

· 综述 ·

## 白细胞介素-12 表达障碍与过敏性疾病

卢燕鸣 综述 曹兰芳 审校

(上海第二医科大学附属仁济医院儿科, 上海 200001)

[中图分类号] R392.8 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2005)03-0283-03

过敏性疾病是世界范围内严重威胁公众健康的一种主要疾病,也是致使儿童生活质量下降的主要疾病影响因素,其发病机制目前尚未完全阐明。随着研究在分子水平的深入,人们越来越认识到细胞因子尤其是白细胞介素-12(IL-12)在过敏性疾病中的作用。本文就近年来 IL-12 在支气管哮喘、变应性鼻炎、特应性皮炎等过敏性疾病中的研究进展作一综述。

### 1 IL-12 的来源和分子结构

IL-12 最初被命名为 NK 细胞刺激因子(natural killer cell stimulation factor, NKSF)和细胞毒淋巴细胞成熟因子(cytotoxic lymphocyte maturation factor, CLMF),现已统称为 IL-12。尽管 IL-12 最初是从 B 细胞培养上清液中发现的,但其主要是由抗原递呈细胞(APCs),如巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞(DC)通过非 T 细胞依赖性和 T 细胞依赖性 2 个不同的活化途径产生的<sup>[1]</sup>。分泌 IL-12 的树突状细胞属 I 型(DCI),其必须发育到一定阶段才能产生 IL-12。人角质形成细胞、多形核细胞、郎格汉斯细胞能产生低水平的 IL-12。APCs 产生的 IL-12 受到一些细胞因子的调节, $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、肿瘤坏死因子(TNF- $\beta$ )等能诱导 IL-12 的产生,IL-4,IL-10,IL-13,转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )则可抑制 IL-12 的产生。

IL-12 的相对分子量为 75 kD,由 M40KD(p40)和 35KD(p35)两条链经二硫键共价结合而形成的异二聚体糖蛋白(p70),这种结构是目前已发现的 IL 中所特有的结构。p40 和 p35 单链基因分别是位于人类第 5 号染色体 5q31-5q35 和第 3 号染色体 3q12-13.2 上。单独将 p35 或 p40-cDNA 转染后只能得到对应的单条链,p35-cDNA 和 p40-cDNA 只有

同时转染在同一细胞中才能分泌产生具有生物活性完整结构的 IL-12。

### 2 IL-12 受体

IL-12 生物活性是通过高亲和力的 IL-12 受体(IL-12R)介导的,主要分布于植物血凝素(PHA)活化的 CD4<sup>+</sup>T,CD8<sup>+</sup>T 和 IL-12 活化的 CD56<sup>+</sup>的 NK 细胞表面,而活化的 B 细胞不表达 IL-12R。IL-12R 是由两条多肽链  $\beta_1$  和  $\beta_2$  组成,它们都属于 gp130 受体超家族,为 I 型糖蛋白。目前认为<sup>[2]</sup> IL-12 $\beta_2$  是 Th0 向 Th1 细胞分化过程中必需的,在 Th2 细胞的优势活化中无  $\beta_2$  亚基的表达。IL-12 的  $\beta_1$  亚单位可与 JAK-2(Janus 酪氨酸激酶家族-2)相互作用, $\beta_2$  亚单位与信号转导和转录活化因子 3 和 4(STAT3,STAT4)以及 TYK2 相互作用。IL-12 与 IL-12R $\beta_2$  结合后,后者二聚体化,促进 JAK 激酶活化酪氨酸激酶,导致受体酪氨酸磷酸化,再通过 JAK 活化 STAT3,STAT4,使后者与受体解离,将信号转位到核内,结合于细胞因子基因的启动子序列上,从而促进基因表达,发挥生物学效应。Kawashima 等<sup>[3]</sup>通过建立 IL-12R $\beta_1$  亚基的 Juzkat 转染体(JIL12 $\beta_1$ t)发现了一个与  $\beta_1$  亚基相关连的 85 kD 蛋白(P85),它能在 IL-12 刺激转染体细胞及 PHA 激活的 T 细胞后,发生快速酪氨酸磷酸化作用,从而提示 P85 是受体复合物的一个重要成分,可能在 IL-12 信号转导过程中发挥重要作用。

