

# 白介素-18 的研究进展

赵玲莉

作者单位: 810001 西宁市, 青海大学附属医院检验科

白介素-18 (interleukin-18, IL-18) 是 1995 年 Okamura 等<sup>[1]</sup>从热灭活痤疮丙酸杆菌和脂多糖共处理过的小鼠肝脏提取物中纯化出来的物质, 起初被命名为干扰素  $\gamma$  诱生因子 (interferon- $\gamma$  inducing factor, IGIF), 其结构与 IL-1 $\beta$  相似, 也曾被命名为 IL-1 $\gamma$ , 但后来发现它不与 IL-1 受体起作用, 因而被认为是一个新的细胞因子。随后, Ushio 等<sup>[2]</sup>用鼠的 cDNA 作为探针, 从人的肝细胞 cDNA 文库中分离出了人的 IGIF cDNA, 并在大肠杆菌中将其成功重组, Ushio 正式将其命名为 IL-18。由此看来, IL-18 是新近发现的一种细胞因子, 来源于单核巨噬细胞, 能显著刺激 Th1 细胞产生 C 干扰素 (interferon C, IFNC)、IL-2、粒-单核巨噬细胞集落刺激因子等 Th1 相关因子, 促进 T 细胞增殖, 诱导调节 Th1 细胞的分化成熟和促进 Th1 细胞为主的细胞免疫反应; 并且增强 T 细胞、NK 细胞 FasL 的表达, 从而促进 Fas/FasL 系统介导的细胞毒效应, 在炎症反应中具有“双刃剑”的作用。所以 IL-18 在抗感染和抗肿瘤上有很大的潜在价值, 尤其对抗癌细胞转移具有独特效果。

## 1 IL-18 的分子特性

鼠 IL-18 前体蛋白由 192 个氨基酸组成, 相对分子质量  $23.8 \times 10^3$ , N 末端有一结构特殊的 35 个氨基酸组成的信号序列, 无 N 端糖基化位点、无野生型疏水信号肽样位点。成熟鼠 IL-18 由 157 个氨基酸组成, 相对分子质量  $18.2 \times 10^3$ , 等电点  $PI=4.9$ 。IL-1 $\beta$  转移酶在 N 端 35 位 Asp 位点水解肽链, 可去掉前导信号序列。

人 IL-18 基因编码 193 个氨基酸前体蛋白, 含一个 36 个氨基酸残基的引导序列, 人 IL-18 基因位于 11q22.2~q22.3 染色体, 和小鼠的相应序列具有 65% 的同源性, N 端也有类似的信号序列, 亦无 N 端糖基化位点和疏水信号肽位点<sup>[2]</sup>, 与人 IL-1 $\beta$  的氨基酸序列只有约 18% 的同源性, 与人 IL-1 $\alpha$  或人 IL-1 受体拮抗物也只有约 15% 的同源性。

鼠 IL-18 和人 IL-18 都有 IL-1 类似的特征性结构: phe-x(12)-phe-x-ser-x(6)-phe-eu。IL-18 的空间结构由 12 股  $\beta$  片形成  $\beta$ -三叶折叠, 这也与 IL-1 蛋白家族空间结构类似。

## 2 IL-18 的分布

Ushio 等<sup>[2]</sup>用 Northern 杂交技术对成年人不同组织的

mRNA 进行分析, 发现胰、肾、脾和骨骼肌 IL-18 mRNA 有高水平表达, 另外肝和肺中也能检测到。Conti 等<sup>[3]</sup>发现冷刺激能强烈诱导 IL-18 mRNA 表达, 原位杂交分析表明 IL-18 是由肾上腺皮质合成的。人 IL-18 细胞来源还不确定, T 细胞、B 细胞中几乎没有人 IL-18 mRNA, 仅单核巨噬细胞有自发表达, 说明 IL-18 主要是由单核巨噬细胞产生。

