

钟波, 武汉大学教授。2010年6月于武汉大学生命科学学院获得博士学位, 2010年7月至2013年3月在美国MD安德森癌症中心进行博士后研究, 2013年3月至今在武汉大学生命科学学院/医学研究院任教授、博士生导师。主要从事感染免疫、炎症疾病与肿瘤发生的基础研究, 以(共)通讯作者身份在*Nat Cancer*、*Cell Res*、*Cell Host Microbe*等期刊上发表论文20余篇。先后获得国家自然科学奖二等奖(第二完成人, 2015)、中国细胞生物学学会CST青年研究员奖、美国免疫学家学会“Laboratory Travel Award”、顾孝诚讲座奖等奖项和荣誉。现任中国细胞生物学学会青年委员会委员、中国免疫学会青年工作委员会委员、中国细胞生物学学会免疫细胞分会委员。

IL-36细胞因子在炎症疾病与肿瘤中的作用机制

杨薇^{1,2} 钟波^{1,2,3*}

(¹武汉大学中南医院医学研究院, 免疫代谢前沿科学中心, 武汉 430071; ²武汉大学中南医院胃肠外科, 武汉 430071; ³武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘要 白细胞介素36(IL-36)家族属于IL-1超家族, 现已鉴定出4个IL-36家族成员: 三种激动剂(IL-36 $\alpha/\beta/\gamma$)和一种拮抗剂(IL-36Ra)。IL-36的N-端经蛋白酶水解切除后具备活性, 具备活性的IL-36通过结合IL-36R进一步招募IL-1RAcP形成三元复合物, 进而激活下游促炎信号通路。IL-36Ra可以与IL-36激动剂竞争性结合IL-36R从而抑制信号传导。IL-36的失调会导致泛发性脓疱型银屑病、感染性疾病、关节炎以及炎症性肠病等。最近的研究结果表明, IL-36在非小细胞肺癌与结肠癌等肿瘤发生发展过程中具有关键作用, IL-36 γ 特异性中和抗体在小鼠模型中能有效抑制非小细胞肺癌和结肠癌进展。该文首先介绍了IL-36细胞因子家族及其介导的信号通路, 然后总结了IL-36信号通路在驱动各类炎症性疾病以及改变肿瘤微环境中的关键调节作用, 最后展望了靶向IL-36及其信号通路在调控炎症性疾病与肿瘤发生过程中的潜在应用。

关键词 IL-36细胞因子; 炎症疾病; 非小细胞肺癌; 结肠癌; 肿瘤微环境

The Roles of IL-36 Cytokines in Inflammatory Diseases and Cancers

YANG Wei^{1,2}, ZHONG Bo^{1,2,3*}

(¹Frontier Science Center for Immunology and Metabolism, Medical Research Institute, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China; ²Department of Gastrointestinal Surgery, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China; ³College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract The IL-36 family belongs to the IL-1 superfamily and has four members, including three agonists (IL-36 $\alpha/\beta/\gamma$) and one antagonist (IL-36Ra). IL-36 becomes active after the cleavage of N-terminal sequences by proteases. Activated IL-36 binds to IL-36R and recruits IL-1RAcP to form a ternary complex, thereby activating

收稿日期: 2022-01-26 接受日期: 2022-03-07

国家自然科学基金(批准号: 31930040)资助的课题

*通讯作者。Tel: 027-68752202, E-mail: zhongbo@whu.edu.cn

Received: January 26, 2022 Accepted: March 7, 2022

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (Grant No.31930040)

*Corresponding author. Tel: +86-27-68752202, E-mail: zhongbo@whu.edu.cn

the downstream pro-inflammatory signaling pathway. IL-36Ra competitively binds to IL-36R with increased affinity over IL-36 agonists to prevent the recruitment of IL-1RAcP, thereby blocking the pro-inflammatory signaling. Dysregulation of IL-36 results in generalized pustular psoriasis, arthritis, infectious diseases and inflammatory bowel disease. Recent advances also reveal critical roles of IL-36 in NSCLC (non-small cell lung cancer) and colon cancer. In addition, neutralizing antibodies against IL-36 γ have been implicated in attenuation of tumorigenesis and colon fibrosis in mouse models. This review first introduces the basic characteristics and signaling pathways of IL-36 cytokines, and then summarizes the roles of IL-36 cytokines in inflammatory diseases and tumorigenesis by modulating the immune microenvironment. Finally, this review looks forward to the potential application of targeting IL-36 and IL-36R signaling pathway in regulating inflammatory diseases and tumorigenesis.

Keywords IL-36 cytokines; inflammatory diseases; non-small cell lung cancer; colon cancer; tumor microenvironment

细胞因子是由多种细胞产生的低分子量可溶性蛋白质,具有调节固有免疫和适应性免疫、血细胞生成、细胞生长以及损伤组织修复等多种功能。细胞因子可分为白细胞介素、干扰素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子、趋化因子、生长因子等。自1957年LSSAC发现干扰素以来^[1],迄今已经发现了两百多种细胞因子。众多细胞因子在体内通过旁分泌、自分泌或内分泌等方式与其特异性的受体结合,引发靶细胞内的信号级联反应,介导生理病理过程,例如调节细胞发育、参与细胞的命运决定、启动细胞的死亡程序、促进血管生成等。

