

白细胞介素 35 在器官移植免疫中的研究进展

王 炜

天津医科大学总医院 普通外科, 天津 300052

摘 要: 白细胞介素 35 (IL-35) 是近年发现并命名的 IL-12 家族细胞因子, 它可由调节性 T (Treg) 细胞和调节性 B (Breg) 细胞特异性产生, 是 Treg 和 Breg 细胞介导的负向免疫调节作用所必需的细胞因子。研究表明 IL-35 在器官移植免疫中发挥重要作用, 针对 IL-35 的临床研发药物及细胞药物治疗可为抗移植排斥反应甚至诱导移植免疫耐受提供新的靶点和研究方向。

关键词: 白细胞介素 35; 调节性 T 细胞; 调节性 B 细胞; 器官移植免疫; 免疫抑制药物

中图分类号: R979.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2018)03 - 0713 - 04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.03.058

Research progress on interleukin 35 in organ transplantation immunity

WANG Wei

Department of General Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Abstract: Interleukin 35 (IL-35) is a kind of cytokine which is recently found and belongs to the IL-12 family. IL-35 is a cytokine secreted by regulatory T cells (Treg) and regulatory B cells (Breg), and is necessary for the negative immunoregulation mediated by Treg and Breg cells. Studies have shown that IL-35 plays an important role in organ transplantation immunity. The clinical research development drugs and cell therapy drugs for IL-35 can provide new targets and research directions for anti-graft rejection and even induction of transplantation immunity tolerance.

Key words: IL-35; Treg; Breg; organ transplantation immunity; immunosuppressive drugs

白细胞介素 35 (IL-35) 是 IL-12 家族的新型细胞因子, 与 IL-12、IL-23、IL-27 共同组成了 IL-12 细胞因子家族^[1]。虽然 IL-35 具有 IL-12 细胞因子家族的典型结构特点, 是一种由 EB 病毒诱导基因 3 (EBI3) 蛋白和 IL-12p35 (IL-12A) 亚基以二硫键共价相连组成的异源二聚体^[2], 但与其他成员不同的是 IL-35 通过 Treg 和 Breg 细胞介导强大的免疫抑制效应^[3-4]。IL-35 通过与 IL-12Rβ2 和 gp130 组成的 IL-12Rβ2:gp130 异源性二聚体或 IL-12Rβ2:IL-12Rβ2 及 gp130:gp130 同源二聚体结合来传导信号^[5]。虽然 IL-35 在结构上与家族中其他成员相似, 但它并非是由诸如 B 细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞等抗原提呈细胞分泌, 而主要由 CD⁴⁺CD²⁵⁺Foxp³⁺Treg 所分泌的一种细胞因子, 对 Treg 免疫抑制作用的发挥具有重要作用^[6-7]。此外, Collison 等^[8]发现 IL-35 还能够诱导常规 T 细胞转化为新型的

CD⁴⁺CD²⁵⁺Foxp³⁺Treg, 他们将这种本身并不表达 Foxp3, 而且其功能的维持也与 Foxp3 无关的 Treg 称之为 IL-35 诱导性 Treg (iT₃₅)。有趣的是, iT₃₅ 本身也能够通过分泌 IL-35 再次发挥作用而形成了一种正反馈循环, 极大地抑制了多种效应细胞和细胞因子发挥作用^[8]。最近的研究表明, 调节性 B 细胞 (Breg) 也是 IL-35 的来源之一, 而重组 IL-35 (rIL-35) 融合蛋白可以诱导 Breg 细胞分泌 IL-10 和 IL-35, 从而进一步发挥生物学功能^[9-10]。

作为 Treg 细胞发挥免疫学功能的重要细胞因子, IL-35 具有抑制效应 T 细胞增殖和功能的作用^[1,11], 这可能是 IL-35 通过阻滞细胞周期的方式所达到^[12]。事实上, IL-35 在体内外均能够有效抑制 Th17 细胞的分化, 通过下调 IL-17 的表达, 上调 CD⁴⁺CD²⁵⁺Treg 比例, 诱导 Treg/Th17 平衡的偏移, 而发挥强大的免疫抑制作用。鉴于上述生物学功能, IL-35

收稿日期: 2017-12-08

基金项目: 天津医科大学科学基金资助项目 (2014KYM03)

作者简介: 王 炜, 男, 博士, 研究方向为移植免疫。Tel: (022)60363937 E-mail: nkjghww@126.com

作为继 TGF- β 和 IL-10 以外的新型抗炎细胞因子,在自身免疫性疾病和肿瘤方面的研究如雨后春笋般层出不穷,但在器官移植免疫方面的研究才刚刚起步。IL-35 在诊疗急性移植抗宿主病和抗实体器官移植排斥反应中具有重要作用,并且针对 IL-35 的临床研发药物及细胞药物治疗可为抗移植排斥反应甚至诱导移植免疫耐受提供新的靶点和研究方向。

