

[文章编号] 1007-385X(2003)02-0149-03

树突状细胞的肿瘤抗原负载

徐东平 综述; 王福生 审阅(解放军 302 医院生物工程研究室, 北京 100039)

[摘要] 树突状细胞(DC)是体内功能最强的专职抗原提呈细胞,在诱导特异性抗肿瘤免疫反应中起着至关重要的作用。通过体外负载肿瘤抗原致敏 DC 可以有效地增强其抗原提呈能力,所制备的肿瘤抗原 DC 疫苗回输体内后可促进机体产生特异性细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)和其他抗肿瘤免疫应答机制,有效地杀伤肿瘤细胞。目前已发展了多种针对 DC 负载肿瘤抗原的方法,有些方法已被应用到了人体肿瘤治疗。

[关键词] 肿瘤; 抗原; 树突状细胞

[中图分类号] R730.5 [文献标识码] A

树突状细胞(dendritic cell, DC)在机体免疫监视机制中起着哨兵作用,肿瘤细胞则通过抗原变异和产生免疫抑制因子等机制干扰 DC 对肿瘤抗原的识别、处理和提呈,影响 DC 的活化和成熟,从而逃避机体免疫系统的监视^[1,2]。在体外特定培养条件下,通过负载肿瘤抗原可以有效致敏和活化 DC,促进其分化成熟,增强其功能,将抗原致敏的 DC 回输体内后可诱导机体产生特异性抗肿瘤免疫应答。目前已发展了多种针对 DC 负载肿瘤抗原的方法,有的已成功地应用于临床肿瘤治疗。现将有关研究进展综述如下。

1 用肿瘤特异性多肽负载 DC

用肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigens, TSA)或肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAA)多肽来负载 DC 在体外和动物模型中得到广泛应用,而且已经用于人体临床试验^[3]。绝大多数人工合成的多肽基于已经得到鉴定的 CD8⁺ CTL 识别的 MHC I 类分子限制性抗原表位。用多肽负载 DC 的主要优点是所诱导的免疫反应具有肿瘤抗原表位特异性,有效避免了非特异性免疫反应对正常组织的损伤。近来研究还表明,一种多肽抗原表位可以诱导机体产生针对该表位相关抗原的 CTL 反应^[4]。多肽疫苗的另一个优点是无须取得肿瘤组织或细胞,安全性好,同时易于检测所诱导的免疫反应。其不足之处也包括几个方面:1)必须清楚肿瘤的抗原表位;2)针对 CD8⁺ CTL 识别表位的抗原多肽不能诱导产生特异性 CD4⁺ 辅助 T 淋巴细胞(helper T-lymphocytes, HTL),而后者已被证明为持续性 CTL 反应所需要;3)应用受 MHC 限制;4)肿瘤细胞容易通过抗原变异逃避针对单一抗原表位的免疫作用。利用酸洗脱法可以从肿瘤细胞上获得混合的 MHC I 类分子限制性抗原多肽,扩大肿瘤抗原谱,诱导较强的免疫反应,已有报告用于治疗卵巢癌和恶性胶质瘤,该方法的缺点是不能获得 MHC II 类分子限制性抗原多肽及可能诱发针对正常组织的自身免疫反应。