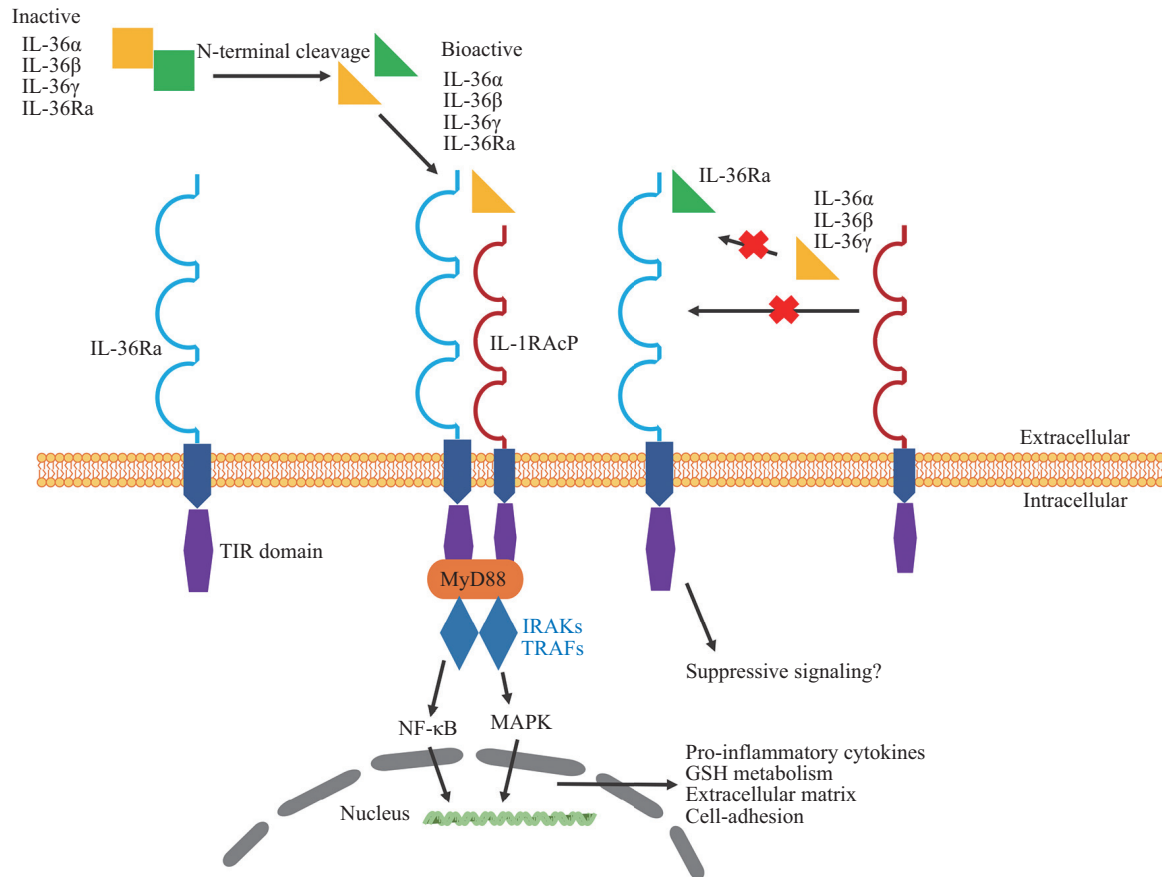
白细胞介素-36(IL-36)作为白细胞介素-1(IL-1)超家族成员于2000年左右在DNA数据库中被发现^[2-6],基于IL-36与IL-1在序列和预测结构上的相似性,SMITH等^[3]推测IL-36细胞因子具有与IL-1细胞因子相似的功能。目前已经发现IL-36家族由4个成员[三种激动剂IL-36 α (*Il1f6*)、IL-36 β (*Il1f8*)、IL-36 γ (*Il1f9*)以及一种受体拮抗剂IL-36Ra(*Il1f5*)]组成。编码IL-36细胞因子的基因定位于人类染色体2q14.1区,IL-1超家族的其他细胞因子,除了IL-18和IL-33分别定位于人类染色体11q23.1-23.2和9p23-24区以外,均与IL-36聚集在同一个位点上^[7-8]。因此,IL-36细胞因子和IL-1超家族中其他细胞因子的编码基因可能从一个共同的先祖基因进化而来^[9]。

与IL-1细胞因子类似,IL-36的表达受到转录水平和分泌水平2个层次的调控。在未受刺激情况下,IL-36通常表达水平较低。在病原相关分子模式(PAMPs)和炎性信号刺激下,编码IL-36相关因子的mRNA水平迅速上升,该过程依赖于转录因子NF- κ B与AP-1。IL-36细胞因子的分泌机制还尚不清

楚。IL-36家族缺少信号肽,表明它们不太可能通过经典的内质网和高尔基体依赖的膜泡运输机制分泌到细胞外。有报道证明,经脂多糖(LPS)和三磷酸腺苷(ATP)处理的骨髓衍生巨噬细胞(BMDM)会释放IL-36 α ,这表明外源刺激会诱导IL-36 α 的分泌^[10]。在细菌刺激下,IL-36 γ 被诱导并从肺巨噬细胞中分泌出来,且可被检测到在微粒和外泌体中表达,这进一步说明了其非高尔基体依赖的分泌机制^[11]。

IL-36细胞因子与其受体IL-36R结合能力较弱,但其N-端被加工后与受体结合的能力提高1 000倍。因此,IL-36细胞因子的N-端加工显著增强了细胞因子激活下游信号转导、诱导促炎反应的能力。N-端加工位点位于保守的A-X-D(A是脂肪族氨基酸,X是任意氨基酸,D是天冬氨酸)基序N-端的9个氨基酸上^[12]。有研究表明,中性粒细胞衍生的蛋白酶(如组织蛋白酶G和弹性蛋白酶)可切割并激活IL-36细胞因子^[13-18],其中IL-36 α 在Lys3处被组织蛋白酶G切割,或在A1a4处被弹性蛋白酶切割;IL-36 β 在Arg5处被组织蛋白酶G激活;IL-36 γ 主要在Val15处被弹性蛋白酶切割^[13];重组中性粒细胞的弹性蛋白酶是一种在多形核细胞中表达的丝氨酸蛋白酶,它通过切割N-端蛋氨酸来激活IL-36Ra^[14]。中性粒细胞中的蛋白酶已被证明对细胞因子的加工效力比对细菌的杀伤效力高约100倍,表明中性粒细胞调节细胞因子活性是它们在炎症期间的关键任务之一。由此我们推测,在炎症发生过程中,中性粒细胞浸润至炎症反应组织,通过分泌蛋白酶促进IL-36的切割与活化,从而进一步放大炎症反应。

IL-36R是由575个氨基酸残基组成的多结构域单程跨膜蛋白,未成熟的IL-36R的N-端1~19个氨基



无生物活性的IL-36细胞因子在蛋白酶的作用下切割掉N-端的氨基酸残基后成为有活性的细胞因子,结合至IL-36R后招募IL-1AcP从而招募MyD88激活NF-κB与MAPK信号通路,诱导一系列下游基因的表达。IL-36Ra与IL-36R的亲合性更高,IL-36Ra通过阻断激动型IL-36细胞因子与IL-36R的结合,抑制IL-1AcP的招募,并介导抑制性信号通路。

Biologically inactive IL-36 cytokines are activated after cleaving the N-terminal amino acid residues by proteases. The binding of active IL-36 cytokines to IL-36R recruits IL-1AcP and MyD88 to activate NF-κB and MAPK signaling pathways, thereby inducing the expression of a series of downstream genes. IL-36Ra has a higher affinity with IL-36R, and IL-36Ra blocks the binding of IL-36α/β/γ to IL-36R, thereby inhibiting the recruitment of IL-1AcP and mediating inhibitory signaling pathways.

