

白细胞介素 13

孙 健

(上海第二医科大学附属新华医院, 上海市儿科医学研究所 200092)

1993年召开的Keystone细胞因子专题会议命名了一种新的细胞因子——白细胞介素13(IL-13), 由Th2细胞产生, 其生物学功能与IL-4广泛相似。本文简介有关IL-13的分子及细胞生物学内容。

一、P 600 与 IL-13

80年代末美国加州DNAX分子与细胞生物学研究所Brown等^[1]由ConA激活的鼠Th2克隆Cl·Ly-1⁺2⁻/9的cDNA文库中分离出一种cDNA克隆——P 600, 发现多种鼠Th2细胞株均富含P 600 mRNA, 估计其大小约1300碱基, 编码分子量约14 kDa, 具有很长疏水N末端的蛋白。因在疏水N末端区之前无碱性氨基酸残基, 推测P 600蛋白不能分泌, 可能锚定于Th细胞表面。在NBRF-PIR数据库中并没有发现有意义的P600蛋白同源顺序。1993年, DNAX研究所Mckenzie等^[2]分离了与鼠P 600核苷酸顺序有同源性的cDNA。他们构建了许多T细胞克隆的cDNA文库, 与鼠P 600 cDNA探针杂交。在ConA激活的CD8⁺细胞克隆A10建立的cDNA文库中分离到一个全长cDNA克隆, 它含有一个可读框(ORF), 编码132个氨基酸多肽。同年的Keystone细胞因子专题会议将其命名为IL-13。同期, 法国Minty等^[3]从anti-CD 28 mAb激活的外周血单个核细胞建立的cDNA文库中亦分离了人IL-13 cDNA。

人IL-13 cDNA与小鼠cDNA有66%核苷酸顺序同源性, 两者编码的蛋白在编码区有

58%氨基酸顺序同源性。鼠IL-13 cDNA编码131个氨基酸的蛋白, 人IL-13 cDNA编码132个氨基酸的蛋白, 相对分子量约1000^[2,3]。人IL-13 cDNA有不同的形式。少数人IL-13 cDNA编码61位上由Asp替代Gly的蛋白, 而多数编码的蛋白在98位上含有一个Gln残基, 但不影响其生物活性。人IL-13蛋白的疏水前导顺序中第21位上Gly被处理为N-末端残基。IL-13蛋白具有5个保守性胱氨酸残基。除3个保守性位点外, 人IL-13含有一额外的潜在N连接糖基化位点^[4]。

二、IL-13 与 IL-4

1. IL-13 基因与 IL-4 基因

人IL-13 DNA约4.6 kb, 鼠IL-13 DNA约4.3 kb, 两者均含4个外显子和3个内含子, 具高度同源性。人IL-13基因的外显子4在其5'端有不同的3'剪接/接受位点, 这是人IL-13 mRNA中是否存在Gln 98残基的原因^[4,5]。McKenzie等^[6]将人IL-13基因定位于第5号染色体q31, 鼠IL-13基因位于与人5号染色体相关联的鼠11号染色体。IL-13与IL-4, IL-5及GM-CSF位于同一染色体区, 组成一基因簇。IL-13位于这一基因簇的上游, 距IL-4基因仅50 kb左右。

IL-13与IL-4在蛋白顺序上有30%的同源性。IL-13保留了IL-4疏水结构核心中的25个残基。IL-4与IL-13间广泛的插入/缺失差异被限制于连结4个 α 螺旋或2个短 β 链的

应大明、于善谦(复旦大学病毒学研究室)审阅。

环状结构,唯一例外的是一短 α 螺旋cys。IL-13保留了所有构成结构核心的 α 螺旋cys。圆二色光谱分析显示IL-13与IL-4一样有一高 α 螺旋结构^[4]。