2 用肿瘤蛋白抗原负载 DC

用从肿瘤细胞获得的可溶性蛋白抗原负载 DC 可以克服

多肽疫苗的不足。应用此方法的前提是需要获得能够刺激产生有效免疫反应的 TSA 或 TAA 蛋白抗原,而目前已鉴定的此类肿瘤蛋白抗原有限。非成熟 DC 对抗原蛋白的摄取和加工能力较强,而成熟 DC 的抗原提呈能力较强。因此,蛋白抗原应在 DC 成熟前负载,再用促成熟因子促进其成熟。用蛋白抗原负载 DC 的方法有以下 6 种。1)直接法。将蛋白抗原直接加入培养的 DC 中,DC 通过巨胞饮(macropinocytosis)方式摄取抗原分子。该方法操作简便,但抗原负载效率较低。2)渗透法。先将蛋白抗原溶于等渗的蔗糖-PEG1000 中,让细胞通过胞饮摄取抗原蛋白,再降低渗透压使胞饮泡破裂,使摄取的蛋白抗原释放入细胞溶质中。3)受体介导法。通过 DC 表面表达的免疫球蛋白 Fc 受体(IgFcR)介导抗原-抗体复合蛋白进入细胞,负载抗原可以是蛋白抗原和相应抗体混和后形成的免疫复合物,或是重组融合蛋白。有报告此法可以使 DC 的抗原提呈能力较直接培养法提高 100 倍^[5],可以同时体内诱导特异性 CD8⁺ 和 CD4⁺ T 细胞免疫反应以及体液免疫反应^[6]。除 IgFcR 外,还可利用热休克蛋白、甘露糖受体等介导蛋白抗原进入 DC。4)脂质体融合法。除应用普通的阳离子和阴离子脂质体外,以下改良方法可进一步提高效果:一是与受体介导法联用;二是在脂质体中加入某些大分子化合物如 PEG 稳定脂质体-蛋白抗原复合物;三是在脂质体中加入可促进膜融合分子。5)多肽介导法。多聚赖氨酸可以增强蛋白分子的膜转运,但不能有效提高 DC 对 MHC I 类分子限制性抗原的提呈。近来研究表明, HIV tat 蛋白具有跨膜能力,可用于介导异质蛋白进入 DC。6)重组细菌毒素介导法。某些细菌毒素分子可以增强 DC 对 MHC I 类分子限制性抗原的提呈,包括志贺氏毒素 B 亚单位、百日咳杆菌腺苷酸环化酶毒素、白喉毒素 B 片段和炭疽杆菌致死因子等。通过基因重组改造,可以使这些毒素分子丧失毒性作用,但保留蛋白质的转运功能。

3 用肿瘤全细胞抗原负载 DC

该方法的优点在于不必清楚肿瘤细胞的 TSA 或 TAA,可

诱导机体产生多克隆的 CD8⁺ CTL 和 CD4⁺ HTL; 缺点是有可能产生针对正常组织细胞成分的 T 细胞反应, 并要求有一定量的肿瘤细胞来源。可以通过以下几种方法对 DC 负载肿瘤全细胞抗原。1) 用肿瘤细胞裂解液负载 DC。此法不要求获得新鲜的肿瘤组织或活肿瘤细胞, 通过反复冻融或超声破碎肿瘤细胞, 离心过滤获取肿瘤细胞的裂解上清液, 加入培养的 DC 中。利用此方法已诱导出针对多种肿瘤的特异性 T 细胞免疫反应, 用该方法制备的 DC 疫苗已经进行了 II 期临床试验^[7]。2) 用凋亡肿瘤细胞负载 DC。未成熟 DC 可以吞噬凋亡体并摄取、加工和提呈肿瘤抗原。多种配体和受体分子参与了 DC 对凋亡体的识别和摄取, 其中最主要的是整合素 $\alpha\beta$ 和 CD36^[8]。通过紫外线或 γ 射线照射、流感病毒感染以及放线菌素 D、丝裂霉素 C、神经酰胺等处理可诱导肿瘤细胞凋亡。3) 用坏死或死亡的肿瘤细胞负载 DC。通过反复冻融、加热、低渗透压休克处理、桦木酸处理以及放射线 γ 照射等方法可以获取坏死或死亡的肿瘤细胞。4) 用活肿瘤细胞负载 DC。Lambert 等^[9]对比了用活腺癌细胞制备的 DC 疫苗与肿瘤裂解液或凋亡体制备的 DC 疫苗诱导的免疫反应, 表明 3 种方法均可防止肿瘤细胞的肺转移, 效果无显著差异。但在体内注入此种 DC 疫苗前要经过放射线照射以消除活肿瘤细胞的致癌性。5) 通过肿瘤细胞-DC 融合负载抗原。该法可以在体内外诱导出特异性 CTL, 但因方法繁琐及杂合细胞生物学特性的不确定性限制了其应用。

