

[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,两者同源性为 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, Fliieger 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, Asedullah 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