2. IL-13受体与IL-4受体

Zurawski等^[6]制备的变异IL-4蛋白hIL-4·Y124D可竞争性拮抗人IL-4与TF-1细胞上的IL-4受体(IL-4R)的结合。TF-1是人前髓系红白血病细胞株,可对多种生长因子包括IL-4和IL-13起反应。有趣的是,hIL-4·Y124D亦可强烈地以剂量依赖方式抑制IL-13对TF-1的作用。他们还观察到hIL-13亦可部分(约63%)竞争性替代¹²⁵I-hIL4与TF-1的结合。由此证实,IL-13R与IL-4R具有共性。但同时有实验表明PHA激活的人外周血单个核细胞和人T细胞克隆株SP-B21仅对人IL-4起反应,而对IL-13不反应。人IL-13不能竞争¹²⁵I-hIL4与SP-B21的结合,也不能竞争¹²⁵I-hIL4与表达人IL-4受体配体结合蛋白的COS-7细胞结合。这些证据说明IL-4R与IL-13R是不同的。目前对IL-13与IL-4受体中共同受体成分分子特性还不清楚。

3. IL-13与IL-4的生物活性

两者在调节单核细胞及B淋巴细胞功能上具有广泛相似的作用。

三、IL-13的生物学功能

1. IL-13对人单核细胞的作用^[2,7]

鼠和人IL-13对人单核细胞形态,表面抗原表达,抗体依赖的细胞毒(ADCC)以及细胞因子产生均具有深刻的影响。

(1) 常规培养的单核细胞5天后不再贴壁,细胞形态开始变圆,而IL-13处理过的单核细胞5天后仍呈梭状,贴壁良好,并可观察到细胞凝集团块,这些细胞可存活30天以上。

(2) IL-13正调MHC II抗原、CD13和CD23的表达,负调CD64(Fc γ R I)、CD32(Fc γ R II)、CD16(Fc γ R III)和CD14抗原表达。IL-13

亦可增强一些整合素超家族成员的表达如CD11b(C3 β_1 受体,Mac-1)、CD11c、CD18(β_2)、CD29(β_1)和CD49(VLA-5)。IL-10可阻断由IL-13诱导的MHC II类抗原表达以及IL-13负调CD64、CD32、CD16的作用。IL-13调节单核细胞表面抗原表达的功能与IL-4相似,但未观察到两者具有协同作用。在实验系统中加入抗IL-4单抗并不影响IL-13的功能,提示IL-13并非通过IL-4起作用。

(3) IL-13能强烈抑制自发性和IL-10或IFN- γ 诱导的人单核细胞对抗D抗体致敏的Rh⁺红细胞的ADCC作用。这种作用的机制还不清楚。

(4) IL-13能抑制LPS刺激的人单核细胞分泌IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10、MIP-1 α 、G-CSF、GM-CSF和TNF α 。IL-4与IL-10亦具有这样的作用。IL-13、IL-4与IL-10均能提高IL-1 γ 产生。由于激活的单核细胞能产生高水平IL-10,为排除IL-13对单核细胞所产生细胞因子的抑制功能是通过内源性IL-10而起作用的,在实验中加入抗IL-10单抗,结果表明IL-13的这种功能与内源性IL-10产生无关。此外,与IL-10不同,IL-13可正调单核细胞的抗原呈递能力。IL-13亦能在转录水平抑制IFN- α 和IL-12 α (P35)及 β (P40)链的表达。在有抗IL-4单抗存在下,IL-13调节单核细胞分泌细胞因子的功能不受影响,说明IL-13是独立的,并非通过IL-4起作用。IL-13通过抑制单核细胞产生细胞因子以及正调IL-1 γ 可能在抗炎症过程中起重要作用。

最近观察到IL-13能抑制原代培养分化的巨噬细胞中人免疫缺陷病毒I(HIV-1)的病毒蛋白(P24)表达以及转录酶水平,但IL-13不抑制相同条件下外周血中HIV-1的复制^[8]。其原因还不清楚。

2. mIL-13对鼠巨噬细胞的作用^[4]

mIL-13能诱导体外培养的鼠骨髓产生大粘附细胞,其具有成熟巨噬细胞(M ϕ)表面标

记 MAC-1 和 F4/80。这种细胞与 GM-CSF 存在时骨髓所产生的 M ϕ (GMM ϕ) 一样能作为 APCs 细胞, 但吞噬能力很低。mIL-13 可延长 GMM ϕ 和 MM ϕ (M-CSF 诱导产生的鼠 M ϕ) 体外存活时间, 提高 MM ϕ 的 MHC I、II 类抗原表达。IL-13 亦可减少这两种 M ϕ Fc γ R 表达, 轻度增加 CD 11_b 表达。