4 用胞外小体(exosomes)负载 DC

胞外小体是直径为 60~90 nm 的含有 MHC 多肽复合物的膜囊体, 可为多种细胞所分泌。胞外小体可以用差速离心加蔗糖密度选浮分离。Wolfers 等^[10]报告用肿瘤细胞分泌的胞外小体负载 DC 可诱导由 CTL 介导的肿瘤消退, 效果优于用肿瘤裂解液或凋亡体负载 DC, 并且可以在 H-2d 和 H-2b 间诱导交叉免疫保护反应。另一种方法是从已被肿瘤抗原致敏的 DC 中分离胞外小体来诱导免疫反应, 可在小鼠体内诱导有效的 CTL 介导肿瘤消退, 可以看作是一种特殊的无细胞 DC 疫苗。

5 用肿瘤细胞 RNA 负载 DC

该方法具有以下优点: 首先, 可以从很小量的肿瘤细胞中通过体外扩增和转录获取足量的 RNA; 其次, 不要求对肿瘤抗原作出鉴定, 肿瘤相关 RNA 可以通过与正常组织 RNA 进行消减杂交而富集; 再者, RNA 半寿期短, 不会整合到基因中, 提高了临床应用的安全性; 最后, 可以诱导针对不同表位的多克隆 CD8⁺ CTL 和 CD4⁺ HTL。该方法的不足在于 RNA 容易降解, 对操作的技术要求很高。RNA 可以是肿瘤细胞的总 RNA 或 mRNA, 用转录获取的 TSA 或 TAA 的 mRNA 负载 DC 可以提高疫苗的特异性。RNA 可以直接为 DC 摄取, 通过脂质体或电穿孔介导可以促进 RNA 进入 DC。有报告电穿孔法要优于脂质体法, 对 DC 转染效率可达 50% 以上, 而脂质体法则不到 10%, 前者所诱导的 CTL 活性也明显高

于后者^[11]。应用 RNA 负载法制备的 DC 疫苗可在体内外有效诱导出抗小鼠或人体肿瘤的 CTL 活性, 介导肿瘤消退, 目前也已在临床研究中得到了应用^[12]。

6 用肿瘤细胞 DNA 负载 DC

该方法可以使 DC 内源性地表达肿瘤抗原分子, 通过与内源表达蛋白相似的途径提呈 MHC I 类分子限制性抗原^[13]。用于介导目的 DNA 进入 DC 的方法包括非病毒载体介导法和病毒载体介导法两大类。非病毒载体介导法主要有脂质体法、电穿孔法、CaPO₄ 共沉淀法等。Pecher 等^[14]报告用脂质体介导肿瘤黏液蛋白 cDNA 转染 DC 负载肿瘤抗原, 用于回输治疗晚期乳腺癌等恶性肿瘤, 在接受治疗的 10 人中, 4 人的特异性 CTL 显著增强, 治疗中未发现毒副反应。病毒载体介导法的最大优点是对 DC 的转导效率高。所应用的病毒载体包括腺病毒(ADV)、单纯疱疹病毒(HSV)、逆转录病毒、流感病毒、牛痘病毒、甲病毒和慢病毒等, 其中 ADV、HSV 和流感病毒载体介导的转导效率可达 90%, ADV 和逆转录病毒介导的基因转导能够同时呈递 MHC I 类和 II 类分子限制性抗原。但另一方面, 病毒载体所表达的病毒蛋白可能影响 DC 的活性及诱发非肿瘤特异性 T 细胞反应, 此外不能完全排除病毒基因与 DC 基因随机重组的可能性。

7 体内 DC 的肿瘤抗原负载

以上介绍的方法均需要在体外培养 DC, 比较费时费力, 并增加了污染的机率。因此有人着手研究体内直接用肿瘤抗原负载 DC 的方法。研究表明, 脂质体比较适用于作为携带抗原的载体, 经皮下途径, 脂质体易于到达局部淋巴组织。通过对脂质体的改良, 如制备 pH 敏感脂质体或在脂质体中加入针对 DC 的特异性抗体或配体分子, 可以进一步提高对 DC 负载抗原的靶向性。Ludewig 等^[15]的研究表明, 脂质体介导多肽抗原体内负载 DC, 可诱导特异性抗肿瘤和抗病毒免疫反应。体内负载 DC 的其他策略还有: 1) 通过转基因使肿瘤细胞大量表达 Fas 而凋亡, DC 在体内通过吞噬凋亡体而负载肿瘤抗原^[16]; 2) 通过体内联合给予 LF(Flt3 配体)、ISS(一种含有 CpG 序列的 DNA 分子)及肿瘤抗原, 体内活化和抗原负载 DC^[17]。