## 3 IL-18 的生物学功能

**3.1 诱导  $\gamma$  干扰素 (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 产生** IL-18 最大的生物学作用是诱导 T 细胞和 NK 细胞产生 IFN- $\gamma$ 。IL-18 本身能诱导小鼠非粘连细胞产生少量的 IFN- $\gamma$ <sup>[1]</sup>。人外周血单核细胞或抗专一性小鼠 T 细胞或小鼠 Th1 克隆株<sup>[4]</sup>中观察到, IL-18 与 IL-12、ConA 或抗 CD3 抗体一起加入时, IFN- $\gamma$  产生会大大增加。

1995 年, Okamura 等<sup>[1]</sup>发现抗 CD3 单抗存在时, 重组小鼠 IL-18 明显刺激建立的 Th1; 细胞产生 IFN- $\gamma$ , 所诱导的 IFN- $\gamma$  水平远较 IL-12 诱导的为高。培养基中加入鼠抗 IL-12 中和抗体, 对 IL-18 诱生 IFN- $\gamma$  的作用无抑制效应, 加入抗 IL-18 抗体也不抑制 IL-12 的 IFN- $\gamma$  的诱导效应, 提示 IL-18 的生物学活性并不依赖于 IL-12, 这两种细胞彼此独立发挥作用。Ushio 等<sup>[2]</sup>的研究发现, 重组人 IL-18 诱导富集 T 细胞产生, 呈剂量依赖性增加, 可使诱导产生的量增加 5 倍, IL-18 和 IL-12 具有协同增效作用。IL-18 能增加 IL-12 产生, 诱导 IL-12R $\alpha$ -链在 Ag-或抗 CD3-刺激的小鼠 Th1 克隆株和人富集 T 细胞中表达。另外因为 IL-18 可以直接激活 IFN- $\gamma$  启动子, 因此可以考虑 IL-18 可能通过对 IFN- $\gamma$  的诱导作用, 促进主要组织相容复合体 I 蛋白的表达, 可望成为疫苗的一种重要的免疫佐剂<sup>[4,5]</sup>。

**3.2 对 T 细胞增殖的作用** 在经 CD3 单克隆抗体刺激的富集 T 细胞中加入 IL-18, T 细胞增殖作用显著增强<sup>[4]</sup>, 并且表现出一种剂量依赖效应。这种效应在 IL-18 浓度较低时可以被 IL-12 中和抗体完全抑制, 而中和 IFN- $\gamma$  的抗体浓度较高时并不能显著地抑制 T 细胞的增殖。因此, IL-18 主要促进 IFN- $\gamma$ 、IL-12 和粒-单核巨噬细胞集落刺激因子等细胞因子的产生, 而这些细胞因子主要由 Th1 细胞产生且与 Th1 细胞介导的免疫反应有关。IL-18 能使新生 CD4<sup>+</sup> T 细胞极化为

Th1 细胞, 但 IL-18 本身不能诱导新生 CD4<sup>+</sup> T 细胞分化为 Th1 细胞。众所周知, IL-12 能诱导新生 CD4<sup>+</sup> T 细胞分化为 Th1 细胞, 而 IL-18 却能加强 IL-12 的作用。

**3.3 增强 Fas/FasL 介导的细胞毒作用** Fas 是一种介导细胞凋亡的表面分子, 在机体许多细胞和组织中都有表达, 当靶细胞的 Fas 与效应细胞的 FasL 结合时, 就会诱发靶细胞的凋亡。NK 细胞和 T 细胞静止时一般表达 Fas, 活化时 FasL 的表达量就会增加, Fas/FasL 凋亡系统成熟。Tsutsui 等<sup>[9]</sup>发现 IL-18 通过增加 Fas 配体表达的方式增强小鼠 NK 克隆株 Fas/FasL 配体媒介的细胞毒性活力。但这种细胞毒力活性不受 IL-12、TNF- $\alpha$  或 IL-1 $\beta$  影响。另外 IL-18 本身也能诱导 NK 细胞克隆株产生 IFN- $\gamma$ 。IL-18 能增加穿孔素缺失型小鼠肝淋巴细胞的细胞毒性, IL-18 还能上调小鼠脾细胞 FasL mRNA 的表达, 因此 IL-18 主要是通过 FasL 的高表达而发挥细胞毒效应。