LPS 激活的 GMM ϕ 或 MM ϕ 与 IL-13 或 IL-4 一起温育后, IL-1、IL-6、TNF- α 和 IL-12 α 及 β 的 mRNA 表达受到抑制。

IL-13 与 IL-4、IL-10 一样能抑制激活的巨噬细胞产生一氧化氮(NO), 后者对杀伤胞内寄生虫具有关键作用。IL-13 虽降低 GMM ϕ 的细胞毒作用但不影响其吞噬及抗原呈递功能。

3. IL-13 对人 B 细胞的作用

IL-13 对人 B 细胞表型及功能均有重要的调节功能。

(1) IL-13 对人 B 细胞表面抗原表达的调节 Punnonen 等^[9]观察到 IL-13 可强烈诱导 B 细胞表达 CD 23 抗原, 这种作用在培养 72 小时达最大。此外, IL-13 可正调 MHC II 抗原, sIgM 和 CD 72 表达。IL-13 是通过诱导部份而非所有 B 细胞增强 CD 23、CD 72 表达。IL-13 调节 B 细胞表型的作用与 IL-4 相似, 但不如后者强烈。

(2) IL-13 对人 B 细胞增殖的影响 IL-13 可增强 anti- μ 激活的人扁桃体 B 细胞以及 anti-CD 40 mAb 激活的人胚胎 S μ^+ , CD 10⁺, CD 19⁺ 骨髓 B 细胞的增殖能力, 但程度不如 IL-4。在有表达人或鼠 CD 40 配体(CD 40L)的 COS-7 细胞存在时 IL-13 促进脾 B 细胞增殖功能与 IL-4 相似^[2,10,11]。

(3) IL-13 对人成熟及未成熟 B 细胞分化的影响 Mckenzie 等^[2]发现在 CD 4⁺T 细胞克隆 B 21 存在下, IL-13 能诱导扁桃体 B 细胞分泌 IgM 和 IgG, 但无 IgA 产生。不仅如此, IL-13 还能诱导纯化的 sIgD⁺B 细胞产生 Ig, 提示 IL-13 具有诱导 B 细胞发生同种型转换

(class switching)的作用。Cocks 等^[10]也观察到 IL-13 在有表达人或鼠 CD 40L 的 COS-7 细胞存在时可诱导 sIgD⁺ 人脾 B 细胞产生 IgM, IgG, IgG₁ 和 IgE。Punnonen 等进一步研究了 IL-13 诱导 B 细胞进行同种型转换的功能, 发现在 anti-CD 40 mAb 存在下 IL-13 可诱导胚系 ϵ 转录物(Germline ϵ transcripts), 证实 IL-13 是除 IL-4 外又一种能诱导胚系 ϵ 转录物的细胞因子。由于 T 细胞激活后 IL-13 较 IL-4 产生早并且持续时间长, 提示 IL-13 在调节特异质个体 IgE 合成中可能起重要作用。

IL-13 诱导 B 细胞分化和同种型转换的作用通常较 IL-4 弱, 两者无协同作用。以中和抗体阻断 IL-4 并不影响 IL-13 的功能。与 IL-4 不同, IL-13 对鼠 B 细胞不起反应, 这可能是因为鼠 B 细胞缺乏功能性 IL-13 受体。

为了解 IL-13 对 B 细胞发育的影响, Punnonen 等^[11]观察了 IL-13 对未成熟 B 细胞的影响。他们发现 IL-13 不能诱导人胚胎骨髓细胞产生 Ig, 加入能增强 T 细胞激活的 IL-7 后, IL-13 可诱导有意义水平的 Ig 产生。在 anti-CD 40 mAb 存在时, IL-13 不仅诱导人胚胎骨髓细胞还可诱导高度纯化的 S μ^+ , CD 10⁺, CD 19⁺ 胚胎骨髓 B 细胞增殖和分泌 IgM、IgG、IgG₁ 和 IgE。其中 IgE 的产生可被 IFN- α , IFN- γ , TGF β 和 IL-12 抑制, 而 IL-6 具有增强作用。另外, 在 CD 4⁺T 细胞克隆和 IL-7 存在下 IL-13 可诱导纯化的 S μ^- , CD 19⁺ 前 B 细胞分泌低水平 Ig。这些结果说明 IL-13 具有诱导未成熟 B 细胞增殖、同种型转换及 Ig 产生的作用。