8 结束语

理想的肿瘤抗原 DC 疫苗应当是: 1) 能够诱导针对不同肿瘤抗原表位的多克隆反应, 包括 CD8⁺ 和 CD4⁺ T 细胞反应; 2) 不诱导自身免疫反应, 没有安全隐患; 3) 不受受治者 MHC 型别的限制; 4) 易于制备和应用。但事实上用现有方法制备的肿瘤抗原 DC 疫苗很难完全满足以上条件。虽然针对 DC 的各种肿瘤抗原负载方法有各自的特点, 但它们之间效果的比较往往具有不确定性, 不同实验室得出的结论常有差异, 由于不同肿瘤生长特性和免疫原性不同, 实际研究中应根据具体情况对 DC 肿瘤抗原的负载方法加以选择和改进。

[文章编号] 1007-385X(2003)02-0151-03

白细胞介素 20 的结构、功能及其信号传导途径

何伟刚 综述, 曹雪涛 审阅 (浙江大学免疫学研究所, 杭州 310031)

[摘要] 白细胞介素 20(interleukin-20, IL-20)是近来发现的白细胞介素 10 相关细胞因子家族的新成员。人和小鼠的 IL-20 分子均由 176 个氨基酸组成,两者同源率为 76%。IL-20 与 IL-10 有 28% 的同源性,与其它 IL-10 家族成员如 IL-19,IL-22,IL-24,IL-26 在氨基酸序列上具有一定的同源性,但生物学功能却不尽相同。IL-20 能够调节皮肤正常生理功能,活化角质细胞中的 STAT3 途径,促进一些细胞因子、趋化因子的大量表达,从而调节皮肤早期炎症的发生。本文对 IL-20 的编码基因、分子结构、表达与调控、受体与信号传导途径和生物学活性作一综述。

[关键词] 白细胞介素 20; 受体; 细胞因子; 炎症

[中图分类号] R392 **[文献标识码]** A

白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)是一个具有重要免疫调节功能的细胞因子,可抑制中性粒细胞和嗜酸性粒细胞产生促炎症因子和趋化因子,抑制单核细胞 MHC II 类分子和辅助刺激因子的表达,从而抑制其抗原递呈作用^[1]。近

年来,随着生物信息学的迅速发展和 EST 数据库的广泛应用,一些类似于 IL-10 的新分子不断被发现,IL-20 就是其中之一。虽然它和 IL-10 在氨基酸序列上有一定的同源性,具有相似的螺旋性结构,但它们的生物学功能并不相同。它们

[参考文献]

[1] 张焯,曹雪涛. 肿瘤免疫逃逸机制研究新进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2001, 8(1): 72-74.
[2] Byrne SN, Halliday GM. Dendritic cells: Making progress with tumor regression[J]? Immunol Cell Biol, 2002, 80(6): 520-530.
[3] Kono K, Takahashi A, Sugai H, et al. Dendritic Cells Pulsed with HER-2/neu-derived Peptides Can Induce Specific T-Cell Responses in Patients with Gastric Cancer[J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(11): 3394-3400.
[4] El-Shami K, Tirosh B, Bar-Haim E, et al. MHC class I-restricted vaccination with a single immunodominant CTL epitope[J]. Eur J Immunol, 1999, 29(10): 3295-3301.
[5] Fanger NA, Voigtlaender D, Liu C, et al. Characterization of expression, cytokine regulation, and effector function of the high affinity IgG receptor Fc gamma RI (CD64) expressed on human blood dendritic cells[J]. J Immunol, 1997, 158(7): 3090-3098.
[6] Rafiq K, Bergtold A, Clynes R. Immune complex-mediated antigen presentation induces tumor immunity[J]. J Clin Invest, 2002, 110(1): 71-79.
[7] Marten A, Flieger D, Renoth S, et al. Therapeutic vaccination against metastatic renal cell carcinoma by autologous dendritic cells: Preclinical results and outcome of a first clinical phase I/II trial[J]. Cancer Immunol Immunother, 2002, 51(11-12): 637-644.
[8] Fonteneau JF, Larsson M, Bhardwaj N, et al. Interactions between dead cells and dendritic cells in induction of antiviral CTL responses[J]. Curr Opin Immunol, 2002, 14(4): 471-477.
[9] Lambert LA, Bibson GR, Maloney M, et al. Equipotent generation of protective antitumor immunity by various methods of dendritic cell loading with whole cell tumor antigens[J]. J Immunother, 2001, 24: 232-236.
[10] Wolfers J, Lozier A, Raposo G, et al. Tumor-derived exosomes are

