Lack of Il12rb2 signaling predisposes to spontaneous autoimmunity and malignancy[J]. *Blood*,2005,106(12):3846-3853.
- [20] NIEUWENHUIS EE,NEURATH MF,CORAZZA N,et al. Disruption of T helper 2-immune responses in Epstein-Barr virus-induced gene 3-deficient mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (26):16951-16956.
- [21] COSKUN M,SALEM M,PEDERSEN J,et al. Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Pharmacol Res*,2013,76:1-8.
- [22] OLSON BM,JANKOWSKA-GAN E,BECKER JT,et al. Human prostate tumor antigen-specific CD8 + regulatory T cells are inhibited by CTLA-4 or IL-35 blockade [J]. *J Immunol*, 2012, 189 (12):5590-5601.
- [23] GUAN SY,LENG RX,KHAN MI,et al. Interleukin-35;a potential therapeutic agent for autoimmune diseases [J]. *Inflammation*, 2017,40(1):303-310.
- [24] ALVAREZ S,BISCHOFF L,KEENE M,et al. Modulation of autoimmunity and allograft rejection by viral expression of interleukin-35[J]. *Canadian Journal of Diabetes*,2016,40(5):S12.
- [25] LI Y,LI D,LI Y,et al. Interleukin-35 upregulates OPG and inhibits RANKL in mice with collagen-induced arthritis and fibroblast-like synoviocytes[J]. *Osteoporosis Int*,2016,27(4):1537-1546.
- [26] HOU C,WU Q,OUYANG C,et al. Effects of an intravitreal injection of interleukin-35-expressing plasmid on pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines[J]. *Int J Mol Med*,2016,38(3):713-720.