图1 IL-36细胞因子介导的信号转导

Fig.1 IL-36 cytokines-mediated signal transduction

酸的信号肽被切割后成为成熟的受体。IL-36R序列中有多个糖基化位点和二硫键,有助于维持受体的稳定性^[19]。辅助蛋白IL-1RAcP是一种包含580个氨基酸的多结构域跨膜蛋白,其N-端的1~20个氨基酸为信号肽。与IL-36R类似,成熟的IL-1RAcP由3个Ig样C2型细胞外结构域和1个细胞内TIR结构域组成,序列中也有多个糖基化位点和二硫键^[20]。

在IL-36信号通路中,受体的激活需要遵循2个步骤:第一,IL-36与IL-36R结合,生成的二元复合物募集IL-1RAcP组装成三元复合物^[20];第二,组装的三元复合物以依赖髓样分化因子88(MyD88)的方式激活下游NF-κB和MAPK途径,进而促进细胞因子、趋化因子、黏附分子和酶等炎症介质的表达,介导炎症反应(图1)。拮抗剂IL-36Ra结构中扩展的β11/12环与IL-

1RAcP的空间冲突^[21-22],从而阻止了IL-1RAcP的募集,即拮抗剂IL-36Ra通过与IL-36R竞争性结合抑制IL-36-IL-36R-IL-1RAcP复合体形成,进而阻断MyD88依赖性信号通路活化。体外结合实验表明,IL-36Ra与IL-36R的亲合力高于IL-36α/β/γ,当两种类型的细胞因子以相似的浓度存在时,根据质量作用定律,亲和力较高的细胞因子会占据更多的受体^[20]。

1 IL-36在炎症疾病中的作用和机制

IL-36家族成员在组织和器官中的表达水平非常低^[23]。在炎症或肿瘤发生过程中,IL-36细胞因子在皮肤、肺和肠道等多种组织中表达上调,并促进疾病进展。对结肠癌病人的单细胞转录组测序(scRNA-seq)结果表明,IL-36Ra(*Il1f5*)与IL-36γ(*Il1f9*)

主要在上皮细胞中表达, 而IL-36R在T细胞、中性粒细胞、上皮细胞以及纤维细胞中均有表达^[24]。对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)小鼠模型*Kras*^{LSL-G12D/+}*Lkb1*^{fl/fl}(KL)肿瘤组织的单细胞转录组测序的结果表明, IL-36Ra(*Il1f5*)主要表达于内皮细胞、单核巨噬和单核树突状细胞, 少量表达于中性粒细胞、肺泡巨噬细胞和肿瘤细胞, IL-36R主要表达于中性粒细胞、肿瘤细胞和内皮细胞, IL-36 γ 则主要表达于中性粒细胞, 另外两种激动剂IL-36 α (*Il1f6*)和IL-36 β (*Il1f8*)表达几乎没有被检测到^[25]。这些结果表明, IL-36细胞因子及其受体在不同组织中的细胞表达谱有所不同。根据表达IL-36R的细胞的不同, IL-36细胞因子激活的下游基因的表达也不同。如IL-36刺激上皮细胞产生抗菌肽、细胞因子和趋化因子^[26-28], 并将免疫细胞激活后募集到组织中去^[29-31], 或诱导组织中免疫细胞的分化、成熟和增殖^[29]。

1.1 炎症性肠病

既往研究表明, 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)与细胞因子网络失调密切相关^[32-34]。在克罗恩病、溃疡性结肠炎、炎症性肠病和先天性巨结肠的结肠活检组织中IL-36 α 、IL-36 γ 和IL-36R表达水平升高^[35-39], 也有研究表明在IBD患者的炎症黏膜中, *IL1F6*和*IL1F9*的mRNA表达而非*IL1F8*的表达上调^[35]。

在葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠结肠炎模型中, 小鼠结肠炎症组织中编码IL-36 α 和IL-36 γ 的mRNA水平升高, 并且它们的水平与IL-1 β 和IL-17A的水平呈正相关^[40]。目前, 关于IL-36R在DSS诱导的急性结肠炎中的作用有两种不同的结果: 有研究表明, 与野生型小鼠相比, 在IL-36R敲除小鼠肠道固有层中固有炎症细胞浸润减少, DSS诱导的急性结肠炎的严重程度减轻, 表明IL-36R在结肠炎中发挥了促炎作用^[36]。IL-36R敲除小鼠在感染柠檬酸杆菌时结肠炎症减轻, 细菌增殖增加, 同时也表现出Th17细胞增加, 表明IL-36调节啮齿类动物诱导的结肠炎中的肠道T细胞反应^[36]; 另一项研究发现, 在DSS诱导的结肠炎模型中, 与野生型小鼠相比, IL-36R敲除小鼠在饮用DSS期间表现出对炎症的抵抗^[38], 但在换成饮用正常水后, IL-36R敲除小鼠表现出较弱的恢复能力, 结肠上皮溃疡愈合较慢, 这与中性粒细胞持续积累以及IL-22表达水平下降有关联。这种恢复缺陷可以被芳香烃受体(AhR)激动剂挽救,

且依赖于IL-22^[41]。IL-36R信号在肠道损伤时被激活, 刺激IECs和成纤维细胞生成后促进黏膜愈合, IL-36R通路可以作为促进炎症性肠病黏膜愈合的潜在治疗靶标^[37]。考虑到IL-36R既结合激动型(IL-36 $\alpha/\beta/\gamma$)又结合拮抗型(IL-36Ra)细胞因子, 上述研究得出不一致的结论的原因可能是由于IL-36R缺失导致的激动性和拮抗性信号失调对疾病的走向产生了不同的影响。

我们实验室最近的研究结果表明, 在人溃疡性结肠炎以及小鼠DSS诱导的结肠炎模型中IL-36家族中的IL-36Ra(*Il1f5*)与IL-36 γ (*Il1f9*)高表达, 预示着IL-36家族中的这两种细胞因子在炎症性肠病中的重要作用。因此我们分别构建了这两种分子的敲除小鼠, 经过一系列实验后发现敲除或中和IL-36 γ 可减轻DSS诱导的结肠炎, 而敲除IL-36Ra则会加剧结肠炎^[24]。对IL-36 γ 敲除小鼠及其对照、IL-35Ra敲除小鼠及其对照的结肠炎组织进行RNA-seq分析, 结果表明细胞因子与趋化因子信号通路均受到抑制, 而细胞外基质(extra-cellular matrix, ECM)信号通路相关基因的表达水平在IL-36 γ 敲除组中降低, 在IL-36Ra敲除组中升高。对小鼠结肠类器官的研究结果表明, IL-36 γ 促进细胞外基质相关基因的表达, 而这一过程可被IL-36Ra抑制^[24]。此外, 在IL-36Ra敲除小鼠结肠组织中, 细胞周期以及PI3K-AKT等信号通路相关基因的表达显著上调, 暗示除了拮抗IL-36R信号转导外, IL-36Ra也可能在其他信号通路中发挥关键调控作用。这些研究结果表明: (1) IL-36及其信号通路在肠道炎症与感染过程中发挥调控细胞外基质和细胞-基质黏附分子、IL-22等表达的关键作用; (2) 炎症病变过程中细胞因子的表达水平升高可能更像是肠道炎症的结果而非原因; (3) IL-36Ra除了拮抗IL-36激动型细胞因子与IL-36R受体结合外, 可能还存在未知的调控结肠炎的功能。

