

白细胞介素 13 及其研究进展*

刘存仁 贺福初 吴祖泽

(北京放射医学研究所, 北京 100850)

摘要 白细胞介素 13 (IL-13) 是最近被发现的一种新型细胞因子, 由激活的辅助 T 细胞产生, 其分泌产物主要是一种分子量约为 10 000 的非糖基化的单链蛋白。人和鼠 IL-13 成熟蛋白分别由 112 和 111 个氨基酸残基组成, IL-13 不仅对单核细胞的体外生长、表面抗原表达以及多种细胞因子的产生具有明显的调控作用, 而且对 B 细胞的增殖、分化以及免疫球蛋白合成同样具有调控作用。更引人注目的是, 在造血祖细胞的增殖分化调控中, IL-13 与其他造血生长因子有协同作用。

关键词 白细胞介素 13, 细胞因子, 调控

白细胞介素 13 (IL-13) 是最近被描述和命名的一种新型多功能的细胞因子, 由激活的辅助 T 细胞产生, 其分泌产物主要是一种分子量约为 10 000 的非糖基化的单链蛋白, 重组蛋白可对单核细胞、B 细胞和造血祖细胞等产生广泛的生物学作用。本文综述了它的分子和细胞生物学研究进展。

1 IL-13 cDNA 的分子克隆及编码蛋白

早在 1989 年, Brown 等^[1]就报道了鼠 IL-13 cDNA 的全长序列 (最早称之为 P600)。而人 IL-13 cDNA 全长序列直到 1993 年才分别由 Minty 等^[2]和 McKenzie 等^[3]所在的两家实验室克隆成功。人 IL-13 cDNA 全长约 1282 个碱基, 其中包含一个由 399 个碱基组成的阅读框架, 可编码由 132 个氨基酸构成的多肽, 其 N 端氨基酸疏水性强, 符合分泌蛋白的特性, 经分析推测, 信号肽切割位点位于 IL-13 前体多肽第 20 位脯氨酸残基和第 21 位甘氨酸残基之间, 因此人 IL-13 的成熟肽长度为 112 个氨基酸, 其 N 端为甘氨酸^[2,3]。将人 IL-13 cDNA 转染 COS 或 CHO 细胞后的表达产物经分析表明, 分泌蛋白其 N 端均为 21 位的甘氨酸, 与上述推测结果完全一致^[2]。鼠 IL-13 cDNA 全长约 1207 个碱基, 含有一个 131 个氨基酸残基的

阅读框架, 其前体多肽的 N 端由疏水性氨基酸组成^[1]。将人和鼠 IL-13 核苷酸序列及氨基酸序列对比, 发现在其编码区内分别有 66% 的核苷酸和 58% 的氨基酸同源, 所有 5 个半胱氨酸残基 (包括信号肽中的一个) 完全相同, 在 3' 非编码区中, 各有 4 个 (人 IL-13) 和 3 个 (鼠 IL-13) 与 mRNA 不稳定有关的 A/TATT-TAA/T 序列。在人和鼠 IL-13 蛋白序列中, 分别有三四个可能的 N-糖基化位点 (Asn-X-Ser)^[2,3]。在克隆人 IL-13 cDNA 的同时, 得到了一个缺失编码 98 位 Gln 密码子的 cDNA 序列^[3]。根据人 IL-13 染色体基因结构分析得知, 98 位的 Gln 是第四外显子 5' 端的第一个氨基酸残基, 在基因转录后的 mRNA 加工过程中, 切割位点发生变化是形成不同形式 cDNA 的原因^[4]。但由两种不同 cDNA 序列编码的蛋白质却具有完全相同的活性^[3]。人 IL-13 cDNA 转染 COS-7 细胞后的体外表达表明, 绝大多数分泌蛋白是一种分子量约为 10 000 无 N-糖基化形式的单体蛋白, 但同时也见少量大分子量的分泌蛋白出现, 它们不同程度糖基化的结果, 与 IL-13 蛋白序列中存在 N-糖基化位点有关。重组 IL-13 cDNA 在原核细胞表达, 仅见一

* 国家“863”计划资助项目。

收稿日期: 1994-11-19, 修回日期: 1995-03-15

条分子量约为 10 000 的蛋白带^[3]. 然而在体内正常生理条件下, 人 IL-13 分泌蛋白究竟以哪种方式产生仍需实验证实.

