

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.09.046

# IL-35 在类风湿关节炎中抗炎促炎作用及与疾病指标的关系\*

李 泽<sup>1</sup>综述,韩崇旭<sup>2△</sup>审校

(1. 大连医科大学, 辽宁大连 116000; 2. 扬州大学临床医学院/苏北人民医院检验科, 江苏扬州 225001)

关键词: IL-35; 类风湿关节炎; 炎症

中图分类号: R446.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)09-1299-03

白细胞介素(IL)-35 是最近新发现的细胞因子,属于 IL-12 细胞因子家族,近年来最新研究发现,IL-35 的表达与类风湿关节炎(RA)的发生、发展具有密切联系。本综述重点阐述 IL-35 的组成,在 RA 中的抗炎、促炎作用及与疾病指标的关系。

## 1 IL-35 的组成与表达

IL-35 是最近新确认为 IL-12 家族的一种细胞因子,IL-12 家族主要包括 IL-12、IL-23、IL-27、IL-35。在 IL-12 家族细胞因子中,除 IL-35 外,大多由活化的抗原呈递细胞产生,如树突状细胞(DC)、单核细胞和激活的巨噬细胞,并且主要通过调节 T 细胞群体作为关键免疫发挥者来协调先天性和适应性免疫[1]。

IL-35 由一条  $\alpha$  链(p35 区域)和  $\beta$  链[EB 病毒诱导的基因 3(EBI3)]组成,通过二硫键连接,是一种异二聚体细胞因子[2-3]。其中  $\alpha$  链中的 p35 区域可与 p40 结合形成 IL-12, $\beta$  链中 EBI3 可与 IL-27 的 p28 亚基共享[4]。p35 的表达比较普遍。而 EBI3 表达是在 Epstein-Barr 病毒感染的 B 淋巴母细胞上清液中首次发现,后来研究表明 EBI3 主要在人类扁桃体和脾脏中表达;EBI3 和 p35 在人类足月的正常胎盘滋养层组织中高表达,提示 IL-35 在免疫耐受中起重要作用[5]。

IL-35 受体由 IL-12R $\beta_2$  高二聚体、gp130 同源二聚体或 IL-12R $\beta_2$ /gp130 异二聚体组成[2,6]。IL-12R $\beta_2$  可与 IL-12R $\beta_1$  形成 IL-12 的受体,与 IL-23R 形成 IL-23 受体。gp130 受体亚单位与许多细胞因子共享,包括 IL-27、IL-6[7]。所以与其他 IL-12 家族成员相比,IL-35 是非常特殊的,目前对 IL-35R 及其信号通路缺乏清晰的理解,也阻碍了对 IL-35 分子机制的进一步了解[2]。

## 2 IL-35 在 RA 抗炎及促炎中的作用

RA 是一种慢性炎症性疾病,主要由活化的滑膜成纤维细胞(SF)和免疫细胞相互作用,导致免疫介导的软骨破坏和骨侵蚀[3]。目前已经确定巨噬细胞,活

化的 T 细胞和 B 细胞及其产物包括肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )和 IL-1 $\beta$  和 IL-6 在 RA 的发病机制中起重要作用。IL-35 作为一种新的细胞因子,近年来研究发现与 RA 的发病机制同样具有紧密的关系。细胞因子的作用机制通常包括促炎作用和(或)抗炎作用。这两种类型的细胞因子共同促进细胞因子环境,其可以改变关节炎中的免疫细胞功能和其他免疫反应应答,以致病、促炎或保护、抗炎方式起作用[5]。

**2.1 IL-35 在 RA 中的抗炎作用** IL-35 作为免疫抑制因子首次于 2007 年被提出[8]。NAKANO 等[6]通过构建 IL-35 的表达载体并进行分析,研究表明 IL-35 参与 RA 中 Treg 介导的自身免疫抑制并且可以增强调节性 T 细胞(Treg)功能,重组人 IL-35 在体外高表达可增强天然 Treg 功能,并且抑制 RA 患者中 Treg 增殖和炎性细胞因子释放,如 IL-17 和 IFN- $\gamma$ [6-8]。

