

## • 综述 •

## 细胞因子 IL-35 研究进展\*

蒋瑜 综述, 张松照<sup>△</sup> 审校

(浙江大学医学院附属第二医院检验科, 杭州 310009)

关键词: IL-35; 炎症; 自身免疫病; 肿瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.020

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)12-1639-03

白介素(IL)-35 是 IL-12 家族中的新成员, 由 EB 病毒诱导基因 3(Ebi3)蛋白和 p35(IL-12a)亚基组成异源二聚体, 与 IL-12、IL-23 和 IL-27 共同组成了 IL-12 细胞因子家族<sup>[1]</sup>。关于 IL-35 的发现可追溯 1997 年 Devergne 等<sup>[2]</sup>发现 Ebi3 和 p35 可以聚合形成异二聚体, 作为促红细胞生成素, 但未对其功能进行研究。2007 年, Vignali 团队发现 IL-35 的生物学功能, IL-35 可由 Treg 细胞分泌并能抑制 T 效应细胞的功能<sup>[3]</sup>。至 2014 年, Shen 等<sup>[4]</sup>发现一群产生 IL-35 的 Breg, 在自身免疫疾病 EAE 和沙门菌感染的炎症中发挥重要的抑制性作用, 随后 Wang 等<sup>[5]</sup>在自身免疫性葡萄膜炎中, 也验证了 B 细胞产生的 IL-35 对效应 T 细胞的抑制功能。IL-35 逐渐成为研究的热点, 作为继转化生长因子-β(TGF-β)、IL-10 和 IL-27 之后出现的新抗炎因子, 有望成为治疗感染性疾病、自身免疫性疾病和肿瘤的靶点。

## 1 IL-35

**1.1 IL-35 和 IL-35 受体的结构** IL-35 是 IL-12 家族的最新成员。IL-12 家族属于 IL-6 超家族中的 I 型细胞因子, 结构为异二聚体, 由 3 种 α 链(p19、p28、p35)及 2 种 β 链(p40、Ebi3)组合成 4 种细胞因子: IL-12(p35/p40)、IL-23(p19/p40)、IL-27(p28/Ebi3)、IL-35(p35/Ebi3)。这些细胞因子通过特定的受体将胞外信号传递给细胞。IL-12 家族的受体由 IL-12R<sub>β1</sub>、IL-12R<sub>β2</sub>、IL-23R、IL-27R(WSX-1)和 gp130 两两聚合而成。其中 IL-12 信号通过 IL-12R<sub>β1</sub>-IL-12R<sub>β2</sub>/STAT4 传导; IL-23 信号通过 IL-23R-L-12R<sub>β1</sub>/STAT3/STAT4 传导; IL-27 信号通过 gp130-WSX-1/STAT1/STAT3 传导。IL-35 信号比较特别, 并不通过单一受体传导, 可通过 IL-12R<sub>β2</sub>-gp130/STAT1/STAT4 或 IL-12R<sub>β2</sub>-IL-12R<sub>β2</sub>/STAT4 或 gp130-gp130/STAT1 传导<sup>[1,6]</sup>。

**1.2 IL-35 的表达与分泌** IL-35 由 p35/Ebi3 两个亚基组成, 这 2 个亚基的表达存在种属差异性<sup>[7]</sup>。在人类发现胚胎期合胞体滋养层检测到 p35/Ebi3 同时高表达; IL-12a 亚基以极低浓度表达于脑、肠和肾组织, Ebi3 亚基以低浓度表达于眼、淋巴结和胰腺, 在动脉粥样硬化斑块内的内皮细胞、巨噬细胞、血管平滑肌细胞中也有表达。而鼠类中, 血液、骨髓、肝和胸腺均可检出 IL-12A 亚基, Ebi3 亚基还高水平表达于鼠的淋巴结。在小鼠中 IL-35 组成性表达于其血液、骨髓、肝和胸腺等组织, 而在人类组织中通常在炎症的情况下诱导表达。除此之外也有文献报道组织的低甲基化状态也可诱导 IL-35 的高表达。S-腺苷甲硫氨酸(SAM)与 S-腺苷高半胱氨酸(SAH)的浓度比率是细胞甲基化的重要代谢指示剂, 随着 SAM/SAH 比率的

