

编 译

IL-33/ST2 途径:治疗靶标和新型生物标记物

李 明¹, 刘耀文², 罗庆良^{1*}

(军事医学科学院 1. 放射与辐射医学研究所 2. 毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要:研究表明,白细胞介素-1受体家族成员 ST2 是炎症反应和自身免疫疾病中的孤儿受体。2005 年鉴定出一个新的细胞因子白细胞介素-33(IL-33),它是 ST2 的功能配体。IL-33/ST2 信号途径参与 T-细胞介导的免疫应答,最近又发现其在心血管疾病中具有重要作用。IL-33/ST2 信号途径不仅是很有前途的血管生物标记物,而且是心肌内成纤维细胞-心肌细胞信息交流的新型机制,可能成为预防心力衰竭的治疗靶标。

关键词: 白细胞介素-33; ST2; 炎症反应; 心血管疾病

中图分类号: R349.54 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2009)01-0057-04

2005 年,白细胞介素-33(IL-33)作为 ST2 的配体被发现,这为 ST2 信号途径提供了新思路。IL-33 是各种炎症性疾病的潜在介质。目前还发现其参与心血管病理生理学。本文讨论了 IL-33/ST2 作为炎症介质被发现的过程,但侧重于其作为新型心脏保护旁分泌途径的发现和靶向该途径在预防心肌纤维化和心力衰竭中的潜在治疗作用。

1 ST2 的基本生物学特点

1.1 结构

ST2 是 Toll 样/IL-1 受体(IL-1R)超家族成员之一。该超家族成员因常见的胞内结构域 Toll/IL-1R(TIR)而得名。该结构域含约 160 个氨基酸,由中央的 5 个 β -片层及周围的 5 个 α -螺旋组成,位于蛋白的胞质侧。Toll 样/IL-1R 超家族可根据其胞外结构域分为 3 个亚家族:IL-1R 样亚家族、Toll 受体亚家族及其衔接蛋白组成的家族。IL-1R 样亚家族的主要特点是在蛋白的胞外结构域上有 3 个连续的免疫球蛋白模序。该家族成员包括 I 型和 II 型 IL-1R(IL-1R1 和 IL-1R2)、IL-18R 及其辅助蛋白 IL-1RAcP 和 IL-18RAcP 和 ST2 等。

1.2 亚型

ST2 存在 4 种亚型,即 sST2, ST2L, ST2V 和

ST2LV。可溶 ST2(sST2,又名 IL1RL1-a)和跨膜形式的 ST2(ST2L,又名 IL1RL1-b)来自于一个促进 mRNA 差异表达的双重启动子。sST2 缺乏 ST2L 所有的跨膜和胞浆结构域,但含有由 9 个氨基酸组成的独特 C 端序列。ST2L 的总体结构与 IL-1 I 型受体相似,由 3 个细胞外的免疫球蛋白结构域、跨膜部分和 TIR 胞浆结构域组成。ST2V 和 ST2VL 是 ST2 的 2 个剪接变体。ST2 去掉第 3 个免疫球蛋白模序,并且在 C 端进行选择剪接形成一个独特的疏水尾即为 ST2V,而选择剪接去掉 ST2L 的跨膜结构域即为 ST2LV。

1.3 表达和组织定位

小鼠 ST2 最早在胎肝表达,成体则仅限于造血器官。更详细的研究表明,ST2L 仅在 Th2 和肥大细胞表面表达,而在 Th1 或其他免疫细胞不表达。因此 ST2L 可能是 Th2 细胞的效应标志物。

ST2L 最初在造血细胞中组成性表达,而 sST2 在多数情况下则局限在皮肤(包括成纤维细胞)、视网膜、乳房和成骨组织中诱导性表达。小鼠皮肤组织受到紫外线照射或前炎症细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1 α 和 IL-1 β 刺激后即可表达 sST2。与小鼠组织相比,人类中 sST2 的组成性表达可能更普遍。

1.4 ST2 配体的鉴定:IL-33

理解 ST2 功能的主要障碍是缺乏内源性功能配体。2005 年,IL-1 和成纤维细胞生长因子(FGF)蛋白结构叠加衍生的 β -三叶草型折叠序列被用于挖掘公共基因组数据库,由此在狗 cDNA 文库中发现

收稿日期:2008-12-09

作者简介:李明,女,在读博士研究生,研究方向:急性放射病实验治疗研究, Tel:010-66932227, E-mail:mingming_1130@163.com

* 通讯作者:罗庆良,男,研究员,博士生导师,研究方向:急性放射病实验治疗研究, Tel:010-66931390, E-mail:qingliangluo52@yahoo.com.cn