IL-35 不仅可以诱导 Treg 细胞,同时也可以诱导 Breg 细胞,这扩大了 IL-35 的调节范围。Breg 细胞可以产生 IL-35,且重组 IL-35(rIL-35)融合蛋白可诱导 Breg 细胞分泌 IL-10 和 IL-35,形成了 IL-35 产生的正反馈[2]。另外,有研究表明 IL-35 的抗炎作用高度依赖于 IL-10 的产生[3]。IL-35 + Breg 细胞介导的保护作用依赖于内源性 Breg 细胞和 Foxp3 + Treg 细胞的增殖以及对致病性 Th1 和 Th17 效应细胞的抑制[9]。

有学者经常用胶原诱导的关节炎(CIA)小鼠模型来模拟人 RA 的发生、发展。在 CIA 模型和 RA 中,血管生成都高度参与疾病进展,血管内皮生长因子(VEGF)在滑膜组织中促进血管生成,是形成血管翳的关键因素[10]。WU 等[11]建立 CIA 小鼠模型并向其腹腔注射 IL-35;同对照组相比,IL-35 处理的 CIA 小鼠关节指数(AI)和滑膜组织病理学指数显著降低。免疫组织化学评估 CIA 小鼠血管生成调节剂 VEGF 及其受体 Flt-1、Flk-1 与 vWF(它们是滑膜中血管生

\* 基金项目:国家“973”计划子课题项目(2015CB755402-004);苏北人民医院扶持技术项目(fcjs201748/fcjs201435)。

△ 通信作者, E-mail: hanchongxu@126.com。

成的标志物)的表达水平均降低。进一步用 RT-PCR 检测 IL-35 处理的 CIA 小鼠的 VEGF、Flt-1、Flk-1 和 TNF- $\alpha$  mRNA 表达水平低于 PBS 处理的 CIA 小鼠。而 INF- $\gamma$  mRNA 表达的水平不明显。WU 等<sup>[11]</sup>的研究提示 IL-35 可以通过抑制血管生成来调节 RA 的抗炎性反应。

YAGO 等<sup>[12]</sup>使用 RT-PCR 等技术分析破骨细胞前 IL-35 功能的分子机制。证实 IL-35 可以通过阻止 RANK-RANKL 信号传导在破骨细胞前体的功能和成熟破骨细胞的活化中起直接作用。此研究认为 IL-35 是一种抗破骨细胞的细胞因子,IL-35 可能是预防 RA 患者关节破坏的治疗靶点。

**2.2 IL-35 在 RA 中的促炎作用** 尽管上述数据表明 IL-35 具有免疫抑制作用,但其在动物疾病模型和人类疾病中的功能性参与方面仍然存在争议<sup>[3]</sup>。THIOLAT 等<sup>[13]</sup>研究发现,IL-35 基因在通过电转移后明显增加了小鼠胶原诱导的 CIA 的严重程度,流式细胞术结果也显示在受处理的小鼠脾脏和淋巴结中 Th17/Treg 比率明显升高。Th17 细胞被认为是炎症的启动子,而 Treg 是免疫抑制性的。在 RA 中,Treg/Th17 的不平衡有利于 Th17 细胞促进炎症的发生。

另一方面,FILKOVA 等<sup>[4]</sup>采用免疫组化和双重免疫荧光方法检测 RA 滑膜中 IL-35 及其亚基(p35/EBI3)的分布,发现两种亚基在滑膜组织中普遍表达。在滑膜成纤维细胞和外周单个核细胞中,TNF- $\alpha$ <sup>[3]</sup>炎症刺激可以增加 IL-35 的表达,IL-35 本身可诱导外周单核细胞中促炎介质 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 MCP-1 的释放。这些数据支持 IL-35 在人类中发挥促炎特性。

### 3 IL-35 表达水平与 RA 疾病指标的关联

早期 RA 患者可以通过相应治疗逆转一些炎症病变,因此 RA 的早期诊断十分重要,早期 RA 的诊断大多依赖一些血清学的检测,如类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸氨基酸(CCP)抗体等<sup>[14]</sup>。因此一些学者就 IL-35 的表达水平的高低及其与 RA 诊断相关的血清学指标之间的关系进行研究。