**3.4 增强 NK 细胞的细胞毒作用** Okamura 等<sup>[10]</sup>发现, 在小鼠肝提取物和脾细胞中提取的鼠 IL-18 能增强 NK 细胞的细胞毒作用, 增强脾细胞对小鼠淋巴瘤细胞的溶解作用。有丝分裂原活化蛋白激酶的活化在 IL-18 的信号传递途径中似乎占主导作用, 不但涉及到 IL-18 诱导的 IL-18 的 IFN $\gamma$ -mRNA 的转录和翻译, 而且还涉及到 IL-18 诱导的细胞毒效应。

因为 IL-18 增强 NK 细胞和 CTL(白细胞的亚部, 为一种特异 T 细胞)的细胞毒素活性, 所以 IL-18 有抗病毒感染作用。Micallef 等<sup>[9]</sup>观察了体内抗肿瘤作用, 指出致 MethA 肉瘤前 72 h 注射 IL-18 的小鼠(1  $\mu$ g/只)存活了 3 w 以上, 而对照组 3 w 内全部死亡, 此作用被抗唾液 GM1 抗体消除。先用 IL-18 处理再致 MethA 肉瘤, 存活的小鼠对 MethA 细胞的再致肉瘤有抗性, 说明 IL-18 的抗肿瘤作用是通过 NK 细胞活性实现的, 并且还产生免疫记忆。在结肠癌中也观察到 IL-18 的抗肿瘤作用, 不仅降低肿瘤生长, 而且明显地抑制癌转移。相关分析表明, 组织 IL-18 mRNA 表达与 IFNC mRNA、IFNC 水平、FasL mRNA 表达均呈显著正相关。由此得出结论, 即肠、肺组织 IL-18 mRNA 表达在烫伤早期即显著增多, 并呈逐渐升高的趋势; 创伤后组织 IL-18 mRNA 基因表达对 IFNC、FasL 的生成具有重要影响。

**3.5 对肿瘤的抑制作用** 经腹腔注射或静脉注射 IL-18 可以使 Balb/c 小鼠获得对同系的 MethA 肉瘤细胞攻击的抵抗能力, 而皮下注射则无此作用, 在消除了 NK 细胞活性小鼠中 IL-18 的这种效应消失, 表明 IL-18 是通过增强 NK 细胞的活性来表现其抗肿瘤效应的。IL-18 处理后的 MethA 肉瘤小鼠表现出免疫记忆能力, 对再接种 MethA 肉瘤有明显的抵抗作用, 体外实验证实这种抵抗作用是由脾的细胞毒性 CD4<sup>+</sup> T 细胞完成的。

#### 4 IL-18 的临床应用

**4.1 对于冠心病 (coronary heart disease, CHD) 的预测能力** 第四军医大学西京医院心血管内科的研究人员对该科诊断为 CHD 且入院后接受冠状动脉造影术的患者 127 例进行血清 IL-18 和高敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP) 检测, 结果发现, 不稳定型心绞痛组和急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 组患者血清 IL-18、hs-CRP 水平明显高于稳定型心绞痛组及对照组 ( $P < 0.01$ )。AMI 患者 hs-CRP 水平明显高于不稳定型心绞痛患者 ( $P < 0.05$ )。不稳定型心绞痛患者与 AMI 患者血清 IL-18 水平比较, 差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。这次研究提示: 急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndromes, ACS) 患者血清中 IL-18、hs-CRP 水平显著升高与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 病变不稳定状态密切相关, 这两种因子参与 ACS 的发病, 是 CHD 的重要预测因子及危险因素<sup>[7]</sup>。