### 3 IL-12 的生物学功能

IL-12 的生物学功能具有种属特异性,这种特异性主要是由 p35 亚单位所决定的。其生物学功能主要表现在:①调节 Th1/Th2 细胞免疫应答的平衡,

[收稿日期]2004-08-24;[修回日期]2004-12-02

[作者简介]卢燕鸣(1973-),男,硕士研究生在读,主治医师。主攻方向:小儿呼吸与免疫疾病。

这是 IL-12 最重要的活性<sup>[4]</sup>。IL-12 可有效地促进 Th1 类细胞如 IFN- $\gamma$  的产生,而 IFN- $\gamma$  又可以反过来促进 IL-12 的作用,从而形成一个因子正反馈调节,增强了 Th1 细胞的免疫应答。同时,IL-12 又可抑制 Th2 类细胞如 IL-4, IL-5 的产生,从而抑制了 Th2 细胞的免疫应答;②促进 T 细胞和 NK 细胞的增殖和杀伤作用;③诱导 LAK 细胞产生和增强 T 细胞介导的细胞毒作用和 CTL 的产生,能诱导 CTL 对肿瘤细胞抗原产生应答;④抑制特异性 IgE 的产生;⑤IL-12 还能协同 IL-3、铁因子(SF)等促进造血干细胞及祖细胞的产生,诱导髓样前体、淋巴样前体、红细胞前体和巨核细胞形成集落。

## 4 IL-12 与过敏性疾病

### 4.1 IL-12 与支气管哮喘

在正常的支气管黏膜部位主要是 Th1 细胞,其分泌 IFN- $\gamma$ , IL-2 等,具有防御病毒和细菌、抑制过敏原所致的气道炎症反应等作用。而哮喘患者的支气管黏膜局部富含大量的 Th2 淋巴细胞及其所分泌的细胞因子如 IL-4, IL-5, 能抑制 Th1 产生细胞因子,可见黏膜局部 Th1/Th2 细胞间的失衡, Th1 型细胞的功能下降, Th2 细胞的功能异常增高是哮喘发病的关键机制之一<sup>[5]</sup>。最近,两种细胞因子 IL-12 和 IL-13 被认为对在哮喘的异常免疫中起了关键作用, IL-12/IL-13 产生失衡是哮喘 Th2 优势免疫反应的基础<sup>[6]</sup>。在哮喘患者的 T 细胞表面, IL-12R $\beta$ 2 表达是明显下降的,下降的原因是由于 IL-12 产生减少和 IL-4 的分泌过多<sup>[7]</sup>。Naseer 等<sup>[8]</sup>研究发现,过敏性哮喘患者支气管黏膜的 IL-12mRNA 阳性细胞数较正常人明显减少,用类固醇激素治疗 1 周后,激素敏感组患者 1 s 用力呼气容积(FEV1)值升高,且能够显著增加活检组织 IL-12 阳性细胞数量, IL-12 表达水平的升高与同期 IL-13 表达水平下降是相联系的,而对类固醇激素抵抗组 IL-12mRNA, IL-13mRNA 无显著变化。上述事实说明哮喘患者体内 IL-12 的产生、分泌不足。

哮喘是以气道内嗜酸性粒细胞(EOS)浸润、气道高反应(BHR)以及体内 IgE 合成增多为主要特征, IL-12 对调节气道内 EOS 聚集、降低 BHR 和抑制 IgE 的产生有一定的作用。Kodama 等<sup>[9]</sup>通过对用卵清蛋白(OVA)致敏的小鼠哮喘模型发现,给予重组 IL-12(recombinant IL-12, rIL-12)注射后,能明显降低小鼠肺内 EOS 的浸润、减弱 BHR, 而能明显增加 IFN- $\gamma$  的产生。IL-12 上述这些作用有部分是通

过 IFN- $\gamma$  来介导的, Rais 等<sup>[10]</sup>给 BALB/C 小鼠哮喘模型注射了小剂量的 IL-12, 然后在 3 d 后测定了骨髓干细胞中 EOS 的值, 发现 EOS 的值下降了近 43%, 而在 IFN- $\gamma$  敲除的小鼠中未发现有 EOS 值的下降。而 IL-12 能减弱 BHR 和炎症反应的机制可能是由于一方面 IL-12 能直接抑制 Th2 细胞的反应活性, 使 Th2 类细胞因子如 IL-4, IL-5 产生减少, 抑制了 IgE 的产生; 另一方面 IL-12 能上调肺炎炎症细胞对 IL-18 受体的表达, 并与之协同抑制 Th2 类细胞因子的分泌<sup>[11]</sup>。