2 IL-13 的染色体基因结构

McKenzie 等^[4]表明, 人和鼠 IL-13 基因在基因组中均为单拷贝, 由 4 个外显子和 3 个内含子组成. 人 IL-13 基因约为 4.6 kb, 而鼠 IL-13 基因约为 4.3 kb, 两基因第二和第三外显子编码的氨基酸数均相同, 分别为 18 和 35 个氨基酸. 在 IL-13 基因 5' 端侧翼区有一保守的 TATAA 序列 (TATA 盒), 分别位于人 IL-13 基因上游 697~701 和鼠 IL-13 基因上游 786~790 区, 它与基因的转录调控有关. 而在 IL-13 基因转录终止位点上游 14~19 碱基处可见有一多聚腺苷酸 (AATAAA) 信号. 将人和鼠 IL-13 基因序列对比不难发现, 两者全长序列具有很高的同源性, 尤其在 5' 和 3' 端侧翼区以及 3 个内含子中, 同源性的出现更引人注目, 然而这些序列在 IL-13 基因表达中的意义仍需进一步探讨.

采用 PCR 技术通过检测人-鼠等杂交细胞系中是否具有人 IL-13 基因特异片段和用人 IL-13 基因组 DNA 作探针进行原位杂交, 证实人 IL-13 基因位于第 5 号染色体的长臂, 染色体分带技术最终把它定位于人 5^{q31} 位点. 同样用 PCR 技术分析中国仓鼠-小鼠等杂交细胞系以及通过种间回交分析证实, 鼠 IL-13 基因位于第 11 号染色体中部区域. 以往的研究表明, 人和鼠 IL-13 基因所处的区域, 还聚集了其他一些免疫调控和造血生长因子基因, 它包括 IL-3、粒-巨系集落刺激因子 (GM-CSF)、IL-4 和 IL-5 基因^[5,6]. 由此可见, IL-13 基因是这个细胞因子基因家族的新成员, 这些细胞因子基因聚集于同一染色体区域, 可能有利于基因的表达调控, 另一方面, 也可能反映细胞因子基因起源上的相关性.

3 IL-13 mRNA 表达的细胞和组织分布

以 IL-13 cDNA 为探针进行 RNA 印迹分

析显示, 人 IL-13 mRNA 仅在激活的 T 细胞和 T 细胞克隆中表达, 在未激活的 T 细胞系以及心、脑、胎盘、肺、肝和骨骼肌来源的细胞中未见表达^[2,3]. 另外发现 PMA (phorbol myristyl acetate) 单独刺激与 PMA 和抗 CD28 单抗联合刺激相比, 对人外周血单个核细胞中 T 细胞表达 IL-13 mRNA 的影响有明显不同, 前者明显低于后者^[2]. 鼠辅助 T 细胞 (Th) 克隆可分为 Th1 和 Th2 两类, 实验表明, 所有 Th2 细胞系经激活后均表达 IL-13 mRNA, 但在几乎所有的 Th1 细胞系未见表达^[7]. 从上述现象可以看出, 人和鼠 IL-13 分泌蛋白仅由激活的 T 细胞产生, 它能否在其他类型细胞中表达仍有待研究.

4 IL-13 的生物学活性

4.1 IL-13 对单核细胞的作用

单核细胞是一种重要的免疫细胞, 在炎症和免疫反应中具有非常重要的作用. 实验表明, 人或鼠 IL-13 具有明显促进人外周血单核细胞体外生长, 延长其体外存活时间, 促使细胞集聚成团的作用^[3]. 不仅如此, IL-13 对单核细胞表面抗原的表达也具有调控作用, 能显著增强单核细胞表面 CD11b、CD11c、CD18、CD29、CD49e、MHCII 类抗原及 CD13 和 CD23 抗原的表达, 然而对 CD64、CD32、CD16 和 CD14 的表面抗原表达则起抑制作用. IL-13 的上述调控作用尽管与 IL-4 基本相同, 并且具有剂量依赖性, 但两者并没有叠加性或协同作用, 而且抗 IL-4 单抗对 IL-13 调控 CD23、CD14 和 MHCII 类抗原的表达也无任何影响^[8], 显示 IL-13 对单核细胞的调控作用并不依赖于 IL-4. 更重要的是, IL-13 对单核细胞分泌细胞因子及单核细胞的抗体依赖的细胞介导的细胞毒性 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 也具有调控作用. 它不仅可抑制单核细胞的 ADCC 活性, 而且能抑制细菌脂多糖 (LPS) 激活的单核细胞产生 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p35、IL-12p40、巨噬细胞炎性蛋白 1 α (macrophage inflammatory