**4.2 在 AS 中的应用** Blankenberg 等<sup>[8]</sup>运用流行病学方法评价在 AS 发病中 IL-18 水平是否有提示预后的作用, 前瞻性调查了 1229 例 AS 患者, 平均随访 3-9 年, 结果表明未来发生致命性心血管事件患者的血浆 IL-18 水平显著升高, 校正了传统的危险因素如射血分数、IL-6、CRP、纤维蛋白原的作用后, IL-18 的提示预后作用依然存在。与动物实验发现 IL-18 水平增加可导致斑块脆性增加的结论相一致, 提示血浆 IL-18 水平是 ACS 患者发生致命性心脏事件的强有力预测因子之一。随着人们对 AS 炎症机制认识的深入, IL-18 将可能用来作为心血管疾病危险因素的评价工具。Blankenberg 等<sup>[8]</sup>检测了 10 600 例 50-59 岁欧洲健康男性的血浆 IL-18 水平, 并随访 5 年, 观察他们冠脉事件的发生率, 结果提示血浆 IL-18 水平是欧洲中年健康男性发生冠脉事件的独立危险因素。IL-18 不但在 AS 的发病机制中起重要作用, 而且与斑块的破裂有关, 是 ACS 的独立危险因素之一, 在预后判定中亦有重要价值。研究 IL-18 与 AS 的相互关系, 可为 AS 的防治提供依据。

**4.3 在特发性血小板减少性紫癜 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) 中的应用** ITP 患者 IL-18 含量与血小板数量之间呈明显负相关, IL-18 含量越高, 血小板数量越少, 推测 IL-18 与 ITP 发病程度密切相关, 进一步表明血浆 IL-18 水平在 ITP 发病机制中起着重要的作用。由于 ITP 患者 IL-18 水平的增高诱导的是以 Th1 型细胞免疫反应为主, 目前有研究<sup>[10]</sup>显示, 稳定缓解期的患者是 Th2 优势, 因此逆转 Th1/Th2 类细胞极化模式是研究 ITP 治疗的一个新方向。

**4.4 在糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 中的应用** IL-18 可以诱发胰岛炎症和 DM, 其原因可能是 IL-18 在自身免疫性非肥胖型 DM 小鼠中表达量异常增加, 继而激活了胰岛细胞反应性 Th1 细胞。研究<sup>[11]</sup>发现, IL-18 通过调节胰腺内炎症免疫反

应中 Th1 辅助性 T 淋巴细胞 Th2 的平衡, 可抑制非肥胖型 DM 小鼠自身免疫性 DM 的发展。

梅妍等<sup>[2]</sup>对 IL-18 在 DM 视网膜病变中可能的分子机制进行了初步探讨, 结果显示, 与正常相比, DM 4 w 时, 视网膜高表达 IL-18, 8 w IL-18 表达降低, 24 w 表达最低。STAT5 在正常及 DM 4 w 视网膜未见表达, 8 w 开始表达, 24 w 时最强。结论为 IL-18 表达变化及 STAT5 的活化与 DM 视网膜病变发生有关。

**4.5 IL-18 与肿瘤** IL-18 可增强穿孔素及 FasL 介导的细胞毒作用, 通过多种途径直接或间接抑制和杀伤恶性肿瘤, 并在肿瘤的生物治疗中显示出广泛的应用前景。近期的实验结果表明, IL-18 对乳腺癌、膀胱癌、神经母细胞瘤等均有抑制或防止肿瘤生长的作用。另有研究<sup>[13]</sup>显示, 机体在病理状态下, IL-10 分泌增高, 提高了肿瘤细胞对 NK 细胞的敏感性, IL-18 可通过促进 IL-10 的分泌, 增强 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用。

**4.6 IL-18 与系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE)** 成熟的 T 细胞活化、诱导凋亡的主要途径通过 Fas 和 FasL 的交联诱导。sFas 是 Fas 基因的变异产物, 能够与 FasL 结合, 但是由于缺失跨膜部分蛋白, 故不能将凋亡信号传导入细胞, 影响细胞凋亡的发生, 因此被认为是凋亡的抑制因子。sFas 与 sFasL 结合, 干扰了 Fas 介导的凋亡过程, 使得体内自身反应性细胞与激活的淋巴细胞增多而参与 SLE 的发病过程。由于 IL-18 可以选择性激活 FasL 介导的 Th1 细胞, 增强 Th1 细胞的细胞毒作用, 与 T 细胞、B 细胞的凋亡密切相关<sup>[14]</sup>。在 SLE 患者血清中, IL-18 的水平显著升高, 活动期较缓解期水平也明显增高, 而且与 sFas 的水平升高呈正相关, 表明 IL-18 的水平升高可导致 sFas 水平的相应升高, 在 SLE 的发病中起重要作用, 但是其调节机制还有待于进一步研究。