a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming[J]. Nat Med, 2001, 7(3): 297-303.
[11] van Tendeloo VF, Ponsaerts P, Lardon F, et al. Highly efficient gene delivery by mRNA electroporation in human hematopoietic cells: Superiority to lipofection and passive pulsing of mRNA and to electroporation of plasmid cDNA for tumor antigen loading of dendritic cells[J]. Blood, 2001, 98(1): 49-56.
[12] Heiser A, Coleman D, Dannull J, et al. Autologous dendritic cells transfected with prostate-specific antigen RNA stimulate CTL responses against metastatic prostate tumors[J]. J Clin Invest, 2002, 109(3): 409-417.
[13] Zhou Y, Bosch ML, Salgaller ML. Current methods for loading dendritic cells with tumor antigen for the induction of antitumor immunity[J]. J Immunother, 2002, 25(4): 289-303.
[14] Pecher G, Haring A, Kaiser L, et al. Mucin gene(MUC1) transfected dendritic cells as vaccine: Results of a phase I/II clinical trial[J]. Cancer Immunol Immunother, 2002, 51(11-12): 669-673.
[15] Ludewig B, Barchiesi F, Pericin M, et al. *in vivo* antigen loading and activation of dendritic cells via a liposomal peptide vaccine mediates protective antiviral and anti-tumor immunity[J]. Vaccine, 2000, 19(1): 23-32.
[16] Chattergoon MA, Kim JJ, Yang JS, et al. Targeted antigen delivery to antigen-presenting cells including dendritic cells by engineered Fas-mediated apoptosis[J]. Nat Biotechnol, 2000, 18(9): 974-979.
[17] Merad M, Sugie T, Engleman EG, et al. *in vivo* manipulation of dendritic cells to induce therapeutic immunity[J]. Blood, 2002, 99(5): 1676-1682.

[收稿日期] 2002-12-13

[修回日期] 2003-03-28

通过结合不同的受体,活化不同的信号传导途径,表现出不同的生物学活性。下面着重就 IL-20 的编码基因、分子结构、受体与信号传导途径、生物学活性等几个方面作一综述。

1 IL-20 的编码基因和分子结构

2001 年,Blumberg 等^[2]使用一个螺旋型细胞因子中较常见的双亲性序列框架,从 EST 数据库中寻找最匹配的序列,并根据这段序列设计引物,从人类角质细胞表达文库中克隆出一个新的 cDNA。通过对它全长序列的分析,发现是 IL-10 相关细胞因子家族的新成员,随后就把这个新分子命名为 IL-20。IL-20 在氨基酸序列与 IL-10 及其他 IL-10 家族成员有一定的同源性;与 IL-10 有 28% 的同源性;与 IL-19 有 40% 的同源性^[3];与 IL-24(MDA-7)有 33% 的同源性;与 IL-22(IL-TIF)有 25% 的同源性;与 IL-26(AK155)有 24% 的同源性。利用人类 IL-20 基因编码区域探针从小鼠皮肤基因库中分离出小鼠 IL-20 cDNA,人和小鼠的 IL-20 分子均由 176 个氨基酸组成,两者同源性为 76%。IL-10 分子中有 4 个保守的半胱氨酸残基,其中 cys33 和 cys134 形成二硫键,从而整个分子构象是一个二聚体,被一个可活动的枢纽区域所连接^[4]。与 IL-10 相似,IL-20 分子也有 6 个保守的半胱氨酸残基,虽然 cys81 和 cys134 也形成二硫键,但它不形成二聚体。人们利用放射杂交技术发现,IL-20,IL-19,IL-24,IL-10 的基因均定位于人类 1 号染色体的长臂 3 区 2 亚带上,再用 P1 人工染色体(PAC)作进一步的分析得出 IL-20,IL-10,IL-19,IL-24 基因均存在于一个 195 kb 的区域内,提示 IL-10 家族成员的基因在染色体上形成一个细胞因子基因簇^[2]。