protein 1 α , MIP1 α)、GM-CSF、G-CSF、1FN- α 和 TNF- α 细胞因子^[8], 但可诱导单核细胞表达 IL-1 受体拮抗蛋白 (IL-1 receptor antagonist, IL-1 ra)^[9]. 因此 IL-13 是通过调控单核细胞的细胞因子分泌达到抵抗炎症和调节免疫反应的目的. 更使人感兴趣的是, IL-13 具有抑制人免疫缺陷病毒 I 型 (HIV-1) 在体外培养的单核细胞内复制的功能. 在病毒感染前 72 h 或感染后 18 h 用 IL-13 处理单核细胞后, 均见有明显的抑制 HIV 增殖作用, 但是 IL-13 不能将 HIV-1 DNA 从感染的细胞中去除^[10], 说明 IL-13 仅具有抑制其复制的作用. 有关 IL-13 抑制 HIV-1 复制的机理以及 IL-13 是否在体内仍具有相同的作用还有待进一步探讨.

4.2 IL-13 对 B 细胞的作用

B 细胞是抗体分泌细胞的前体细胞, 在其增殖、分化和成熟过程的不同阶段同样受各种细胞因子的调控. 近来发现, IL-13 就是其中一个重要的调控因子. 其一, IL-13 能刺激经抗 IgM 或抗 CD40 单抗激活的 B 细胞增殖, 在相同条件下, sIgD⁺B 细胞较 sIgD⁻B 细胞具有更高的反应性^[3,11]. 其二, IL-13 具有明显诱导部分 B 细胞表达 CD23 抗原的作用, 对 MHCII 类抗原、sIgM 和 CD72 表达也有促进作用^[12]. 其三, 在激活的 CD4⁺T 细胞克隆细胞膜存在下, IL-13 可诱导高度纯化的 B 细胞产生 IgG4 和 IgE 以及少量的 IgM 和 IgG, 若将纯化的 sIgD⁺B 细胞与激活的不分泌 IL-4 的 T 细胞克隆 SP-A3 一起培养, IL-13 同样能诱导 IgE 合成并促进 IgG4 的分泌, 上述作用并不被抗 IL-4 单抗所抑制^[12], 再一次证明 IL-13 不依赖于 IL-4 而直接作用于靶细胞. 最近 Punnonen 等^[13]报道, IL-13 对人胎儿骨髓中未成熟的 B 细胞增殖、Ig 同种异型转换以及 Ig 合成均有显著的诱导作用, 表明 IL-13 是一种重要的 B 细胞增殖和分化因子.

4.3 IL-13 对造血祖细胞的作用

造血干细胞和造血祖细胞是生成血细胞的前体细胞, 它们的增殖和分化受众多细胞因子的调控. 贺福初^[14]根据所发现的“发育相关进

化规律”推测, IL-13 应具有调控造血干、祖细胞的作用. IL-13 不仅对人髓系祖细胞系 TF-1 细胞具有刺激增殖作用^[3], 而且对正常小鼠造血祖细胞的体外增殖和分化具有调控作用^[15], 与上述推测完全一致. 尽管重组人 IL-13 单独不能刺激小鼠单个 lin⁻Sca-1⁺ 细胞在体外增殖, 但它与 G-CSF、GM-CSF 在促进 lin⁻Sca-1⁺ 细胞形成集落中均有协同性, 尤其是它能显著提高干细胞因子 (stem cell factor, SCF) 诱导细胞的集落形成率, 但这种协同性对 lin⁻Sca-1⁻ 细胞无任何影响. 值得注意的是, IL-13 可阻断 SCF 和 G-CSF 共同诱导 lin⁻Sca-1⁺ 细胞向粒细胞分化, 而使其分化成巨噬细胞, 但对 lin⁻Sca-1⁻ 细胞的分化途径无任何影响^[15]. 以上结果表明, IL-13 是一个多功能的细胞因子, 与其他造血刺激因子一样直接参与了造血祖细胞增殖和分化的调控, 然而它在体内的调控机理以及是否对造血干细胞 (CFU-S) 具有调控作用还有待于进一步研究.

4.4 IL-13 对其他类型细胞的作用

IL-13 不仅对上述多种靶细胞产生广泛的生物学作用, 而且还具有调控内皮细胞^[16], 多形核细胞^[9,17]和大颗粒淋巴细胞^[2]基因表达的作用.