国内外学者<sup>[5-6,15]</sup>用酶联免疫吸附测定(ELISA)测量 RA 患者的血清 IL-35 水平,研究发现 RA 患者的血清 IL-35 水平显著低于健康对照组( $P < 0.05$ )。NAKANO 等<sup>[6]</sup>研究证明活动性 RA 患者血清 IL-35 水平和 Treg 数量均明显减少。孟博等<sup>[15]</sup>进一步用实时免疫荧光定量 PCR 检测到 RA 患者外周血单个核细胞(PBMC)中 IL-35 亚基 P35 mRNA 水平下降( $P < 0.05$ ),而 EBI3 mRNA 在各组中的表达并无差异。活动期 RA 患者 IL-35 水平明显低于缓解期和对照组,有可能是由于 IL-35 的主要来源是 Treg 细胞。

但与上述结论不同的是,SENOLT 等<sup>[16]</sup>和王磊等<sup>[17]</sup>同样分析了 RA 患者血清 IL-35 的水平,发现早期 RA 患者和快速进展期 RA 患者血清中 IL-35 的水平显著升高。但经抗风湿性药物和激素治疗后,血清 IL-35 水平显著下降。

NING 等<sup>[5]</sup>通过相关性分析发现 IL-35 与年龄、RF 或嗜中性粒细胞百分比之间呈负相关。NAKANO 等<sup>[6]</sup>、孟博等<sup>[15]</sup>和熊怡淞等<sup>[18]</sup>研究发现血清 IL-35 水平与 DAS28-CRP 呈负相关,但与 RF 无相关性。SENOLT 等<sup>[16]</sup>和王磊等<sup>[17]</sup>认为,局部滑膜液中 IL-35 的水平与疾病的活性存在相关性,以上研究均支持血清、滑膜液中 IL-35 在 RA 发病机制中的潜在作用。

### 4 讨 论

IL-35 的研究是一个新的领域,在人体内的生物学作用尚未被证实,并且仍然存在争议。学者们正在从不同的角度研究 IL-35 在 RA 中到底发挥着怎样的作用。

IL-35 主要由 Treg 产生,IL-35 可以通过抑制效应 T 细胞激活来抑制 RA 患者中的 Treg 增殖和炎性因子的释放,如 IL-17 和 IFN- $\gamma$ ,从而发挥抗炎的作用。另外 WU 等<sup>[11]</sup>学者认为 IL-35 可能通过抑制血管生成调节 RA 的抗炎性反应。YAGO 等<sup>[12]</sup>研究认为 IL-35 是一种抗破骨细胞的细胞因子,IL-35 可能是预防 RA 患者关节破坏的治疗靶点。但亦有研究表明 IL-35 在人体中具有促炎作用。如 THIOLAT 等<sup>[13]</sup>采用 IL-35 基因上调后反而加重了 CIA 的程度。质粒编码 IL-35 是由两个非共价结合的亚基构成的,不排除进入小鼠体内后,两亚基分开,因为单独的 p35 具有促炎效应。(1)这可以解释 IL-35 在 CIA 小鼠模型中表现出的促炎作用;(2)在 CIA 小鼠模型中 Th17/Treg 升高,Th17 被认为是炎症的启动子,Th17 增加会导致更严重的病理学结果;(3)FILKOVA 等<sup>[4]</sup>证实了在滑膜组织中 IL-35 的两种亚基表达增加,且 IL-35 可以促进单核细胞释放炎症介质;上述 3 点支持 IL-35 的促炎作用。因此推测 IL-35 在人体内充当的角色有可能取决于其所处的微环境,具体机制仍有待研究。

有学者对血清中 IL-35 的水平及其同 RA 的疾病指标之间的关系进行研究,表明 RA 患者血清 IL-35 水平低下。但上述学者研究结果的相反的是 SENOLT 等<sup>[16]</sup>和王磊等<sup>[17]</sup>发现早期 RA 患者和快速进展期 RA 患者血清中 IL-35 的水平显著升高。NING 等<sup>[5]</sup>认为 IL-35 与 RF 或嗜中性粒细胞百分比之间呈负相关。但 NAKANO 等<sup>[6]</sup>和孟博等<sup>[15]</sup>研究发现,血清 IL-35 水平与 DAS28-CRP 呈负相关,但与 RF 无相关性。这些研究存在差异可能的原因:(1)研