2 IL-20 的受体和 JAK-STAT 信号传导途径

IL-10 家族细胞因子的受体一般是属于 II 型细胞因子受体家族,大多数为跨膜糖蛋白,其中胞外区的氨基酸序列比较保守,由 210 个氨基酸所组成,但它们在跨膜区和胞内区的结构却没有明显的相似之处^[5]。它们的配体结合部分由 2 种亚单位所构成:R1 和 R2,两者构成一个有功能的受体复合物,结合配体后可激活下游的信号传导途径。Dumoutier^[6]以内源性表达 IL-22 受体和 IL-10 受体 β 亚单位的 HT-29 细胞为研究对象,通过观察 PGRR5 荧光素酶的变化来检测 STAT 途径是否被活化。STAT 是一组兼有信号传导和转录因子作用的 DNA 结合蛋白,包括有 STAT1 ~ STAT6 等成员,分子量为 85 ~ 115 kD,他们都具有相似的结构特点:有转录活化结构域、SH2 结构域、SH3 结构域、DNA 结合结构域、C 端结构域^[5]。SH2 结构域介导 STAT 与受体或激活 JAK 形成复合物后,酪氨酸残基被 JAK 磷酸化并因此而活化,而 C 端的丝氨酸残基的周围结构是有丝分裂原激活的蛋白激酶的作用部位,此位点的磷酸化可使 STAT 进一步激活,激活后的 2 个 STAT 分子通过 Py-SH2 的结合形成同源或异源的二聚体,穿过核膜进入核内,与多种靶基因启动子区域中的特殊性反应元件结合,调节基因表达,产生生物学效应^[7]。首先, Dumoutier 等^[6]在 HT-29 细胞中转染了 IL-20 受体 β 亚

单位的 cDNA,再用 IL-20 或 IL-24 刺激,发现 STAT 途径被活化。进一步研究表明,这种活化现象可被抗 IL-22 受体的抗血清完全阻断,提示 IL-20 和 IL-24 是通过一个新的 IL-20 受体来发挥作用,而这个新的 IL-20 受体必然与 IL-22 受体的亚单位相关。然后,他们又在 HT-29 细胞中转染了 IL-20 受体的 α 、 β 亚单位的 cDNA,发现 IL-19,IL-20,IL-24 均可活化 STAT 途径,加入抗 IL-22 受体的抗血清也无法阻断;如果在 HT-29 细胞中仅转染了 IL-20 受体的 α 亚单位的 cDNA,则 IL-19,IL-20,IL-24 都无法活化 STAT 途径。最后 Dumoutier 等人以人 HEK293 细胞为研究对象,HEK293 细胞能内源性表达 IL-10 受体的 β 亚单位,但无法表达 IL-22 受体,用同样的实验方法得出了类似的结果^[6]。这些研究结果表明:IL-20 可以通过 2 种受体复合物来发挥作用,IL-20R α /IL-20R β 组成的受体复合物及 IL-22R α /IL-20R β 组成的受体复合物,而且必须 2 个亚单位同时存在才能与配体高效结合。Western 印迹法证实 IL-20 可以活化 STAT3 途径,进而对 IL-20 受体 α 亚单位的胞内区的分析,发现有 2 个 STAT3 的活化位点,及一个 JAK1 的结合位点^[7]。而 IL-20 受体 β 亚单位的胞内区与 TNF- α 受体 α 亚单位的胞内区的 JYK2 的结合位点有一定的相似之处,提示 IL-20 受体 β 亚单位可能是通过 TYK2 起作用的。JAK1, TYK2 都是 JAK 激酶之一, JAK 激酶是酪氨酸蛋白激酶家族成员,在 II 型细胞因子受体所涉及的信号传导通路中,许多细胞底物的酪氨酸磷酸化都是由 JAK 激酶所介导的。