1 诊疗急性移植抗宿主病

异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 是治疗恶性血液病的有效手段,而急性移植抗宿主病 (aGVHD) 则成为影响移植成功的主要障碍^[13]。aGVHD 是发生在异基因造血干细胞移植后的一种特异免疫现象,是移植组织中的免疫活性细胞与组织抗原不相容的受者组织之间的反应,可以引起皮肤、肝脏和消化道等多脏器的损伤^[14]。Zhang 等^[15]对 65 名 allo-HSCT 术后患者进行了血浆 IL-35 的检测,发现 III~IV 级 aGVHD 患者 IL-35 水平明显低于 I~II 级 aGVHD 患者和健康对照组;同时认为受体如果接受的移植骨髓和外周血干细胞中 IL-35 水平较低,那么移植后更容易出现 aGVHD 症状,而且体外实验证实 aGVHD 患者易出现血小板聚集,而 IL-35 剂量相关性抑制血小板的聚集,其机制主要是 IL-35 能够抑制血小板表面的激活标志物 (CD62P/PAC-1),从而减轻 aGVHD 患者外周血中血小板的激活和聚集,达到抗 aGVHD 效应^[15]。小鼠动物模型研究证实,过表达 IL-35 可以抑制 CD⁴⁺ T 细胞的激活,降低同种异体之间的 T 细胞应答反应,促进 CD⁴⁺ Foxp³⁺ Treg 的增殖,抑制 Th17 细胞分化,延缓 aGVHD 的发生、发展^[16]。

研究报道, Treg 具有免疫抑制作用,能有效抑制 aGVHD 的进程^[17],而 IL-35 能够促进 Treg 的扩增^[2]。在 aGVHD 的小鼠动物实验模型中, IL-35 能够促进 CD⁴⁺ Foxp³⁺ T 细胞和 CD⁸⁺ Foxp³⁺ T 细胞的增殖^[16],这种诱导的 Treg (iTreg) 发挥了强大、持久的免疫抑制效应,阻止了免疫炎症的进程,在抑制移植免疫过程中起到关键的作用。IL-10 是具有免疫负调控的保护性细胞因子,研究证实 IL-10 水平增高可以降低 aGVHD 发生的风险^[18],而 IL-35 在促进 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 扩增的同时, Treg 分泌大量 IL-10 细胞因子^[2],能够抑制效应性 T 细胞包括 Th17 细胞发挥免疫正效应,阻碍了 aGVHD 的进程,缓解移植排斥症状。总之, IL-35 能够有效缓解 aGVHD

症状,明显改善移植物的存活及生活质量,其机制可能为促进 iTreg 的扩增,抑制效应 T 细胞和细胞因子的增殖和分泌。IL-35 有可能成为成功扩增体内 Treg 细胞的细胞治疗方法,为临床治疗 allo-HSCT 后 aGVHD 提供新的治疗策略。

2 抗实体器官移植排斥反应

实体器官移植术后免疫排斥反应仍是目前尚待解决的问题之一,各种免疫抑制剂的应用可以取得暂时的良好效果,但不幸的是,这些药物存在毒副作用大,治疗窗口窄等问题。随着长期存活的患者不断增多,这些问题日益突出,限制了这些药物在移植免疫排斥治疗中的应用。因此,发现作用强、副作用小的抗免疫排斥药物或通过调控受体免疫机制解决排斥反应问题是当前研究的关键。

已有证据表明, CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 及 Foxp³⁺ 在移植患者中的差异可能成为指示移植器官是否存活的一个重要依据^[19]。研究发现肝移植耐受个体外周血淋巴细胞中 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Foxp³⁺ Treg 比例更高,肝脏组织中能够检测到更高水平的 Foxp3 mRNA^[20];在肺移植患者慢性排斥个体外周血 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 比例降低;而未发生排斥反应的心脏移植患者外周血中有更多的 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Foxp³⁺ Treg^[21]; CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 细胞耗竭还增强了 C57BL/6 小鼠体内心脏移植物的排斥反应。因此,通过调控异源反应性 T 细胞、加强 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 细胞介导的免疫调节,可减轻移植排斥反应。目前有关 IL-35 和器官移植关系的研究尚处于萌芽阶段,然而大量研究已经证实 IL-35 作为 Treg 体内功能的主要执行者,在维持免疫稳态和免疫负调控方面能力显著高于 TGF- β 和 IL-10^[6]。在眼角膜移植排斥的研究中,发现 IL-35 抑制了 INF- γ 和 IL-12 等炎症因子的表达,同时上调了 Treg 细胞发挥免疫抑制功能的 IL-10 和 TGF- β 等抑制炎症因子的表达,从而抑制了角膜移植排斥反应^[22]。Zongyi 等^[23]发现 IL-35 通过促进 Treg 增殖,调控 Treg/Th17 比例,抑制胰岛移植术后免疫排斥反应。本课题组前期研究发现, IL-35 能够引起心脏移植小鼠体内 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 比例上调,从而明显减轻急性排斥反应,延长移植心存活时间,其机制可能为 IL-35 刺激 CD⁴⁺ CD²⁵⁺ Treg 的生成,抑制效应性 T 细胞的增殖和应答^[24-25]。虽然 IL-35 在器官移植领域应用方面有了初步的探索,但是如何将 IL-35 转化为临床应用,成为抗移植免疫甚至达到免疫耐受的效果,尚需科学家们的进一步努力。