**4.7 IL-18 与哮喘** 哮喘是多种炎症介质和炎症细胞参与的慢性炎症反应。IL-18 作为一重要细胞因子参与对各种炎症细胞的复杂调控。2002 年 Ho 等<sup>[15]</sup>报道比较 11 名哮喘患者、15 名肺结节病患者和 11 名健康人 3 组支气管肺泡灌洗液中 IL-18 的水平, 发现哮喘患者 IL-18 水平显著低于其他两组, 因此推测机体固有的 IL-18 水平低下可能是哮喘气道炎症发生机制。研究<sup>[16]</sup>表明, 在鼠的哮喘模型中 IL-18 阻止哮喘的气道炎症的机制归于 IL-18 阻止了 NF- $\kappa$ B 活性。Blankenberg<sup>[9]</sup>则从另一个角度研究了 IL-18 对过敏原诱导鼠的嗜酸性粒细胞的作用, 结果提示 IL-18 缺乏的小鼠肺中嗜酸性粒细胞明显高于对照组的野生鼠。腹腔内注射重组 IL-18 可将这些变化降低到与对照组一样的水平, 因此在体内, IL-18 不仅抑制抗原特异的 Th2 细胞的产生, 也可增加 FasL 的细胞数, 通过 FasL/FasL 的相互作用而影响细胞的凋亡, 从

而抑制抗原反应性局部炎症的发展。

IL-18 是具有多向生物学活性和功能的细胞因子, 在抗肿瘤免疫、心血管疾病以及免疫性疾病等多种疾病的发生发展过程中发挥重要作用, 其在更多种疾病中所表现的数值变化与疾病的关系仍在不断的探索中, 有待于对其生物活性、作用机制及调节机制作进一步研究。因此, IL-18 是一个值得关注和深入研究的细胞因子。

## 5 参考文献

- 1 Okamura H, Nagata K, Komatsu T, et al. A novel costimulatory factor for gamma interferon induction found in the livers of mice causes endotoxic shock. *Infect Immunol*, 1995, 63:3966-3972.
- 2 Ushio S, Namba M, Okura T, et al. Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in Escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein. *J Immunol*, 1996, 156:4274-4279.
- 3 Conti B, Jahng JW, Tinti G, et al. Induction of interferon-gamma-inducing factor in the adrenal cortex. *J Biol Chem*, 1997, 272:2035-2037.
- 4 Kohno K, Kataoka J, Ohtsuki T, et al. IFN-gamma-inducing factor (IGIF) is a costimulatory factor on the activation of Th1 but not Th2 cells and exerts its effect independently of IL-12. *J Immunol*, 1997, 158:1541-1550.
- 5 Micallef MJ, Ohtsuki T, Kohno K, et al. Interferon-gamma-inducing factor enhances T helper 1 cytokine production by stimulated human T cells: synergism with interleukin-12 for interferon-gamma production. *Eur J Immunol*, 1996, 26:1647-1651.
- 6 Tsutsui H, Nakanishi K, Matsui K, et al. IFN-gamma-inducing factor up-regulates Fas ligand-mediated cytotoxic activity of murine natural killer cell clones. *J Immunol*, 1996, 157:3967-3973.
- 7 张中桥. 血清 IL-18 是预测冠心病重要因子. *安徽医药*, 2006, 6:409.
- 8 Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, et al. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation*, 2002, 106:24-30.
- 9 Blankenberg S, Luc G, Ducimetiere P, et al. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation*, 2003, 108:2453-2459.
- 10 Mouzaki A, Theodoropoulou M, Gianakopoulos I, et al. Expression patterns of Th1 and Th2 cytokine genes in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) at presentation and their modulation by intravenous immunoglobulin G (IVIg) treatment: their role in prognosis. *Blood*, 2002, 100:1774-1779.
- 11 Yoshimoto T, Mizutani H, Tsutsui H. IL-18 induction of IgE: depen-

dence on CD4<sup>+</sup> T cells, IL-4 and STAT6. *Nat Immunol*, 2000, 1: 132-137.