降低, IL-35 的 2 个亚基的表达上调。实验证明导致细胞低甲基化的因素, 如致动脉粥样硬化的危险因素高半胱氨酸血症在鼠体内可诱导 IL-35 的表达<sup>[8-11]</sup>。上述发现提示在不同物种中, 分泌 IL-35 的细胞以及 IL-35 的分泌方式可能存在差别。

关于 IL-35 分泌的研究主要集中在 CD4<sup>+</sup> CD35<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 细胞中, 在鼠类中未经活化的 CD4<sup>+</sup> CD35<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 细胞可分泌 IL-35, 而人类中仅由活化的 CD4<sup>+</sup> CD35<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 分泌。多种体内外的疾病模型证实 Treg 细胞分泌的 IL-35 可抑制 T 细胞的增殖和功能。与 TGF-β、IL-10 相似, IL-35 也可将 Naive T 细胞诱导成 IL-35 依赖的新型的 Treg, 称为 iTr35, 且 iTr35 的免疫抑制作用不依赖于 Foxp3、TGF-β 和 IL-10<sup>[3,10]</sup>。接着 Olson 等<sup>[12]</sup>报道人 CD8<sup>+</sup> Treg 表达 CTLA-4 且分泌 IL-35 的 CD8<sup>+</sup> Treg 参与前列腺癌的抗肿瘤免疫调节。近期 Shen 等<sup>[4]</sup>和 Wang 等<sup>[5]</sup>分别报道 IL-35 也可由 Breg 分泌主要是 CD19<sup>+</sup> CD138<sup>+</sup> 浆细胞分泌, 并在自身免疫疾病和炎症中发挥免疫调节作用。

**1.3 IL-35 在 T 细胞和 B 细胞中的信号转导** Colliso 等<sup>[13]</sup>通过 IL-12 家族受体缺失实验发现在 T 细胞中 IL-35 信号通过 gp130 和 IL-12R<sub>β2</sub> 传导, 两者同时缺失时能完全消除 IL-35 的抑制作用, 若仅缺失 gp130 或者 IL-12R<sub>β2</sub> 则部分抑制 IL-35 或 iTr35 的抑制作用, 提示 IL-35 可通过其受体单链来传导。IL-35 能通过 gp130 二聚体活化 STAT1 或者 IL-12R<sub>β2</sub> 二聚体信号活化 STAT4 抑制 Th1 和 Th17 细胞的增殖发挥抑制作用; IL-35 还能通过上调 T 细胞中 p35 和 Ebi3 基因的表达及促进 T 细胞转化为 iTr35 时, 需要 gp130 和 IL-12R<sub>β2</sub> 异二聚体受体信号的同时参与, 继而活化 STAT1/STAT4, 促进 p35 和 Ebi3 的转录。

在 B 细胞中, IL-35 介导的信号通路则与 T 细胞中不同。干扰 gp130 的表达或者用抗体中和 gp130 均不影响 IL-35 对 B 细胞增殖的抑制和诱导 IL-10 生成的诱导。而干扰 IL-12R<sub>β</sub> 和 2IL-27R<sub>α</sub> 完全抑制了 IL-35 在 B 细胞中的作用, 接着作者又证实 IL-35 通过 B 细胞中 IL-12R<sub>β</sub>/2IL-27R<sub>α</sub> 受体, 活化 STAT1/STAT3 来抑制 B 细胞增殖和诱导 IL-10 的生成<sup>[5]</sup>。

## 2 IL-35 在炎症和肿瘤中的功能

**2.1 IL-35 在炎症中的作用** 研究者利用 IL-12a<sup>-/-</sup> 和 Ebi3<sup>-/-</sup> 工具小鼠, 证实 IL-35 通过抑制 T 效应细胞功能减轻自身免疫疾病和慢性炎症模型中的炎症, 如在炎症性肠病(IBD)、实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)、胶原诱导的关节炎(CIA)、心肌炎、肝纤维化中都起到免疫抑制作用<sup>[3,14-16]</sup>。也有研究者通过质粒合成的单链 IL-35 融合蛋白腹腔注射入小

\* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31400740)。

△ 通信作者, E-mail: jiangyu\_1985@126.com。

鼠体内或者 IL-35 转基因小鼠,得到 IL-35 高表达的小鼠模型,证明 IL-35 能减轻针对尘螨变应原特异性记忆/效应 Th2 细胞介导急性气道炎症<sup>[17]</sup>;在肠道黏膜免疫微环境中 IL-35 能下调 Th1 和 Th17 的细胞数量从而减轻肠炎症状<sup>[18]</sup>;小鼠胰腺  $\beta$  细胞高表达的 IL-35 能抑制胰腺小岛 CD4 $^{+}$  和 CD8 $^{+}$  T 细胞的浸润,抑制 T 细胞增殖,并阻滞在 G1 期,为防止小鼠自身免疫性糖尿病提供长效保护。研究报道 IL-35 过表达对小鼠 GVHD、病毒性心肌炎、人动脉粥样硬化同样有保护作用<sup>[19]</sup>。

**2.2 IL-35 在肿瘤中的作用** 最早报道在霍奇金淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、鼻咽癌和急性髓细胞性白血病中 Ebi3 高表达,同时 p35 亚基也高表达,提示 IL-35 在肿瘤微环境中发挥作用<sup>[20]</sup>。有研究者报道 Treg 来源的 IL-35,及 IL-35 诱导的 iTreg 在肿瘤免疫微环境中起到重要调控作用,与 Treg 一起调控肿瘤的进展<sup>[3,8,10]</sup>。人肺癌中高表达 Ebi3 促进肿瘤发展,干扰 Ebi3 抑制肿瘤细胞的增殖,Ebi3 的表达水平与肺癌的预后负相关。小鼠 Ebi3 缺失后对肺癌的转移起到保护作用,主要通过促进能生成 IFN- $\gamma$  的 CD11c $^{+}$  B220 $^{+}$  NK1.1 $^{+}$  Gr1 $^{-}$  细胞的诱导 DC,增强 CD8 $^{+}$  T 细胞抗肿瘤的作用<sup>[21]</sup>。在小鼠 J558 浆细胞或 B16F10 黑色素瘤细胞模型中,肿瘤细胞分泌的 IL-35 增加了肿瘤内 MDSC 细胞浸润和血管生成促进肿瘤转移,IL-35 中和抗体则能消除上述作用;分泌 IL-35 的肿瘤细胞还能通过上调自身 gp130 的表达抵抗细胞毒性 T 淋巴细胞 CTL 的功能<sup>[22]</sup>。Long 等<sup>[23]</sup>报道肿瘤细胞上过表达 IL-35 能有效降低肿瘤细胞活性,抑制肿瘤细胞生长,诱导细胞周期阻滞在 G1 期,通过上调 Fas 的表达、下调 cyclin D1、survivin 和 Bcl-2 的表达,促进肿瘤细胞的凋亡。总之肿瘤细胞生成的 IL-35 或肿瘤微环境浸润细胞分泌的 IL-35 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。

**2.3 血清 IL-35 的水平与人类肿瘤和慢性炎症等其他疾病的关系** 随着人 IL-35 研究的不断增加,越来越多的文献证实人血清里 IL-35 的水平与各种疾病状况相关。肿瘤患者血清中 IL-35 升高;自身免疫疾病患者血清中 IL-35 降低;提示 IL-35 有望成为相关疾病的诊断标志物。在肿瘤方面:Zeng 等<sup>[24]</sup>报道血清 IL-35 浓度与结肠癌患者外周血中 Treg 的数量呈正相关,且结肠癌肿瘤切除后血清 IL-35 浓度下降;Jin 等<sup>[25]</sup>报道胰腺导管腺癌患者中,血浆 IL-35 的水平与肿瘤的淋巴结转移、肿瘤的大小和分期正相关;Wu 等<sup>[26]</sup>报道在新诊断的急性髓细胞性白血病患者中血浆 IL-35 的浓度明显高于正常对照和完全缓解的患者血清中的浓度。在炎症方面:Jafarzadeh 等<sup>[27]</sup>报道在多发性硬化症患者经  $\beta$  干扰素和甲基强的松龙治疗后,血清 IL-35 的水平增加;Chen 等<sup>[28]</sup>报道与健康人群相比新确诊的哮喘患者和慢性阻塞性肺疾病患者中 IL-35 蛋白水平下调;万俊等<sup>[29]</sup>报道在过敏性鼻炎患者中血清 IL-35 和 Ebi3 的表达相对于正常也明显减少;有学者报道溃疡性结肠炎和克罗恩病患者体内血清 IL-35 水平显著降低<sup>[30]</sup>。除此之外,在免疫性血小板减少患者、心绞痛和急性心肌梗死患者、复发性流产和子痫前期患者中 IL-35 水平也是下降的<sup>[31-33]</sup>。