了一个 IL-1 家族新成员。小鼠和人类该候选基因的序列是通过表达序列标签校对演绎出来的,分别定位于人类 9p24.1 和小鼠 19qC1 染色体上。通过序列分析发现,该蛋白含有一个全长相对分子质量为 30 ku 的前导肽。该蛋白经体外翻译及 caspase-1 加工后产生一个可激活 ST2 受体的相对分子质量为 18 ku 的成熟蛋白。该蛋白被命名为 IL-33(又名 IL-1F11),现被分类为 IL-1 家族成员,其家族成员均含有一连串 12 个 β -链(IL-1/FGF β -三叶草型折叠),不含典型的分泌 N 端肽序列。

IL-33 含有一个推断的 DNA 结合结构域,定位于胞核,具体在异染色质亚结构域和有丝分裂染色体上。IL-33 N 端含进化保守的同源结构域螺旋-转角-螺旋(HTH) DNA 结合结构域,是核定位的充分必要条件,并且参与 IL-33 诱导的转录抑制。IL-33 前体需要 caspase 裂解才可产生具有核定位能力的成熟蛋白。

2 IL-33/ST2 信号途径

IL-33 的作用模式尚不十分清楚,但可能与其他 IL-1 家族成员尤其是 IL-1 β 和 IL-18 相似。有学者推测,IL-33 前体一经合成即进入特定的分泌型溶酶体。caspase-1 裂解 IL-33 前体,在溶酶体的导航作用下与溶酶体膜融合,最后使 IL-33 变成有活性的细胞因子释放到间质。然后 IL-33 与靶细胞膜上的受体相互作用来影响下游信号转导通路,或者转位到靶细胞核作为 DNA 结合因子起作用。

一般情况下,Toll 样受体/IL-1R 超家族成员一旦被激活,跨膜受体的 TIR 结构域即可与胞质衔接分子的 TIR 结构域二聚化。衔接蛋白 MyD88 及其相关蛋白 IL-1R 相关激酶(IRAK)通过 TNF 受体相关因子 6 (TRAF6) 信号途径激活下游有丝分裂原激活蛋白激酶激酶(MAPKK),MAPKK 反过来通过 c-Jun N 端激酶(JNK)激活激活蛋白-1。TRAF6 同时激活核因子- κ B(NF- κ B)激酶抑制剂复合物,导致 NF- κ B 从复合物中释放出来。

IL-33 的受体复合物由 ST2L 和 IL-1RAcP 组成。IL-33 在体内诱导的作用需要 IL-1RAcP 的参与。IL-33 激活的下游事件可能有胞外信号调节激酶(ERK)1/2,p38MAPK 和 JNK 的磷酸化和 NF- κ B 的激活。TRAF6 在 IL-33 介导的 NF- κ B 激活及下游 Th2 细胞因子的诱导中可能是必须的,但 IL-33 介导的 ERK 激活可能不依赖于 TRAF6。

3 sST2 作为诱骗受体

ST2L 介导 IL-33 对 Th2 依赖的炎症反应的影响,提示 sST2 可能会缓解 Th2 炎症反应。给予抗人 Fc 和 ST2 胞外结构域融合蛋白的抗体,可减轻雾化吸入卵清蛋白小鼠的肺嗜酸细胞增多症。给予融合蛋白也可得到相似的结果。在另一组实验中,给予 sST2 可抑制卵清蛋白暴露小鼠的脾细胞产生 Th2 细胞因子如 IL-4 和 IL-5,但并不抑制其产生 Th1 细胞因子 IFN- γ 。

在心血管系统中也可观察到 sST2 对 IL-33 信号途径的这种抑制效应。给予培养的新生大鼠心肌细胞重组 IL-33 可阻断血管紧张素 II 或苯肾上腺素诱导的异常增生作用。然而,给予 sST2 可逆转 IL-33 的这种抗异常增生作用。此外,佛波酯对培养的新生大鼠心肌细胞的生长刺激可导致总 IL-33 和 sST2 蛋白产生。然而,与 sST2-Fc 融合蛋白预培养后游离 IL-33 显著下降。以上结果表明,sST2 可与 IL-33 结合,从而调节 IL-33/ST2L 信号通路。