IL-36R与肠道纤维化有关, 在炎症性肠病患者的纤维化肠组织中IL-36 α 水平更高, 并且IL-36 α 诱导成纤维细胞中调节纤维生成的基因表达。抑制或敲除小鼠IL-36R可减轻慢性结肠炎和肠纤维化, 因此阻断IL-36R信号转导的药物可用于炎症性肠病患者肠道纤维化的预防和治疗^[38]。该研究与我们实验室的研究结论相似, 即IL-36R的拮抗性和激动性信号平衡影响了肠道稳态与炎症程度。

1.2 银屑病

IL-36在皮肤中促进炎症反应的功能得到了广泛证实,它可以作用于角质形成细胞和免疫细胞以诱导与银屑病有关的强烈炎症反应从而促进宿主防御。泛发性脓疱型银屑病 (generalized pustular psoriasis, GPP)是一种严重的、危及生命的皮肤病。该病常伴有C反应蛋白和白细胞水平升高,血液和皮肤病变中的CD4⁺ T细胞过度增殖并高表达IL-17A,此病的病因和发病机制尚未被完全明确。已有的研究已经证实,遗传因素在泛发性脓疱型银屑病的发生、发展中发挥重要作用。如IL-36Ra的功能失活突变通常导致该疾病,这些突变破坏IL-36Ra的加工和调节功能,导致以异常升高的炎症细胞因子为特征的IL-36Ra缺乏综合征(DITRA)^[42-44]。此外,IL-36 α 和IL-36 γ 在银屑病病变皮肤组织中上调^[45],其表达水平与包括IL-17A在内的其他细胞因子的表达以及Th17细胞的浸润程度呈正相关^[26]。角质形成细胞中过表达IL-36 α 的转基因小鼠经佛波酯诱导后会出现炎症以及表皮增生等牛皮癣表型,在该小鼠中敲除IL-36Ra可导致严重的自发性皮肤病变,利用TNF- α 、IL-12/23、IL-23和IL-17A等细胞因子的抑制剂可以抑制由佛波酯造成的皮肤损伤^[27],这暗示IL-36/IL-36Ra平衡打破导致的泛发性脓疱型银屑病可以通过TNF、IL-1、IL-12/23和IL-17A的特异性生物学抑制得到有效治疗。咪喹莫特是一种TLR7激动剂,可诱导皮肤增厚,IL-17A的产生,以及中性粒细胞、巨噬细胞和 $\gamma\delta$ T细胞进入皮肤,产生几乎完全依赖于IL-36信号通路的皮肤炎症反应^[46]。在咪喹莫特诱导的银屑病模型中,IL-36 α 缺陷型小鼠均表现出对该病更加抵抗,而IL-36 β 和IL-36 γ 敲除小鼠的疾病发展状况与野生型小鼠相当,这表明IL-36在疾病发病机制中起重要作用^[47],在此小鼠银屑病模型中,将厄洛替尼和IL-36 α 的siRNA同时经皮给药,有相当显著的联合治疗效果^[48]。另有研究发现与对照组相比,IL-36R缺陷小鼠对咪喹莫特诱导的银屑病的抵抗能力更强,其皮肤病变组织中产生IL-17A的 $\gamma\delta$ T细胞显著减少,且银屑病样皮炎的扩张减少,这暗示着IL-36R通过调控 $\gamma\delta$ T细胞中IL-17A的产生调控皮肤炎症反应^[47,49]。进一步研究结果表明, $\gamma\delta$ T细胞缺陷或IL-17A缺陷小鼠对咪喹莫特诱导的皮肤病变表现出一定程度的抵抗,但

其皮肤病变较IL-36R敲除小鼠更加严重,表明IL-36R下游除 $\gamma\delta$ T和IL-17A外还有其他信号分子介导皮肤炎症^[47]。通过将人类银屑病皮肤组织移植到免疫缺陷小鼠上,并用单克隆抗人IL-36R中和抗体对这些小鼠进行治疗,发现其皮肤病理水平显著正常化,表明靶向IL-36R及其信号通路在治疗皮肤炎症中具有巨大潜力^[27,50]。最近在泛发性脓疱型银屑病和其他脓疱型皮肤病中检查了IL-36Ra突变、蛋白质表达、细胞因子功能和临床表型之间的关系。其中一些患者的病情与IL-36Ra的突变有关,一部分患者仅出现了IL-36Ra蛋白水平的下降,还有一部分患者的IL-36Ra蛋白水平甚至没有变化,这表明除了IL-36Ra外,还有其他未知的复杂机制调节银屑病的临床表型^[50]。

1.3 关节炎

IL-36家族成员在类风湿性关节炎(RA)、银屑病关节炎(PsA)和骨关节炎(OA)等炎症性关节疾病中均上调^[40]。此外,已经证明滑膜成纤维细胞以及多种免疫细胞会产生IL-36细胞因子,其激活MAPK和NF- κ B信号通路,从而诱导滑膜组织中促炎趋化因子的表达^[40,51-53]。在衰老小鼠的自发型骨关节炎和创伤后小鼠骨关节炎模型中,IL-36 α 和IL-36Ra在炎症组织中的表达水平分别升高和降低^[54]。关节炎是系统性红斑狼疮(SLE)的一个疾病表型,最近有研究在系统性红斑狼疮患者的血浆中,观察到高表达的IL-36 α 和IL-36 γ ,并且IL-36 α 和IL-36 γ 的表达水平与疾病严重程度呈正相关,同时在患病部位发现更多的IL-36R阳性CD19⁺ B细胞^[55],暗示IL-36可直接作用于B细胞发挥功能性作用。然而,针对IL-36R的特异性中和抗体对小鼠的关节炎模型没有显著影响^[52,56-57],其中的具体机制还需要进一步研究。

1.4 其他炎性疾病

过去几年的研究阐明了IL-36细胞因子在感染性疾病中的功能性作用。在减毒牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)卡介苗感染模型中,小鼠肺组织IL-36 γ 水平升高^[58];在受到结核杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)感染的巨噬细胞中,发现感染可以诱导IL-36信号转导,随后诱导胆固醇转化酶和肝X受体(LXR)激活^[59];在嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)感染小鼠模型的肺部炎症组织中IL-36和IL-36 γ 高表达,并且IL-36R敲除小鼠的细菌清除效率降低,死亡率升高^[60],表明IL-36细胞因子在肺部感染中具有重要调节作用。