5 IL-13 受体

尽管 IL-13 受体还未被发现, 但根据其结构和功能特点与 IL-4 有许多相似之处, 推测 IL-13 受体和 IL-4 受体可能具有相同的亚单位. 虽然 IL-13 和 IL-4 仅有 30% 的氨基酸同源, 但两者具有结构同源性^[2,18]. 不仅如此, IL-13 和 IL-4 在体外调控单核细胞和 B 细胞的增殖和分化中具有许多相同的生物学活性, 并且两者没有叠加性或协同性^[8,12]. 尤为重要, 人 IL-4 突变蛋白 (hIL-4 · Y124D) 以相同的方式阻断 IL-4 和 IL-13 诱导 B 细胞的体外增殖及 IgG4 与 IgE 合成^[19]. 以上资料表明, IL-13 和 IL-4 受体可能具有相似性. 然而 Zurawski 等^[18]的研究表明, IL-13 不能结合 IL-4 受体的配基结合蛋白, 也不与表达 IL-4 受体的活化 T

细胞反应, 但可竞争性抑制 IL-4 与 IL-4 受体结合. 综上所述, 人 IL-13 受体与 IL-4 受体很可能具有相同的与信号转导有关的亚基, 而具有不同的配基结合亚基, 上述推测与事实是否相符需要进一步证实.

综上所述, IL-13 是由激活的 T 细胞分泌的一种新型细胞因子. 它不仅对单核细胞的体外生长、表面抗原表达以及许多细胞因子的产生具有明显的调控作用, 而且对不同分化阶段的 B 细胞的增殖分化以及 Ig 合成同样具有调节作用. 更引人注目的是, 在造血祖细胞的增殖分化调控中, IL-13 与其他造血生长因子也有协同作用. 由此可见 IL-13 是一种多功能的细胞因子. 然而要想对一个新型细胞因子进行真正全面的认识, 仅依靠体外实验是远远不够的, 因此还需进一步研究 IL-13 的体内作用机理及其生物学功能.

参 考 文 献

- 1 Brown K D, Zurawski S M, Mosmann T R *et al.* J Immunol, 1989; **142**: 679
- 2 Minty A, Chalon P, Derocq J M *et al.* Nature, 1993; **362**: 248
- 3 McKenzie A N J, Culpepper J A, de Waal Malefyt R *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; **90**: 3735
- 4 McKenzie A N J, Li X, Largaespada D A *et al.* J Immunol, 1993; **150**: 5436
- 5 Lee J S, Campbell H D, Kozak C A *et al.* Somat Cell Mol Genet, 1989; **15**: 143
- 6 Le Beau M M, Lemons R S, Espinosa R *et al.* Blood, 1989; **73**: 647
- 7 Cherwinski H M, Schumacher J H, Brown K D *et al.* J Exp Med, 1987; **166**: 1229
- 8 de Waal Malefyt R, Figdor C G, Huijbens R *et al.* J Immunol, 1993; **151**: 6370
- 9 Muzio M, Re F, Sironi M *et al.* Blood, 1994; **83**: 1738
- 10 Montaner L J, Doyle A G, Collin M *et al.* J Exp Med, 1993; **178**: 743
- 11 Defrance T, Carayon P, Billian G *et al.* J Exp Med, 1994; **179**: 135
- 12 Punnonen J, Aversa G, Cocks B G *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; **90**: 3730
- 13 Punnonen J, de Vries J E. J Immunol, 1994; **152**: 1094
- 14 贺福初. 见: 中国科协学会工作部编. 全国首届新学说新观点学术讨论会论文集./北京: 中国科学技术出版社, 1993; 46~54
- 15 Jacobsen S E W, Okkenhaug C, Veiby O P *et al.* J Exp Med, 1994; **180**: 75
- 16 Herbert J M, Savi P, Laplace M O D *et al.* FEBS Lett, 1993; **328**: 268
- 17 Colotta F, Re F, Muzio M *et al.* J Biol Chem, 1994; **269**: 12403
- 18 Zurawski S M, Vega Jr F, Huyghe B *et al.* EMBO J, 1993; **12**: 2663
- 19 Aversa G, Punnonen J, Cocks B G *et al.* J Exp Med, 1993; **178**: 2213

Progress on the Study of Interleukin 13. Liu Cunren, He Fuchu, Wu Zuze (Wu Chutse) (*Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China*).

Abstract Interleukin 13 (IL-13) is a recently described novel cytokine produced by activated helper T cells. IL-13 protein is secreted mainly in unglycosylated form with molecular mass of about 10 ku. The mature ILs-13 of human and mouse consist of 112 and 111 amino acid residues respectively. IL-13 not only regulates the growth, surface antigen expression, and cytokine production of monocytes, but also regulates its proliferation, Ig isotype switching, and Ig synthesis of B cells. Furthermore, IL-13 synergizes with other hematopoietic growth factors in regulating proliferation and differentiation of primitive hematopoietic progenitor cells.

Key words interleukin 13, cytokine, regulation