究的样本量的差异,大规模的数据分析会更有说服力;(2)采血期间患者的疾病状态存在差异,IL-35 的水平可能会随着 RA 的疾病状态而波动,从而反映 RA 疾病的活动状态<sup>[6]</sup>;(3)采用的疾病分期的标准不同。

综上所述,以上学者的研究表明 IL-35 可以参与 RA 的发生、发展,但仍需要进一步研究 IL-35 在炎症中的确切生物学作用,为 RA 的免疫治疗找到新的方向。

### 参考文献

[1] BLOCH Y,BOUCHAREYCHAS L,MERCERON R A, et al. Structural activation of pro-inflammatory human cytokine IL-23 by cognate IL-23 receptor enables recruitment of the shared receptor IL-12R beta 1[J]. *Immunity*, 2018,48(1):45-51.

[2] HUANG A,CHENG L,HE M, et al. Interleukin-35 on B cell and T cell induction and regulation[J]. *Inflammation*, 2017(14):16-20.

[3] KAM N W,LIU D H,CAI Z, et al. Synoviocytes-derived Interleukin 35 potentiates B cell response in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2018,45(4):563-573.

[4] FILKOVA M,VERNEROVA Z,HULEJOVA H, et al. Pro-inflammatory effects of interleukin-35 in rheumatoid arthritis[J]. *Cytokine*, 2015,73(1):36-43.

[5] NING X W,JIANG Z J,WANG W. Low serum levels of interleukin 35 in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2015,237(2):77-82.

[6] NAKANO S,MORIMOTO S,SUZUKI S, et al. Immunoregulatory role of IL-35 in T cells of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology*, 2015, 54 (8): 1498-1506.

[7] POPE R M,SHAHARRA S. Possible roles of IL-12-family cytokines in rheumatoid arthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2013,9(4):252-256.

[8] WANG Y,MAO Y,ZHANG J F, et al. IL-35 recombinant protein reverses inflammatory bowel disease and psoriasis through regulation of inflammatory cytokines and immune

cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2018,22(2):1014-1025.

[9] WANG R X,YU C R,DAMBUZA I M, et al. Interleukin-35 induces regulatory B cells that suppress autoimmune disease[J]. *Nat Med*, 2014,20(6):633-641.

[10] KASAMA T,YAMAZAKI J,HANAOKA R, et al. Biphasic regulation of the development of murine type II collagen-induced arthritis by interleukin-12 - Possible involvement of endogenous interleukin-10 and tumor necrosis factor alpha[J]. *Arthritis Rheum*, 1999, 42(1): 100-109.

[11] WU S Q,LI Y X,LI Y X, et al. Interleukin-35 attenuates collagen-induced arthritis through suppression of vascular endothelial growth factor and its receptors[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016(34):71-77.

[12] YAGO T,NANKE Y,KAWAMOTO M, et al. IL-35 inhibits human osteoclastogenesis from monocytes induced by receptor-activator of NF-kappa B ligand[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2018,43(2):148-154.

[13] THIOLAT A,DENYS A,PETIT M, et al. Interleukin-35 gene therapy exacerbates experimental rheumatoid arthritis in mice[J]. *Cytokine*, 2014,69(1):87-93.

[14] 李俊娥,张园园,韩公海,等. 类风湿关节炎相关血清学诊断指标研究进展[J]. *实用医技杂志*, 2017,24(10):1099-1102.

[15] 孟博,谢而付,周春刚. 类风湿关节炎患者血清 IL-35 的水平及其与疾病活动度的关系[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(4):277-280.

[16] SENOLT L,SUMOVÁ B,JANDOVÁ R, et al. Interleukin 35 synovial fluid levels are associated with disease activity of rheumatoid arthritis[J]. *PLoS One*, 2015,10(7): e0132674.

[17] 王磊,董红,孔继昌,等. 类风湿性关节炎患者血清、关节液 IL-35 水平的变化及意义[J]. *中国临床研究*, 2017,30(4):463-466.

[18] 熊怡淞,宋燕,俞娟,等. 类风湿关节炎患者外周血 Treg 细胞及其分泌 IL-35 水平检测与临床意义[J]. *重庆医学*, 2018,47(5):622-625.

(收稿日期:2018-08-11 修回日期:2018-12-18)