2 IL-36在恶性肿瘤中的作用和机制

2.1 黑色素瘤

据报道,在B16F10黑色素瘤细胞中过量表达IL-36 γ 能显著激活1型免疫反应,促进肿瘤组织中CD8⁺T与NK细胞的浸润与活化,进而促进肿瘤消退^[61]。有趣的是,IL-36 α 在基底角质形成细胞中的异位表达导致皮肤炎症,敲除IL-36Ra则进一步加剧皮肤炎症表型^[45],表明皮肤中的IL-36细胞因子具有促免疫作用^[62]。对TCGA肿瘤转录组数据库的分析结果表明,与邻近的正常皮肤组织相比,IL-36 γ 在皮肤黑色素瘤中的表达水平显著降低,而其在结肠癌、直肠腺癌和非小细胞肺癌组织中的表达水平高于邻近的正常组织,暗示着IL-36 γ 在皮肤癌中发挥了异于其他肿瘤的作用。

2.2 非小细胞肺癌

肺癌是世界范围内最常见的癌症相关死亡原因,根据病理特征其被分为小细胞肺癌 (small cell lung cancer, NSCLC) 和非小细胞肺癌,后者约占肺癌发病率的85%^[63]。IL-36 γ 在人非小细胞肺癌组织中高表达^[25]。TCGA数据分析表明,相较于配对的正常组织,癌变部位IL-36 γ 的表达水平更高,且与患者的总生存期呈负相关^[25]。在*Kras*^{LSL-G12D/+}*Trp53*^{fl/fl}(KP)或者*Kras*^{LSL-G12D/+}*Lkb1*^{fl/fl}(KL)非小细胞肺癌小鼠模型中,通过滴鼻注射Adeno-Cre诱导肺癌发生,诱导后8~10周可观察到IL-36 γ 缺失和IL-36Ra缺失分别显著抑制和促进了小鼠非小细胞肺癌模型中肿瘤的进展^[25]。结合RNA-seq测序结果发现,IL-36 γ 缺失的肿瘤组织中谷胱甘肽(GSH)代谢途径被抑制并且ROS水平升高,而IL-36Ra缺失对于肿瘤组织起到了相反的作用^[25]。IL-36 γ 能直接诱导谷胱甘肽代谢相关基因的表达,促进谷胱甘肽的生成,进而阻止细胞在氧化剂(如双氧水、顺铂或葡萄糖剥夺培养基)处理下发生的死亡,而这一过程被IL-36Ra抑制。在人的肺癌组织标本中,IL-36 γ 的蛋白水平与ROS的含量呈负相关,而与谷胱甘肽代谢中的GCLM表达水平呈正相关。这些结果表明,细胞因子IL-36 γ 及IL-36Ra协同调节肿瘤细胞中谷胱甘肽代谢重编程进而引起肿瘤组织的氧化还原失衡与细胞死亡,从而调控非小细胞肺癌的发生发展^[25](图2)。IL-36 γ 的中和抗体以及抑制IL-36 γ 剪切成熟的小分子短肽丙氨酸-脯氨酸-异亮氨酸(A-P-I)均能抑制小鼠非小细胞肺癌的发生发展,并且延长小鼠的生存期^[25]。最近的一

项研究结果表明,CD8⁺T细胞产生的IFN γ 可抑制肿瘤细胞中SLC3A2与SLC7A11的表达,提高肿瘤细胞氧化应激水平,诱导肿瘤细胞发生铁死亡^[64]。因此,靶向IL-36 γ 与免疫检查点抑制剂PD-1抗体联合使用,可进一步提高肿瘤组织中的氧化应激水平,抑制肿瘤进展。

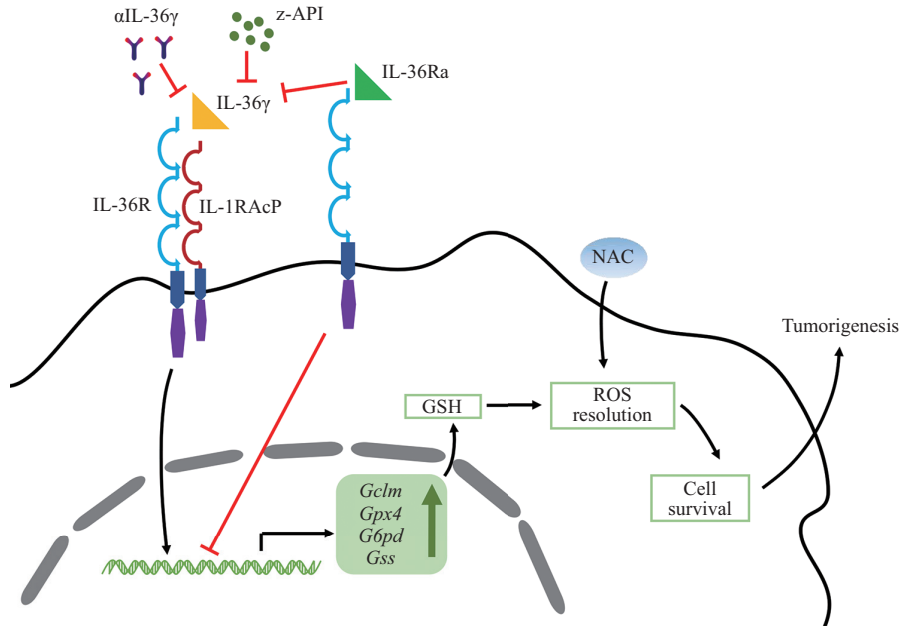
2.3 结肠癌

与正常癌旁组织相比,人结肠癌组织中细胞因子与趋化因子表达水平发生了显著变化^[32-34]。微环境中支持非特异性、慢性和促瘤性炎症的细胞因子是决定结肠癌进展的关键因素。然而,由于细胞因子网络具有重叠的功能以及难以预测的相互作用,靶向细胞因子治疗疾病的策略取得的疗效有限,因此还需深入研究如何将细胞因子作为靶标对疾病进行有效干预。