3 免疫抑制药物

随着免疫抑制剂治疗策略的广泛应用,器官移植术后排斥反应暂时得到了有效控制,如常用的环孢素A等旨在通过非特异性地阻断T细胞的活化发挥作用。但遗憾的是,长期服用免疫抑制剂药物会给患者带来诸多的毒副作用,包括药物本身的毒性、机体免疫的降低、感染或肿瘤的发生。文献报道,环孢素A可以有效治疗allo-HSCT术后aGVHD,改善患者的生存率,但是基于环孢素A可以引起严重的肾毒性,故早期应给予治疗量的环孢素A,避免药物带来的副反应^[26]。雷帕霉素作为第3代免疫抑制剂的代表,抑制移植物免疫排斥反应的效果比环孢素A强50倍,比他克罗姆强30倍^[27]。雷帕霉素与他克罗姆结合形成RAPA-FKBP复合物后,可与其靶蛋白mTOR结合,结合后信号通过IL-2受体和生长因子受体激活磷酸酰肌醇3激酶(P13K)链,导致蛋白激酶B(PKB)活化,使P13K-FRAP/mTOR通路活化,通过调节蛋白表达,发挥免疫抑制作用^[28]。IL-35作为一种新型的免疫抑制细胞因子,其抗移植免疫功能的强大是不可预估的,但是IL-35蛋白物表达水平低、数量少且不稳定、易分解^[16],很难作为免疫抑制药物提炼出来。但是,研究发现经IL-35基因修饰的间充质干细胞(IL-35-MSCs)的免疫抑制功能明显优于间充质干细胞(MSCs),其在体内外均能持续稳定表达IL-35,抑制IL-17、IFN- γ 等促炎细胞因子,并通过进一步诱导CD⁴⁺CD²⁵⁺Treg及Foxp³⁺Treg分化发挥更为强大的免疫抑制作用^[29-30]。那么,IL-35也许在不久的将来通过细胞药物治疗代替传统的免疫抑制药物,发挥强大的免疫抑制效应。

4 结语

因IL-35具有抑制效应T细胞的增殖、诱导Treg生成,抑制Th17细胞分化等生物学功能,而逐渐成为当今生命医学中的研究热点之一。虽然目前IL-35具体生物学功能、作用机制及其相关信号通路尚不十分明确,仍需更进一步的深入研究和认识,但基础动物实验已经证实,IL-35与临床多种器官移植免疫相关联。不久的将来,早期监测移植患者外周血IL-35水平也许能够作为早期判断移植物是否能够健康存活的指标;同时,随着蛋白科技的进一步发展,针对IL-35的临床研发药物及细胞药物治疗可为抗移植排斥反应甚至诱导移植免疫耐受提供新的靶点和研究方向。