12 梅妍, 周鸿鹰, 李爱冬, 等. 白介素-18 及信号转导和转录激活因子 5 在糖尿病大鼠视网膜的表达. *中华眼底病杂志*, 2005, 1: 58-260.

13 Kim SH, Cho D, Kim TS. Induction of in vivo resistance to *Mycobacterium avium* infection by intramuscular injection with DNA encoding interleukin-18. *Immunology*, 2001, 102: 234-241.

14 Chen DY, Hsieh TY, Hsieh CW, et al. Increased apoptosis of peripheral blood lymphocytes and its association with interleukin-18 in patients with active untreated adult-onset Still's disease. *Arthritis Rheum*, 2007, 57: 1530-1538.

15 Ho LP, Davis M, Denison A, et al. Reduced interleukin-18 levels in BAL specimens from patients with asthma compared to patients with sarcoidosis and healthy control subjects. *Chest*, 2002, 121: 1421-1426.

16 Zhang H, Zhang Z, Xu Y. Effects of interleukin-18 on asthmatic airway inflammation and nuclear factor kappa-B in murine models. *Chin Med J(Engl)*, 2003, 116: 323-327.

(收稿日期: 2010-01-26)

(本文编辑: 杨军)

## 消 息

### 2010 全国临床微生物与感染免疫学术研讨会

为了交流微生物学与免疫学领域国内外最新研究进展, 推动我国相关学科建设不断取得新的发展和成就, 中华医学会微生物学与免疫学分会拟于 2010 年 7 月在上海召开《2010 全国临床微生物与感染免疫学术研讨会》。届时将邀请知名专家作专题报告, 同时欢迎从事相关科研、教学、医疗、疾病预防与控制、检验检疫、生物技术研发等工作的专家学者积极投稿参会交流。本次会议被批准授予国家级继续教育 5 学分。现将征文有关事宜通知如下。

#### 1 会议主题

临床微生物感染免疫及相关生物技术的研究现状与展望。

#### 2 征文内容

临床微生物学与感染免疫相关基础研究、应用研究及产品研发的论著、研究报告、技术与方法、文献综述等。

1、病原微生物功能基因组学和蛋白质组学研究; 2、新发传染病的病原学、免疫学、流行病学、病理学及发病机理研究; 3、病原微生物的致病性、耐药性及医院内感染控制研究; 4、传染性疾病的预防、监控、诊断、防护及治疗; 5、病原微生物的遗传变异、分子生物学及检验诊断新技术、新方法研究; 6、现代生物技术及生物信息学在微生物学及免疫学研究中的应用; 7、感染免疫等相关基础研究与临床应用研究; 8、肿瘤免疫等相关基础研究与临床应用研究; 9、移植免疫及分子免疫等相关基础研究与临床应用研究; 10、新型生物技术药物及疫苗的相关研究等; 11、青年学术论坛(英文交流)。

#### 3 征文要求

3.1 所投稿件应尚未在有关杂志上公开发表, 也未在其他会议上交流, 文责自负。

3.2 来稿摘要在 1000 字以内, 采用 Word 文本编辑, A4 纸排版。征文截止日期至 2010 年 6 月 15 日, 来稿经学术委员会组织专家审定录取者将编入大会论文集交流。为方便联系, 来稿请注明第一作者联系电话、通讯地址、邮编及电子信箱。

#### 4 投稿方式

为便于管理, 所有应征稿件请一律通过大会网站注册、投稿。

#### 5 联系人

任浩: 上海第二军医大学微生物教研室(会议秘书处)

电话: 13761407190, E-mail: hmren@yahoo.com

刘亚君: 中华医学会学术会务部

电话: 010-85158122; 传真: 010-65123754

李银太: 中华医学会微生物学与免疫学分会秘书长

电话: 13501097751

#### 6 其他事宜

本通知复印有效, 研讨会议具体时间和地点另行通知。

联系人: 刘亚君

电话: 010-85158122

传真: 010-65123754

E-mail: hmren@yahoo.com

联系地址: 北京市东四西大街 42 号; 邮编: 100710