我们对人结肠癌与其癌旁样本进行分析发现,IL-36 γ 在肿瘤组织中高表达。在AOM/DSS、AOM/Vil-Cre;*Trp53*^{fl/fl}(VP)和*Apc*^{Min/+}三种结肠癌模型中,观察到IL-36 γ 缺失和IL-36Ra缺失分别显著抑制和促进了小鼠结肠癌模型中肿瘤的进展^[24]。细胞外基质是一种复杂且高度动态的结构,在胃肠道内环境稳定和疾病病理生理过程中发挥关键作用^[24],炎症或促肿瘤条件下细胞信号的改变可以改变细胞外基质和细胞-基质黏附分子的组成和结构。结合转录组测序结果发现,IL-36 γ 缺失的肿瘤组织中细胞外基质和细胞-基质黏附分子信号通路与Wnt信号通路受到抑制,而IL-36Ra缺失的肿瘤组织中这2个信号通路活性显著增强(图3)。在肠道类器官中IL-36 γ 并不能直接诱导Wnt相关基因的表达,而是促进Wnt对其通路下游基因的上调,该过程被蛋白合成抑制剂所阻断,表明IL-36 γ 促进Wnt信号通路传导依赖于细胞内的蛋白合成。IL-36 γ 的特异性中和抗体以及抑制IL-36 γ 剪切成熟的小分子短肽A-P-I均能有抑制小鼠肠道炎症和肠道肿瘤的发生发展,并且延长小鼠的生存期^[24],暗示靶向调控IL-36 γ /IL-36Ra的信号平衡可作为治疗肠道炎症与肿瘤的潜在方案。

3 总结与展望

IL-36信号通路可促进皮肤炎症与肠道炎症进展,已有2个针对IL-36R的单克隆抗体(Imsidolimab、Spesolimab)被FDA批准用于治疗泛发性脓疱型银屑病,我国的国产IL-36R抗体(HB0034)正在被开展治

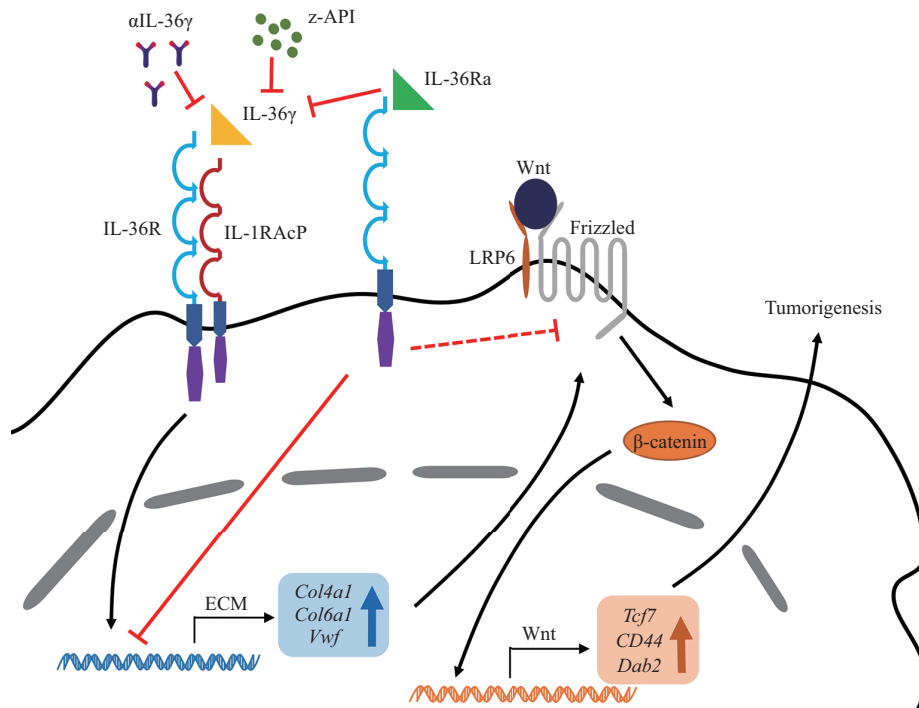


在非小细胞肺癌发生过程中, IL-36 γ 主要在中性粒细胞中表达。IL-36 γ 促进谷胱甘肽代谢相关基因的表达, 进而下调细胞氧化应激, 促进细胞生存, 从而促进非小细胞肺癌的发生与进展。黑色箭头表示促进信号, 红色T形表示抑制信号。

In the process of non-small cell lung cancer, IL-36 γ is mainly expressed in neutral granulocytes. IL-36 γ promotes the expression of glutathione metabolism-related genes, which in turn downregulates cellular oxidative stress and promotes cell survival, thereby promoting the occurrence and progression of non-small cell lung cancer. The black arrows represent promoting signaling, and the red T shapes represent inhibitory signaling.

图2 IL-36 γ 与IL-36Ra调控非小细胞肺癌进展的功能与机制

Fig.2 Function and mechanism of IL-36 γ and IL-36Ra in regulating the progression of non-small cell lung cancer



在肠道炎症病变与结肠癌发生过程中, IL-36 γ 主要在上皮细胞中表达。IL-36 γ 诱导细胞外基质及细胞间连接相关基因的表达, 进而促进Wnt信号通路转导, 从而促进结肠癌的发生与进展。黑色箭头表示促进信号, 红色T形表示抑制信号, 红色虚线表示有待进一步证实的抑制信号。

In the process of intestinal inflammatory lesions and colon cancer, IL-36 γ is mainly expressed in epithelial cells. IL-36 γ induces expression of extracellular matrix and intercellular junction-related genes, which in turn promotes the Wnt signaling pathway, thereby facilitating the progression of colon cancer. The black arrows represent promoting signaling, and the red T shapes represent inhibitory signaling. The red dash lines represent the inhibitory signaling to be confirmed.

图3 IL-36 γ 与IL-36Ra结肠癌发生发展中的功能与分子机制

Fig.3 Role and mechanism of IL-36 γ and IL-36Ra in colon cancer

疗泛发性脓疱型银屑病的临床试验。目前围绕IL-36R抗体对化脓性汗腺炎(hidradenitis suppurativa)、痤疮状疹(acneiform rash)、鱼鳞癣(ichthyosis)、痤疮(acne vulgaris)、克罗恩病、溃疡性结肠炎等疾病的治疗展开了多项临床试验(NCT04856930、NCT04697069、NCT05064345、NCT04856917、NCT04362254、NCT03482635),这些研究的结果将在不久的将来被一一揭晓。

最近的研究揭示了IL-36 γ 在肺癌与结肠癌发生发展中的重要功能,靶向抑制IL-36 γ 可重编程肿瘤细胞的代谢通路或重塑细胞外基质微环境,从而增强肿瘤细胞对免疫疗法和药物化疗的敏感性,具有良好的应用前景和转化价值。由于IL-36R上的细胞因子结合区既结合IL-36 γ 又结合IL-36Ra,IL-36R抗体阻断IL-36 γ 的结合的同时也阻断了IL-36Ra的结合,导致其无法发挥潜在的抑制性功能,因此,针对IL-36 γ 的抗体可能成为比IL-36R抗体更好的肿瘤免疫治疗新武器。靶向IL-36 γ 与IL-36Ra信号的平衡成为未来治疗恶性肿瘤的新的潜在方案。