参考文献

- [1] Collison L W, Workman C J, Kuo T T, *et al.* The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function [J]. *Nature*, 2007, 450(7169): 566-569.
- [2] Niedbala W, Wei X Q, 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.
- [3] Sawant D V, Hamilton K, Vignali D A. Interleukin-35: Expanding Its Job Profile [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2015, 35(7): 499-512.
- [4] Zhang J, Lin Y, Li C, *et al.* IL-35 Decelerates the inflammatory process by regulating inflammatory cytokine secretion and M1/M2 macrophage ratio in psoriasis [J]. *J Immunol*, 2016, 197(6): 2131-2144.
- [5] Collison L W, Chaturvedi V, Henderson A L, *et al.* IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(12): 1093-1101.
- [6] Chaturvedi V, Collison L W, Guy C S, *et al.* Cutting edge: human regulatory T cells require IL-35 to mediate suppression and infectious tolerance [J]. *J Immunol*, 2013, 191(4): 2018.
- [7] Käser T, Müllebnner A, Hartl R T, *et al.* Porcine T-helper and regulatory T cells exhibit versatile mRNA expression capabilities for cytokines and co-stimulatory molecules [J]. *Cytokine*, 2012, 60(2): 400-409.
- [8] Xiang X, Xie Q. IL-35: a potential therapeutic target for controlling hepatitis B virus infection [J]. *J Dig Dis*, 2015, 16(1): 1-6.
- [9] Wang R X, Yu C R, Dambuza I M, *et al.* Interleukin-35 induces regulatory B cells that suppress autoimmune disease [J]. *Nat Med*, 2014, 20(6): 633-641.
- [10] 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.
- [11] Collison L W, Pillai M R, Chaturvedi V, *et al.* Regulatory T cell suppression is potentiated by target T cells in a cell contact, IL-35- and IL-10-dependent manner [J]. *J Immunol*, 2009, 182(10): 6121-6128.
- [12] Bettini M, Castellaw A H, Lennon G P, *et al.* Prevention of autoimmune diabetes by ectopic pancreatic-cell expression of interleukin-35 [J]. *Diabetes*, 2012, 61(6): 1519-1526.
- [13] Beatty P G, Hansen J A, Longton G M, *et al.* Marrow transplantation from HLA-matched unrelated donors for treatment of hematologic malignancies [J]. *Transplantation*, 1991, 51(2): 443-447.

- [14] Shlomchik W D. Graft-versus-host disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(5): 340-352.
- [15] Zhang X, Zhou Y, Xu L, *et al*. Reduced IL-35 levels are associated with increased platelet aggregation and activation in patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Ann Hematol*, 2015, 94(5): 837-845.
- [16] Liu Y, Wu Y, Wang Y, *et al*. IL-35 mitigates murine acute graft-versus-host disease with retention of graft-versus-leukemia effects [J]. *Leukemia*, 2015, 29(4): 939-946.
- [17] Taylor P A, Lees C J, Blazar B R. The infusion of ex vivo activated and expanded CD⁴⁺CD²⁵⁺ immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality [J]. *Blood*, 2002, 99(10): 3493-3499.
- [18] Weston L E, Geczy A F, Briscoe H. Production of IL-10 by alloreactive sibling donor cells and its influence on the development of acute GVHD [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 37(2):207-212.
- [19] Tang Q, Bluestone J A. Regulatory T-cell therapy in transplantation: moving to the clinic [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3(11): a015552.
- [20] Martinez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, *et al*. Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation [J]. *Am J Transplant*, 2007, 7(2): 309-319.
- [21] Dijke I E, Korevaar S S, Caliskan K, *et al*. Inadequate immune regulatory function of CD⁴⁺CD²⁵⁺bright⁺Foxp3⁺ T cells in heart transplant patients who experience acute cellular rejection [J]. *Transplantation*, 2009, 87(8): 1191-1200.
- [22] 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.
- [23] Zongyi Y, Funian Z, Hao L, *et al*. Interleukin-35 mitigates the function of murine transplanted islet cells via regulation of Treg/Th17 ratio [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189617.
- [24] Guo H, Wang W, Zhao N, *et al*. Inhibiting cardiac allograft rejection with interleukin-35 therapy combined with decitabine treatment in mice [J]. *Transpl Immunol*, 2013, 29(1/4): 99-104.
- [25] 李宝柱, 赵娜, 何向辉, 等. 白细胞介素35抑制小鼠心脏移植排斥反应的研究 [J]. *中华器官移植杂志*, 2017, 38(1): 34-38.
- [26] Rogosheske J R, Fargen A D, DeFor T E, *et al*. Higher therapeutic CsA levels early post transplantation reduce risk of acute GVHD and improves survival [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2014, 49(1): 122-125.
- [27] Chang J Y, Sehgal S N. Pharmacology of rapamycin: a new immunosuppressive agent [J]. *Br J Rheumatol*, 1991, 30: 62-65.
- [28] Coutant A, Rescan C, Gilot D, *et al*. PI3K-FRAP/mTOR pathway is critical for hepatocyte proliferation whereas MEK/ERK supports both proliferation and survival [J]. *Hepatology*, 2002, 36(5): 1079-1088.
- [29] Zhao N, Li H, Yan Y, *et al*. Mesenchymal stem cells overexpressing IL-35 effectively inhibit CD⁴⁺ T cell function [J]. *Cell Immunol*, 2017, 312: 61-66.
- [30] Guo H, Zhao N, Gao H, *et al*. Mesenchymal stem cells overexpressing interleukin-35 propagate immunosuppressive effects in mice [J]. *Scand J Immunol*, 2017, 86(5): 389-395.