Wolk 等^[8]从健康人外周血分离出单核细胞、NK 细胞、B 细胞、T 细胞,并观察它们在正常条件下或不同刺激物(LPS 等)诱导条件下,用 RT-PCR 方法检测 IL-20 和 IL-20 受体表达情况:单核细胞在用 LPS 刺激下 2 h 左右出现 IL-20,随后表达量随时间延长急速下降,而在其他细胞则均未发现 IL-20 的表达;而 IL-20 受体的表达来看,在 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、单核细胞均有 IL-20 受体 β 亚单位的表达,但水平极低,而且在这些淋巴细胞表面并未找到与之相对应的已知受体的 α 亚单位。因此它可能存在着一个新的 α 亚单位与 IL-20 受体的 β 亚单位,形成了一个新受体复合物,介导配体的作用。这些研究结果表明:虽然一些免疫细胞能分泌一些细胞因子,如 IL-20,IL-22,IL-24,但在这些免疫细胞表面,这些因子的受体并不表达或表达很少,提示在机体的其他一些组织可能存在它们的靶细胞,这些细胞因子在特定组织发挥各自的生物学效应。IL-20 受体在正常的皮肤和睾丸组织中高表达,在心脏、肺、胎盘、肾上腺和卵巢等组织也有表达。IL-20 在这些组织中发挥着怎样的生物学功能有待于进一步研究和探讨。

3 IL-20 的生物学活性

3.1 IL-20 促进细胞因子和趋化因子的分泌

Blumberg 等^[2]发现 IL-20 可以激活人类角质细胞系 HaCaT 细胞的 STAT3 途径,引起 STAT3 分子相关基因的活化和转录,具体来说研究人员发现在 IL-20 刺激下,HaCaT 细

胞中的 TNF- α 、MCP-1、MRP-14 等细胞因子的表达上调,而这几种细胞因子和早期的炎症启动和免疫应答密切相关:TNF- α 可活化单核和巨噬细胞,提高其杀伤活性,并上调巨噬细胞 MHC II 分子,提高它的抗原递呈能力,还能刺激内皮细胞表达 MHC I 类抗原,同时促进中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞黏附到内皮细胞上,参与炎症反应;MCP-1 则可趋化激活 T 细胞、单核细胞、激活嗜碱性粒细胞,促进 NK 细胞细胞毒活性;MRP-14 是一种 S100 钙离子结合蛋白,在白细胞整合素的活化中起作用,调节表皮炎症。进一步研究发现,STAT3 基因敲除的角质细胞尽管可以形成表面上正常的表皮,但它们在外伤愈合和毛发生长方面有着明显的缺陷,而且 STAT3 敲除的角质细胞对表皮生长因子(EGF)、肝细胞生长因子(HGF)、IL-6 的刺激不产生细胞效应。研究人员还发现 IL-20 可刺激角质细胞的增生和分化,这一过程似乎和活化的 T 细胞有关,活化的 T 细胞可分泌 IFN- γ 。尽管 IFN- γ 在正常条件是诱导巨噬细胞、T 细胞、B 细胞等细胞 MHC II 分子的表达,提高它们的抗原递呈能力,但在皮肤炎症这样一个环境中,IFN- γ 则可促进角质细胞的增生。

3.2 IL-20 与皮肤炎症、疾病

皮肤是将外部环境和内部环境隔离开来的一道物理屏障,也是作为免疫系统接触病原体并为之发生免疫应答的第一道防线。外伤、紫外线照射、抗原刺激都会影响到皮肤的角质细胞,并使它分泌多种细胞因子:TNF- α 、IL-1 α 、IL-3、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、TGF- α 、TGF- β 、IFN- γ 和 MCP-1^[9],它们可以通过旁分泌的形式来作用于淋巴细胞、内皮细胞、成纤维细胞。其中 TNF- α 、IL-1 α 可作用于角质细胞自身,活化 NF- κ B 途径使其他的细胞因子、趋化因子、黏附因子的转录表达增加。在这些大量产生的细胞因子的协同作用下,活化的 T 细胞引发细胞免疫和体液免疫。在这样一个皮肤炎症发生、发展的过程中,IL-20 和 IL-20 受体在上皮细胞、内皮细胞、淋巴细胞中均有较高的表达,提示 IL-20 在皮肤的炎症应答中扮演一个重要的角色^[10],但 IL-20 在哪个环节中起作用,比如它是由哪个细胞因子所诱导产生的、它的表达增高将导致哪些细胞因子和趋化因子的升高?IL-20 的作用被阻断后,会对皮肤免疫应答有怎样的影响?这些问题的解决还有待于进一步的深入探讨。