参考文献 (References)

- [1] ISAACS A, LINDENMANN J. Virus interference. I. The interferon [J]. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 1957, 147(927): 258-67.
- [2] MULERO J J, PACE A M, NELKEN S T, et al. IL1HY1: a novel interleukin-1 receptor antagonist gene [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 263(3): 702-6.
- [3] SMITH D E, RENSHAW B R, KETCHEM R R, et al. Four new members expand the interleukin-1 superfamily [J]. J Biol Chem, 2000, 275(2): 1169-75.
- [4] KUMAR S, MCDONNELL P C, LEHR R, et al. Identification and initial characterization of four novel members of the interleukin-1 family [J]. J Biol Chem, 2000, 275(14): 10308-14.
- [5] BUSFIELD S J, COMRACK C A, YU G, et al. Identification and gene organization of three novel members of the IL-1 family on human chromosome 2 [J]. Genomics, 2000, 66(2): 213-6.
- [6] BARTON J L, HERBST R, BOSISIO D, et al. A tissue specific IL-1 receptor antagonist homolog from the IL-1 cluster lacks IL-1, IL-1ra, IL-18 and IL-18 antagonist activities [J]. Eur J Immunol, 2000, 30(11): 3299-308.
- [7] NICKLIN M J, BARTON J L, NGUYEN M, et al. A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster [J]. Genomics, 2002, 79(5): 718-25.
- [8] TAYLOR S L, RENSHAW B R, GARKA K E, et al. Genomic organization of the interleukin-1 locus [J]. Genomics, 2002, 79(5): 726-33.
- [9] RIVERS-AUTY J, DANIELS M J D, COLLIVER I, et al. Redefining the ancestral origins of the interleukin-1 superfamily [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 1156.
- [10] MARTIN U, SCHOLLER J, GURGEL J, et al. Externalization of the leaderless cytokine IL-1F6 occurs in response to lipopolysaccharide/ATP activation of transduced bone marrow macrophages [J]. J Immunol, 2009, 183(6): 4021-30.
- [11] KOVACH M A, SINGER B H, NEWSTEAD M W, et al. IL-36gamma is secreted in microparticles and exosomes by lung macrophages in response to bacteria and bacterial components [J]. J Leukoc Biol, 2016, 100(2): 413-21.
- [12] TOWNE J E, RENSHAW B R, DOUANGPANYA J, et al. Interleukin-36 (IL-36) ligands require processing for full agonist (IL-36alpha, IL-36beta, and IL-36gamma) or antagonist (IL-36Ra) activity [J]. J Biol Chem, 2011, 286(49): 42594-602.
- [13] HENRY C M, SULLIVAN G P, CLANCY D M, et al. Neutrophil-derived proteases escalate inflammation through activation of IL-36 family cytokines [J]. Cell Rep, 2016, 14(4): 708-22.
- [14] MACLEOD T, DOBLE R, MCGONAGLE D, et al. Neutrophil elastase-mediated proteolysis activates the anti-inflammatory cytokine IL-36 receptor antagonist [J]. Sci Rep, 2016, 6: 24880.
- [15] CLANCY D M, SULLIVAN G P, MORAN H B T, et al. Extracellular neutrophil proteases are efficient regulators of IL-1, IL-33, and IL-36 cytokine activity but poor effectors of microbial killing [J]. Cell Rep, 2018, 22(11): 2937-50.
- [16] AFONINA I S, TYNAN G A, LOGUE S E, et al. Granzyme B-dependent proteolysis acts as a switch to enhance the proinflammatory activity of IL-1alpha [J]. Mol Cell, 2011, 44(2): 265-78.
- [17] CLANCY D M, HENRY C M, SULLIVAN G P, et al. Neutrophil extracellular traps can serve as platforms for processing and activation of IL-1 family cytokines [J]. FEBS J, 2017, 284(11): 1712-25.
- [18] GUO J, TU J, HU Y, et al. Cathepsin G cleaves and activates IL-36gamma and promotes the inflammation of psoriasis [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 581-8.
- [19] YI G, YBE J A, SAHA S S, et al. Structural and functional attributes of the interleukin-36 receptor [J]. J Biol Chem, 2016, 291(32): 16597-609.
- [20] ZHOU L, TODOROVIC V, KAKAVAS S, et al. Quantitative ligand and receptor binding studies reveal the mechanism of interleukin-36 (IL-36) pathway activation [J]. J Biol Chem, 2018, 293(2): 403-11.
- [21] WANG D, ZHANG S, LI L, et al. Structural insights into the assembly and activation of IL-1beta with its receptors [J]. Nat Immunol, 2010, 11(10): 905-11.
- [22] GUNTHER S, SUNDBERG E J. Molecular determinants of agonist and antagonist signaling through the IL-36 receptor [J]. J Immunol, 2014, 193(2): 921-30.
- [23] BRUNNER P M, ISRAEL A, ZHANG N, et al. Early-onset pediatric atopic dermatitis is characterized by TH2/TH17/TH22-centered inflammation and lipid alterations [J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(6): 2094-106.
- [24] YANG W, DONG H P, WANG P, et al. IL-36gamma and IL-36Ra reciprocally regulate colon inflammation and tumorigenesis by modulating the cell-matrix adhesion network and wnt signaling [J]. Adv Sci, 2022, 9: e2103035.
- [25] WANG P, YANG W, GUO H, et al. IL-36gamma and IL-36Ra reciprocally regulate NSCLC progression by modulating GSH homeostasis and oxidative stress-induced cell death [J]. Adv Sci, 2021, 8(19): e2101501.
- [26] CARRIER Y, MA H L, RAMON H E, et al. Inter-regulation of Th17 cytokines and the IL-36 cytokines *in vitro* and *in vivo*: im-