### 3 结语和展望

综上所述,IL-35 作为新的抑制性细胞因子,具较强的有免疫抑制功能;能促进 CD4 $^{+}$  CD25 $^{+}$  Treg 细胞、CD138 $^{+}$  B 细胞和 CD4 $^{+}$  CD25 $^{-}$  Teff 细胞的扩增;可通过诱导 Th1 细胞增殖来帮助机体清除病原体,同时通过抑制 Th17 细胞分化来阻止过度的自身免疫反应,还可促进 Treg 和 Teff 细胞扩增。Treg 细胞在慢性感染阶段发挥抑制 Teff 细胞的作用,以阻止对机体

的免疫损伤;IL-35 在肿瘤中也同样发挥抑制免疫细胞功能的作用。IL-35 是继 TGF- $\beta$ 、IL-10 和 IL-27 之后出现的新抗炎因子,随着对 IL-35 研究的不断深入和增加,未来很可能可以为临床提供一种新的针对顽固性免疫性疾病、肿瘤、炎症等的治疗方法,有望成为治疗感染性疾病、自身免疫性疾病和肿瘤的新靶点。但目前仍有很多问题有待解决。首先由 IL-35 和 IL-35 受体亚基是与 IL-12 细胞因子家族共享的,单个亚基的研究很难真正确定 IL-35 的功能,因此确定真正的 IL-35 功能是很有挑战性的研究。其次,目前关于 IL-35 和相关受体的条件性敲除小鼠还没有很好的建立,也缺乏纯化的人的 IL-35、IL-35 受体特异性抗体,这些都延缓了 IL-35 功能的研究。另外对分泌 IL-35 的细胞来源认识尚浅,也没有很好的解释 Treg、Breg 等细胞分泌 IL-35 时受到哪些特异的转录因子调控,具体怎样调控。如果 IL-35 用作肿瘤和炎症等其他疾病的诊断标志物时,IL-35 在不同组织和细胞中的表达需经过严格的评价。同时 IL-35 在人和鼠体内不同的表达方式和分子机制的不同原因也有待进一步研究。

### 参考文献

- Vignali DA, Kuchroo VK. IL-12 family cytokines: immunological playmakers [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(8): 722-728.
- Devergne O, Birkenbach M, Kieff E. Epstein-Barr virus-induced gene 3 and the p35 subunit of interleukin 12 form a novel heterodimeric hematopoietin [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(22): 12041-12046.
- 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.
- 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.
- 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.
- Jones LL, Vignali DA. Molecular interactions within the IL-6/IL-12 cytokine/receptor superfamily [J]. *Immunol Res*, 2011, 51(1): 5-14.
- Li XY, Mai JT, Virtue A, et al. IL-35 is a novel responsive anti-inflammatory cytokine - A new system of categorizing anti-inflammatory cytokines [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33628.
- Collison LW, Vignali DA. Interleukin-35: odd one out or part of the family [J]. *Immunol Rev*, 2008, 226(12): 248-262.
- Bardel E, Larousserie F, Charlot RP, et al. Human CD4 $^{+}$  CD25 $^{+}$  Foxp3 $^{+}$  regulatory T cells do not constitutively Express IL-35 [J]. *J Immunol*, 2008, 181(10): 6898-6905.
- 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.
- Chen NC, Yang F, Capecci LM, et al. Regulation of homocysteine metabolism and methylation in human and mouse