4 IL-33/ST2 在疾病中的作用

4.1 炎症性疾病

IL-33 最初被描述为炎症调节因子,可使平衡向 Th2 细胞介导的免疫应答倾斜。IL-33 是 Th2 细胞的趋化因子,可诱导产生 Th2 相关 IL-4,IL-5 和 IL-13。ST2 靶向缺失的小鼠 Th2 细胞成熟正常,但以抗原特异性的形式改变了 Th2 介导的反应。结果表明 ST2L 和 IL-4 的产生可作为 Th2 细胞亚群的特异性标志,每个条件对于抗原刺激的 Th2 免疫应答的启动都是充分非必要的。

ST2L 是 Th2 细胞表面标志物和功能调节的效应分子,后来证明 IL-33/ST2 在 Th2 反应相关疾病如哮喘、类风湿性关节炎、胶原血管病和胸膜恶性肿瘤中作用的研究均得出相同结论。

4.2 哮喘

很早就证实了 T 细胞在过敏原刺激的肺部反应中具有重要作用,Th2 细胞的贡献尤其大。几个在肺部炎症反应程度相近的模型中进行的实验均说明 sST2 在 Th2 细胞功能中起关键作用。小鼠 sST2 静脉基因转移或给予抗 IL-33 的免疫球蛋白可明显缓解雾化吸入卵清蛋白后的气道炎症。提示 IL-33/ST2 参与 Th2 介导的肺部免疫应答。

IL-33 可能还参与过敏原诱导的肥大细胞激活。人或小鼠肥大细胞受到 IL-33 刺激后可分泌各种白

细胞介素和趋化因子。给予外源性 IL-33 小鼠可发生气道高反应性和气道杯形细胞异常增生。预先给予 sST2 可使过敏原诱导的肺部炎症小鼠模型 Th2 细胞因子的产生减少。与健康人群相比,支气管哮喘急性加重患者血清 sST2 水平升高。另外,急性嗜酸性粒细胞肺炎患者血清和肺泡灌洗液中 sST2 水平平均升高。

4.3 纤维增生性病变

IL-33/ST2 可能参与组织损伤所致的纤维增生反应。平阳霉素(博来霉素)刺激后肺组织及培养的肺泡上皮细胞中 Th2 相关细胞因子升高的同时,ST2 的表达也逐渐升高。与上述研究结果一致,特发性肺纤维化急性加重患者(不包括稳定期患者)血清 sST2 水平升高。

肝毒素四氯化碳刺激的小鼠接受 sST2-Fc 融合蛋白处理后损伤后纤维化反应加速,肝内淋巴细胞分离物中 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 水平升高。这可能是融合蛋白阻断 TLR-4 介导的信号通路所致。

4.4 类风湿性关节炎和自身免疫性疾病

类风湿性关节炎主要是 Th1 占主导的细胞炎症反应。给予 Fc-sST2 融合蛋白可使 DBA/1 小鼠胶原诱导的关节炎严重程度和血清 IFN- γ 和 TNF- α 水平降低。该实验中融合蛋白如何发挥作用尚不清楚;然而,Th2 细胞因子未上调。

原位杂交结果显示关节炎患者滑膜中 IL-33 大量表达。全身性红斑狼疮、进行性全身硬化病、Wegener 肉芽肿或 Behcet 病患者血清中 sST2 水平升高,说明 IL-33/ST2 在多种自身免疫性疾病中起作用。

4.5 脓毒症和创伤

对脂多糖(LPS)刺激的小鼠(制备脓毒症模型)给予外源性 sST2 可使血清 IL-6、IL-12 和 TNF- α 水平降低,存活率升高。至于 LPS 刺激对肺脏的作用,体外实验显示 sST2 预处理可使小鼠肺泡巨噬细胞表达前炎症细胞因子减少。ST2 基因缺陷的小鼠不具备耐受内毒素反复刺激的能力。

4.6 恶性肿瘤

生长刺激细胞中 ST2 的诱导表达说明 ST2 和肿瘤发生之间可能具有某种联系。小鼠乳腺癌模型(该模型是 HA-Ras 癌蛋白诱导的乳房上皮细胞个体发生的近似模拟)中 HA-Ras 转基因表达可诱导 ST2 表达。另外,癌性胸膜炎患者胸水中 sST2 和 Th2 细胞因子 IL-4 和 IL-10 水平高于有胸水的结核

或心源性发病者。尽管这些结果很有启发性,但仍缺乏人类恶性肿瘤中 IL-33/ST2 激活的正式研究。

5 心血管疾病

5.1 sST2 作为生物标志物

2002 年,有研究采用微阵列法发现机械刺激的心肌细胞中 ST2 转录本明显上调。ST2 的跨膜和可溶形式均被诱导表达,可溶形式表达更强烈。体内实验显示,心肌梗死后心脏 ST2 转录本和血清 ST2 蛋白均增加。以上实验说明 ST2 可作为潜在的心脏机械超负荷生物标志物。