### 4.2 IL-12 与变应性鼻炎

变应性鼻炎(allergic rhinitis, AR)又称过敏性鼻炎,是发生哮喘的高危因素。AR 和哮喘常在同一患者身上共存,大约 80% 以上的哮喘患者伴有 AR, 约 40% 以上的 AR 患有哮喘,从而给 AR 和支气管哮喘赋予了新的名词“变应性鼻支气管炎”,进一步说明上、下呼吸道炎症的一致性<sup>[12]</sup>。AR 同哮喘一样,是以 Th2 细胞占优势的反应。在 AR 患者中,鼻黏膜 IL-12R 的表达明显减少, Wright 等<sup>[13]</sup>用地高辛标记,采用原位杂交技术测定 AR 和非 AR 患者的 IL-12 和 IL-12R( $\beta$ 2),结果显示 AR 组二者表达明显减少,而非 AR 组 IL-12 表达减少, IL-12R( $\beta$ 2)表达正常。同样用豚草致敏的动物模型 IL-12 表达明显减少,但这种现象能被类固醇激素所抑制。吕梅等<sup>[14]</sup>以 OVA 为变应原致敏的 AR 豚鼠为模型,取该模型组和健康豚鼠组鼻黏膜作 HE 染色,并采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测方法,结果显示 AR 鼻黏膜组织中 IL-12 表达下降,从而提示鼻黏膜中 IL-12 表达下降在 AR 的发病机制中起了重要的作用,也提示了 IL-12 的替代治疗也许是治疗 AR 的新途径。

AR 的免疫病理特征为鼻黏膜下 EOS、嗜碱性粒细胞、肥大细胞的数量增多以及血浆特异性 IgE 的升高,而 IL-12 能诱导 EOS 的凋亡,抑制其聚集和浸润,能抑制嗜碱性粒细胞和肥大细胞产生 Th2 因子及脱颗粒。IL-12 也可以通过促进 IFN- $\gamma$  生成或通过抑制 IL-4, IL-5 来抑制 IgE 的合成。Liu 等<sup>[15]</sup>采用体外培养 22 例具有 AR 等过敏体质的外周血单核细胞(PMBC)发现, IL-4 可诱导 IgE 的合成,相反 IFN- $\gamma$  可抑制 IgE 的合成,加入 IL-12 后可拮抗 IL-4 诱导的 IgE 的合成。

### 4.3 IL-12 与特应性皮炎

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)原称“异位性皮炎”或“遗传性过敏性皮炎”,是一种与遗传过敏体质有关的皮肤炎症性疾病。患者往往伴有支气

管哮喘、变应性鼻炎。近年来研究显示, Th2型和Th1型细胞因子与AD皮损发生关系密切, 不同时期及不同程度的皮损其表达水平有差别。急性期以Th2反应为主, 然后在慢性期则转向Th1反应明显增强, 在这过程中郎格汉斯细胞和树突状上皮细胞起着重要的作用<sup>[16]</sup>。Teraki等<sup>[17]</sup>通过流式细胞仪检测发现, 急性AD患者分泌IL-4和IL-5的细胞比例明显高于正常人, 而分泌IFN- $\gamma$ 的细胞比例显著低于正常人, IL-4和IL-5是Th2型细胞因子, 能抑制IL-12的生成, 从而说明了在急性AD中IL-12 mRNA阳性细胞有所缺乏。同样Aiba等<sup>[18]</sup>研究发现, 急性期AD时IL-12p40 mRNA的表达明显减少, IL-4的分泌却明显增加。急性AD时IL-12产生减少的机制尚不完全清楚, 可能是由于一方面细胞因子亚单位基因编码改变所致。有研究表明AD的基因位于5q31, 正好在IL-12p40基因编码的位置<sup>[19]</sup>; 另一方面可能与IL-12周围具有负调节作用的细胞因子及介质影响有关。临床动物试验也表明了急性AD应用IL-12, IFN- $\gamma$ 后可通过NK细胞和/或库普弗细胞产生免疫效应, 抑制血清IgE, IL-4的升高, 对皮肤炎症的控制也有效果, 同时IL-12和IL-18亦可通过CD3细胞刺激肝脏T细胞而减少IL-4的产生<sup>[20]</sup>。在AD患者的慢性皮损中, Yawalkar等<sup>[21]</sup>发现, IL-12p40 mRNA的表达是明显增加的, 但用类固醇激素治疗后可有明显下降。在皮疹湿疹化的过程中, IL-12的增加能诱导T细胞和NK细胞产生IFN- $\gamma$ , 反之IFN- $\gamma$ 也会增加IL-12的分泌, 这一循环是AD慢性皮肤炎症的基础。

#### [参 考 文 献]

[1] Maruo S, Oh-hora M, Ahn HJ, Ono S, Wysocka M, Kaneko Y, et al. B cells regulate CD40 ligand-induced IL-12 production in antigen-presenting cells (APC) during T cell / APC interactions [J]. *J Immunol*, 1997, 158(1):120-126.

[2] Rogge L, Papi A, Presky DH, Biffi M, Minetti LJ, Miotto D, et al. Antibodies to the IL-12 receptor beta 2 chain mark human Th1 but not Th2 cells in vitro and in vivo [J]. *J Immunol*, 1999, 162(7):3926-3932.