- tissues[J]. FASEB J, 2010, 24(8):2804-2817.
- [12] Olson BM, Jankowska-Gan E, Becker JT, et al. Human prostate tumor antigen-specific CD8<sup>+</sup> regulatory T cells are inhibited by CTLA-4 or IL-35 blockade[J]. J Immunol, 2012, 189(12):5590-5601.
- [13] 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.
- [14] Niedbala W, Wei XQ, Cai B, et al. 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[J]. Eur J Immunol, 2007, 37(11):3021-3029.
- [15] Kochetkova I, Golden S, Holderness K, et al. IL-35 stimulation of CD39<sup>+</sup> regulatory T cells confers protection against collagen II-induced arthritis via the production of IL-10[J]. J Immunol, 2010, 184(12):7144-7153.
- [16] Tirotta E, Duncker P, Oak J, et al. Epstein-Barr virus-induced gene 3 negatively regulates neuroinflammation and T cell activation following coronavirus-induced encephalomyelitis[J]. J Neuroimmunol, 2013, 254(1/2):110-116.
- [17] Huang CH, Loo EX, Kuo IC, et al. Airway inflammation and IgE production induced by dust mite allergen-specific memory/effector Th2 cell line can be effectively attenuated by IL-35[J]. J Immunol, 2011, 187(1):462-471.
- [18] Hu Y, Dong C, Yue Y, et al. In vivo delivery of interleukin-35 relieves coxsackievirus-B3-induced viral myocarditis by inhibiting Th17 cells[J]. Arch Virol, 2014, 159(9):2411-2419.
- [19] 张传峰,苑海涛.病毒性心肌炎患者血清 IL17、IL35 水平变化及意义[J].山东医药,2014,40(31):28-30.
- [20] Niedobitek G, Pazolt D, Teichmann M, et al. Frequent expression of the Epstein-Barr virus (EBV)-induced gene, EBI3, an IL-12 p40-related cytokine, in Hodgkin and Reed-Sternberg cells[J]. J Pathol, 2002, 198(3):310-316.
- [21] Nishino R, Takano A, Oshita H, et al. Identification of Epstein-Barr virus-induced gene 3 as a novel serum and tissue biomarker and a therapeutic target for lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(19):6272-6286.
- [22] Wang Z, Liu JQ, Liu Z, et al. Tumor-derived IL-35 promotes tumor growth by enhancing myeloid cell accumulation and angiogenesis[J]. J Immunol, 2013, 190(5):2415-2423.
- [23] Long J, Zhang X, Wen M, et al. IL-35 over-expression increases apoptosis sensitivity and suppresses cell growth in human cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 430(1):364-369.
- [24] Zeng JC, Zhang Z, Li TY, et al. Assessing the role of IL-35 in colorectal cancer progression and prognosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(9):1806-1816.
- [25] Jin P, Ren H, Sun W, et al. Circulating IL-35 in pancreatic ductal adenocarcinoma patients[J]. Hum Immunol, 2014, 75(1):29-33.
- [26] Wu H, Li P, Shao N, et al. Aberrant expression of Treg-associated cytokine IL-35 along with IL-10 and TGF-beta in acute myeloid leukemia[J]. Oncol Lett, 2012, 3(5):1119-1123.
- [27] Jafarzadeh A, Jamali M, Mahdavi R, et al. Circulating levels of interleukin-35 in patients with multiple sclerosis: evaluation of the influences of FOXP3 gene polymorphism and treatment program[J]. J Mol Neurosci, 2015, 55(4):891-897.
- [28] Chen C, Deng Y, Chen H, et al. Decreased concentration of IL-35 in plasma of patients with asthma and COPD [J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2014, 32(3):211-217.
- [29] 万俊,罗英,杨春平,等.变应性鼻炎患者外周血 IL-35 及 EBI3 mRNA 和 IL-12A mRNA 表达的研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2014,28(13):952-954.
- [30] 沈崇灵.法理学[M].北京:北京大学出版社,1994:51-52.
- [31] Yang Y, Xuan M, Zhang X, et al. Decreased IL-35 levels in patients with immune thrombocytopenia[J]. Hum Immunol, 2014, 75(8):909-913.
- [32] Ozkan ZS, Simsek M, Ilhan F, et al. Plasma IL-17, IL-35, interferon-gamma, SOCS3 and TGF-beta levels in pregnant women with preeclampsia, and their relation with severity of disease[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2014, 27(15):1513-1517.
- [33] Lin Y, Huang Y, Lu Z, et al. Decreased plasma IL-35 levels are related to the left ventricular ejection fraction in coronary artery diseases[J]. PLoS One, 2012, 7(12):e52490.

(收稿日期:2017-01-26 修回日期:2017-03-11)

## • 综述 •

## 基因组拷贝数变异与肺癌关系的研究进展

冯倩<sup>1</sup>综述,张艳亮<sup>2</sup>,段勇<sup>2△</sup>审校

(1. 云南省第二人民医院检验科,昆明 650021;2. 昆明医科大学第一附属医院检验科,昆明 650032)

关键词:肺癌; 拷贝数变异; 基因组

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)12-1641-04

肺癌是中国乃至全世界最常见的恶性肿瘤之一,截止

2013 年的调查显示其病死率在中国死亡病种中位列第 4

△ 通信作者,E-mail:duanyong7@139.com。