摘 要

白细胞介素 13 是最近新命名的细胞因子。由 Th 2 细胞产生。白细胞介素 13 基因与 IL-4 基因紧密连锁, 两者在蛋白结构上有较大同源性, 并共用一相同受体亚单位。白细胞介素 13 与 IL-4 有广泛相似的生物学功能。白细胞介素 13 在抗炎过程以及 IgE 介导的变应性疾病

病中可能起重要作用。

参 考 文 献

- [1] Brown KD. et al., 1989, *J Immunol.*, 142: 679—687.
- [2] Mackenzie ANJ. et al., 1993, *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 3735—3739.
- [3] Minty A. et al., 1993, *Nature*, 362: 248—250.
- [4] Zurawski G. et al., 1994, *Immunology Today*, 15: 19—26.
- [5] Mackenzie ANJ. et al., 1993, *J Immunol.*, 150: 5436—5444.
- [6] Zurawski SM. et al., 1993, *EMBO J.*, 12: 2663—2670.
- [7] Malefyt RdW. et al., 1993, *J Immunol.*, 151: 6370—6381.
- [8] Montaner LJ. et al., 1993, *J Exp Med.*, 178: 743—747.
- [9] Punnonen J. et al., 1993, *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 3730—3734.
- [10] Cocks BG. et al., 1993, *Int Immunol.*, 5: 657—663.
- [11] Punnonen J. et al., 1994, *J Immunol.*, 152: 1094—1102.

同源异型框基因与动物早期发育

毛炳宇 张红卫

(山东大学生物系 济南 250100)

一、同源异型框与同源异型框基因

在生物个体发育过程中,存在一类突变,表现为身体的某一部分结构转变为相似或相关的另一部分结构,这种现象称为同源异型现象(homeosis),产生这种情况的突变称作同源异型突变(homeotic mutation)。同源异型突变在许多动物、植物中都存在。果蝇由于其在遗传学研究中的许多有利因素而成为研究同源异型现象的最典型的材料。果蝇的多种基因突变均可造成同源异型现象。例如: Antp 基因的突变可使果蝇原来形成触角的部位产生一对多余的前肢。这说明 Antp 基因的突变改变了果蝇胚胎中原来预定发育成为触角的细胞群的发育途径。这些可导致同源异型突变的基因称为同源异型基因(homeotic gene)。果蝇的同源异型基因构成两个相邻的基因簇,即触角足基因群(Antp-C)和双胸基因群(Bx-C),两者统称为同源异型基因复合体(Homeotic Complex,

HOM-C)。1984年,瑞士巴塞尔大学的 W. J. Gehring 和美国科罗拉多大学的 M. P. Scott 的实验室几乎同时发现,果蝇的同源异型基因 Antp 和 Ubx 都含有一个 180 个碱基对的十分相似的基因片段。此后,又发现许多同源异型基因和其他发育调节基因都含有这一片段。由于它最初发现于同源异型基因中,故被称为同源异型框(homeobox)。含有同源异型框的基因被统称为同源异型框基因(homeobox gene)^[1]。同源异型框基因除包括同源异型基因外,还包括一些不产生同源异型现象的基因。在果蝇中,同源异型框基因除了包括 HOM-C 基因,还包括部分母性基因(maternal gene,如 bicoid)、分节基因(segmentation gene,如ftz)以及其他一些发育调节基因(如 Dll)^[2]。

目前已发现同源异型框广泛存在于真核生物调节基因中。许多动物(脊椎动物、无脊椎动物、头索动物)、植物甚至真菌中都已发现了同源异型框基因^[3-6]。同源异型框在进化上是十分保守的,如非洲爪蟾的 XlHbox 2 和小鼠