[3] Kawashima T, Kawasaki H, Kitamura T, Nojima Y, Morimoto C. Interleukin-12 induces tyrosine phosphorylation of an 85-kDa protein associated with the interleukin-12 receptor beta 1 subunit [J]. *Cell Immunol*, 1998, 186(1):39-44.

[4] Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U, et al. The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: role in normal and pathologic immune responses [J]. *Annu Rev Immunol*, 1998, 16(6):495-521.

[5] 杨锡强. 小儿哮喘免疫学发病机制及其对策 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2001, 3(5):487-490.

[6] Wills-Karp M. IL-12/IL-13 axis in allergic asthma [J]. *J Allergy*

*Clin Immunol*, 2001, 107(1):9-18.

[7] Yokoe T, Suzuki N, Minoguchi K, Adachi M, Sakane T. Analysis of IL-12 receptor beta 2 chain expression of circulating T lymphocytes in patients with atopic asthma [J]. *Cell Immunol*, 2001, 208(1):34-42.

[8] Naseer T, Minshall EM, Leung DY, Laberge S, Ernst P, Martin RJ, et al. Expression of IL-12 and IL-13 mRNA in asthma and their modulation in response to steroid therapy [J]. *Am J Respir Crit Med*, 1997, 155(3):845-851.

[9] Kodama T, Kuribayashi K, Nakamura H, Fujita M, Fujita T, Takeda K, et al. Role of interleukin-12 in the regulation of CD4 + T cell apoptosis in a mouse model of asthma [J]. *Clin Exp Immunol*, 2003, 131(2):199-205.

[10] Rais M, Wild JS, Choudhury BK, Alam R, Stafford S, Dharajiya N, et al. Interleukin-12 inhibits eosinophil differentiation from bone marrow stem cells in an interferon-gamma-dependent manner in a mouse model of asthma. [J]. *Clin Exp Allergy*, 2002, 32(4):627-632.

[11] Kuribayashi K, Kodama T, Okamura H, Sugita M, Matsuyama T. Effects of post-inhalation treatment with interleukin-12 on airway hyper-reactivity, eosinophilia and interleukin-18 receptor expression in a mouse model of asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2002, 32(4):641-649.

[12] Pawankar R. Allergic rhinitis and its impact on asthma: an evidence-based treatment strategy for allergic rhinitis [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2002, 20(1):43-52.

[13] Wright ED, Christodoulopoulos P, Frenkiel S, Hamid Q. Expression of interleukin (IL)-12 (p40) and IL-12 (beta2) receptors in allergic rhinitis and chronic sinusitis [J]. *Clin Exp Allergy*, 1999, 29(10):1320-1325.

[14] 吕梅, 董震, 杨占泉. 白细胞介素-12在变应性鼻炎鼻黏膜中的表达 [J]. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2002, 16(8):423-425.

[15] Liu M, Zheng S, Wang X, Wen Z. Regulatory roles of IL-12, IL-4 and IFN-gamma on IgE synthesis in atopic patients [J]. *Chin Med J (Engl)*, 1999, 112(6):550-553.

[16] Novak N, Valenta R, Bohle B, Laffer S, Haberstok J, Kraft S, et al. Fc epsilon RI engagement of Langerhans cell-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotypes in vitro [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113(5):949-957.

[17] Teraki Y, Hotta T, Shiohara T. Increased circulating skin-homing cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) + type 2 cytokine-producing cells, and decreased CLA + type 1 cytokine-producing cells in atopic dermatitis [J]. *Br J Dermatol*, 2000, 143(2):373-378.

[18] Aiba S, Manome H, Yoshino Y, Tagami H. Alteration in the production of IL-10 and IL-12 and aberrant expression of CD23, CD83 and CD86 by monocytes or monocyte-derived dendritic cells from atopic dermatitis patients [J]. *Exp Dermatol*, 2003, 12(1):86-95.

[19] Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, et al. Interleukin-12 p40 gene [IL12B] 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris [J]. *J Dermatol Sci*, 2002, 30(2):161-166.

[20] Habu Y, Seki S, Takayama E, Ohkawa T, Koike Y, Ami K, et al. The mechanism of a defective IFN-gamma response to bacterial toxins in an atopic dermatitis model, NC/Nga mice, and the therapeutic effect of IFN-gamma, IL-12, or IL-18 on dermatitis [J]. *J Immunol*, 2001, 166(9):5439-5447.

[21] Yawalkar N, Karlen S, Egli F, Brand CU, Graber HU, Pichler WJ, et al. Down-regulation of IL-12 by topical corticosteroids in chronic atopic dermatitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2000, 106(5):941-947.

(本文编辑:吉耕中)