Blumberg 等^[2]的研究表明,IL-20 的转基因小鼠(采用不同组织特异性的启动子定位于肝、淋巴细胞、表皮的 IL-20 表达)与正常小鼠相比,体积要小,皮肤要亮,较软;四肢、背、尾、鼻孔肿胀,移动困难,缺乏肉眼可见的脂肪组织,有凋亡的胸腺淋巴细胞,耳朵和脚趾发育迟缓,在出生后数日内死亡。通过对 IL-20 转基因小鼠的皮肤作组织学检测发现,大量增生的角质细胞导致了显著增厚的上皮,几种局限于基底层的几种分化和增生的标记物出现于基底上层^[2],这些都是类似于银屑病的病理改变,但有一点与银屑病不同之处在

于:IL-20 转基因小鼠皮肤下不存在炎症细胞的浸润。

通过对正常人和银屑病患者皮肤中 IL-20 受体 α 、 β 2 个亚单位的检测发现银屑病患者皮肤中角质细胞、上皮细胞、单核细胞检测到极高水平的 IL-20R 的 mRNA,而在正常皮肤中只有很低的表达,提示 IL-20 与 IL-20R 的相互作用可能与银屑病的发病有关。

4 结 语

IL-20 是近来发现的白介素 10 家族的新成员,由活化的单核细胞所分泌,IL-20 可激活角质细胞的 STAT3 途径,从而促进一些细胞因子和趋化因子的分泌,调节皮肤炎症早期的免疫应答。IL-20 还可促进角质细胞的增生和分化,与银屑病的发病有密切关系。IL-20 在炎症早期免疫应答中哪个环节发挥作用?IL-20 的作用被阻断后,会对银屑病的发生、发展有怎样的影响?这些问题的研究与解答有助于进一步了解 IL-20 生物学活性,也将对今后的临床治疗银屑病及皮肤其他疾病有重要的指导作用。

[参 考 文 献]

- [1] Fickenscher H, Her S, Kupers H, *et al*. The interleukin-10 family of cytokines[J]. Trends Immunol, 2002, 23(3): 89-96.
- [2] Blumberg H, Conklin D, Xu WF, *et al*. Interleukin-20: Discovery, receptor identification, and role in epidermal function[J]. Cell, 2001, 104(1): 9-19.
- [3] Gallagher G, Dickensheets H, Eskdale L, *et al*. Cloning, expression and initial characterization of interleukin-19(IL-19), a novel homologue of human interleukin-10(IL-10) [J]. Genes Immunol, 2000, 1(7): 442-450.
- [4] Chang C, Magrancheva E, Kozlov S, *et al*. Crystal structure of interleukin-19 defines a new subfamily of helical cytokines[J]. J Biol Chem, 2003, 278(5): 3308-3313.
- [5] Dumoutier L, Lejeune D, Hor S, *et al*. Cloning of a new type II cytokine receptor activating signal transducer and activator of transcription (STAT)1, STAT2 and STAT3[J]. Biochem J, 2003, 370(pt2): 391-396.
- [6] Dumoutier L, Leemans G, Lejeune D, *et al*. STAT activation by IL-19, IL-20 and mda-7 through IL-20 receptor complexes of two types[J]. J Immunol, 2001, 167(7): 3545-3549.
- [7] Kotenko SV. The family of IL-10-related cytokines and their receptors: related, but to what extent[J]? Cytokine and growth factor Reviews, 2002, 13(3): 223-240.
- [8] Wolk K, Kunz S, Asedullahk K, *et al*. Immune cells as sources and targets of the IL-10 family members? [J]. J Immunol, 2002, 168(11): 5397-5402.
- [9] Rich BE, Kupper TS. Cytokines: IL-20-a new effector in skin inflammation[J]. Curr Biol, 2001, 11(13): R531-534.
- [10] Dumoutier L, Renauld JC. Viral and cellular interleukin-10(IL-10)-related cytokine: from structures to functions[J]. Eur Cytokine Netw, 2002, 13(1): 5-15.

[收稿日期] 2003-03-20

[修回日期] 2003-05-10