- plications in psoriasis pathogenesis [J]. *J Invest Dermatol*, 2011, 131(12): 2428-37.
- [27] BLUMBERG H, DINH H, DEAN C, Jr, et al. IL-1RL2 and its ligands contribute to the cytokine network in psoriasis [J]. *J Immunol*, 2010, 185(7): 4354-62.
- [28] JOHNSTON A, XING X, GUZMAN A M, et al. IL-1F5, -F6, -F8, and -F9: a novel IL-1 family signaling system that is active in psoriasis and promotes keratinocyte antimicrobial peptide expression [J]. *J Immunol*, 2011, 186(4): 2613-22.
- [29] VIGNE S, PALMER G, LAMACCHIA C, et al. IL-36R ligands are potent regulators of dendritic and T cells [J]. *Blood*, 2011, 118(22): 5813-23.
- [30] GRESNIGT M S, ROSLER B, JACOBS C W, et al. The IL-36 receptor pathway regulates *Aspergillus fumigatus*-induced Th1 and Th17 responses [J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(2): 416-26.
- [31] MUTAMBA S, ALLISON A, MAHIDA Y, et al. Expression of IL-1Rrp2 by human myelomonocytic cells is unique to DCs and facilitates DC maturation by IL-1F8 and IL-1F9 [J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42(3): 607-17.
- [32] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. *Lancet*, 2017, 390(10114): 2769-78.
- [33] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-49.
- [34] MAGER L F, WASMER M H, RAU T T, et al. Cytokine-induced modulation of colorectal cancer [J]. *Front Oncol*, 2016, 6: 96.
- [35] NISHIDA A, HIDAKA K, KANDA T, et al. Increased expression of interleukin-36, a member of the interleukin-1 cytokine family, in inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(2): 303-14.
- [36] RUSSELL S E, HORAN R M, STEFANSKA A M, et al. IL-36alpha expression is elevated in ulcerative colitis and promotes colonic inflammation [J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(5): 1193-204.
- [37] SCHEIBE K, BACKERT I, WIRTZ S, et al. IL-36R signalling activates intestinal epithelial cells and fibroblasts and promotes mucosal healing *in vivo* [J]. *Gut*, 2017, 66(5): 823-38.
- [38] SCHEIBE K, KERSTEN C, SCHMIED A, et al. Inhibiting interleukin 36 receptor signaling reduces fibrosis in mice with chronic intestinal inflammation [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(4): 1082-97, e11.
- [39] FONSECA-CAMARILLO G, FURUZAWA-CARBALLEDA J, ITURRIAGA-GOYON E, et al. Differential expression of IL-36 family members and IL-38 by immune and nonimmune cells in patients with active inflammatory bowel disease [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 5140691.
- [40] BOUTET M A, BART G, PENHOAT M, et al. Distinct expression of interleukin (IL)-36alpha, beta and gamma, their antagonist IL-36Ra and IL-38 in psoriasis, rheumatoid arthritis and Crohn's disease [J]. *Clin Exp Immunol*, 2016, 184(2): 159-73.
- [41] MEDINA-CONTRERAS O, HARUSATO A, NISHIO H, et al. Cutting edge: IL-36 receptor promotes resolution of intestinal damage [J]. *J Immunol*, 2016, 196(1): 34-8.
- [42] MARRAKCHI S, GUIGUE P, RENSHAW B R, et al. Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(7): 620-8.
- [43] BAL E, LIM A C, SHEN M, et al. Mutation in IL36RN impairs the processing and regulatory function of the interleukin-36-receptor antagonist and is associated with DITRA syndrome [J]. *Exp Dermatol*, 2019, 28(10): 1114-7.
- [44] CORDORO K M, UCMAN D, HITRAYA-LOW M, et al. Response to interleukin (IL)-17 inhibition in an adolescent with severe manifestations of IL-36 receptor antagonist deficiency (DITRA) [J]. *JAMA Dermatol*, 2017, 153(1): 106-8.
- [45] BLUMBERG H, DINH H, TRUEBLOOD E S, et al. Opposing activities of two novel members of the IL-1 ligand family regulate skin inflammation [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(11): 2603-14.
- [46] TOWNE J E, SIMS J E. IL-36 in psoriasis [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12(4): 486-90.
- [47] TORTOLA L, ROSENWALD E, ABEL B, et al. Psoriasiform dermatitis is driven by IL-36-mediated DC-keratinocyte crosstalk [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(11): 3965-76.
- [48] BOAKYE C H A, PATEL K, DODDAPANENI R, et al. Novel amphiphilic lipid augments the co-delivery of erlotinib and IL36 siRNA into the skin for psoriasis treatment [J]. *J Control Release*, 2017, 246: 120-32.
- [49] TAKAISHI M, SATOH T, AKIRA S, et al. Regnase-1, an immunomodulator, limits the IL-36/IL-36R autostimulatory loop in keratinocytes to suppress skin inflammation [J]. *J Invest Dermatol*, 2018, 138(6): 1439-42.
- [50] TAUBER M, BAL E, PEI X Y, et al. IL36RN mutations affect protein expression and function: a basis for genotype-phenotype correlation in pustular diseases [J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 136(9): 1811-9.
- [51] FREY S, DERER A, MESSBACHER M E, et al. The novel cytokine interleukin-36alpha is expressed in psoriatic and rheumatoid arthritis synovium [J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(9): 1569-74.
- [52] DIETRICH D, GABAY C. Inflammation: IL-36 has proinflammatory effects in skin but not in joints [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10(11): 639-40.
- [53] SCHMITT V, HAHN M, KASTELE V, et al. Interleukin-36 receptor mediates the crosstalk between plasma cells and synovial fibroblasts [J]. *Eur J Immunol*, 2017, 47(12): 2101-12.
- [54] LI T, CHUBINSKAYA S, ESPOSITO A, et al. TGF-beta type 2 receptor-mediated modulation of the IL-36 family can be therapeutically targeted in osteoarthritis [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(491): eaa2585.
- [55] CHU M, WONG C K, CAI Z, et al. Elevated expression and pro-inflammatory activity of IL-36 in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Molecules*, 2015, 20(10): 19588-604.
- [56] LAMACCHIA C, PALMER G, RODRIGUEZ E, et al. The severity of experimental arthritis is independent of IL-36 receptor signaling [J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15(2): R38.
- [57] DERER A, GROETSCH B, HARRE U, et al. Blockade of IL-36 receptor signaling does not prevent from TNF-induced arthritis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e101954.
- [58] SEGUENI N, VIGNE S, PALMER G, et al. Limited contribution of IL-36 versus IL-1 and TNF pathways in host response to mycobacterial infection [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126058.
- [59] AHSAN F, MAERTZDORF J, GUHLICH-BORNHOF U, et al. IL-36/LXR axis modulates cholesterol metabolism and immune

- defense to *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1520.
- [60] NANJO Y, NEWSTEAD M W, AOYAGI T, et al. Overlapping roles for interleukin-36 cytokines in protective host defense against murine *Legionella pneumophila pneumonia* [J]. *Infect Immun*, 2019, 87(1): e00583-18.
- [61] WANG X, ZHAO X, FENG C, et al. IL-36gamma transforms the tumor microenvironment and promotes type 1 lymphocyte-mediated antitumor immune responses [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(3): 296-306.
- [62] BUHL A L, WENZEL J. Interleukin-36 in infectious and inflammatory skin diseases [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1162.
- [63] HERBST R S, MORGENSZTERN D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer [J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 446-54.
- [64] WANG W, GREEN M, CHOI J E, et al. CD8(+) T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 270-4.