研究表明,sST2 可不依赖于利钠肽(BNP)提示预后。多因素分析表明,sST2 可在出现症状 30 d 内预测心血管死亡或充血性心力衰竭。基线 N 端前脑利钠肽(NT-pro-BNP)最高四分位组的 ST 段抬高心肌梗死(STEMI)患者 30 d 时心血管死亡或心力衰竭的风险比为 2.4,而基线 sST2 水平最高四分位组的患者风险比为 3.6。此外,sST2 四分位水平是传统的心肌梗死溶栓试验(TIMI)危险评分和 NT-pro-BNP 四分位水平预测心血管死亡或心力衰竭风险的补充。TIMI 危险评分低的 STEMI 患者中,sST2 和 NT-pro-BNP 水平位于最高四分位者 30 d 时发生心血管死亡或心力衰竭的风险增加 6.6 倍。TIMI 危险评分高且基线 sST2 和 NT-pro-BNP 水平位于最高四分位者发生心血管死亡或心力衰竭的风险增加 25 倍。

总之,sST2 作为生物标志物已反复被证实具有潜在的价值。测量急性呼吸困难或心肌梗死的急诊患者血清 sST2 水平可能为分层护理提供一些有用的预后信息。在这种意义上,血清 sST2 水平可与现有的生物标志物如常规检测指标 BNP 共同用于诊断。

5.2 IL-33/ST2 和心脏病

sST2 是心脏生物力学受损的标志物,说明 IL-33/ST2 可能是纤维化潜在的病理生理学介质。研究表明,ST2 基因在体外成骨组织中表达,sST2 定位于外皮组织的胞外基质中,提示 ST2 很可能参与基质成分的合成或稳定。心血管疾病中,sST2 可能参与心室基质重塑。心室压超载的体内模型中,部分大动脉收缩可使左心室成纤维细胞表达 IL-33 蛋白增强。在 ST2 种系缺失的小鼠体内进行该实验时,心室纤维化增加,继之心肌细胞肥大。此外,与野生型相比,ST2 裸鼠中房室肥大加重而射血分数(心室

功能的标志物)降低。与未处理对照相比,外源性 IL-33 处理的野生型小鼠心脏肥大缓解,BNP 基因表达水平增加,大动脉收缩后存活率提高。以上结果提示 IL-33/ST2 信号途径在生物力学负荷时成纤维细胞-心肌细胞间信息交流中可能具有未被认识的的心脏保护作用。

5.3 IL-33/ST2 和动脉粥样硬化

CD4⁺ 亚型中, Th1 细胞似乎在动脉粥样硬化斑块中占主导,在病灶进展中起决定作用。免疫应答起因于 Th1 和 Th2 作用之间的平衡,一方产生应答则另一方被抑制,那么可认为促进 Th2 应答具有保护作用。IL-33/ST2 途径在 Th2 细胞分化和激活中具有重要意义,因此进行了 IL-33/ST2 在动脉粥样硬化形成中作用的研究。载脂蛋白 E (ApoE) 种系缺失的小鼠动脉粥样硬化形成加速,IL-33 可减缓大动脉粥样硬化斑块的发展,诱导氧化修饰低密度脂蛋白 (ox-LDL) 血清抗体水平增加。相反地,给予诱骗受体 sST2 可导致大动脉斑块负荷明显高于对照,可能是由于抑制 IL-33 信号通路所致。IL-5 中和抗体可逆转 IL-33 的这种保护作用,并在不影响动物总脂肪特性的前提下使 ox-LDL 抗体表达下降。处理与未处理组斑块中巨噬细胞、T 细胞、平滑肌细胞和胶原含量相近。已有研究表明 IL-5 可诱导粥样斑块保护性 ox-LDL 抗体。总之,以上结果说明 IL-33 可能通过 IL-5 诱导 ox-LDL 抗体产生来发挥其抗动脉粥样硬化的作用。

6 IL-33/ST2 的调控

很久以来,ST2 都是炎症性疾病如哮喘和类风湿性关节炎药物治疗法的治疗靶标。尽管调节 IL-33/ST2 的方法尚未进入临床实践,治疗关节炎和脓毒症时给予 ST2 的潜在收益已有报道。然而,考虑到

IL-33/ST2 参与前述多种疾病的广泛病理过程,采用抑制 IL-33/ST2 途径的策略治疗普通炎症性疾病时务必谨慎,可能会产生非预期后果。

增加 IL-33/ST2 途径可能引发心脏保护作用。根据目前对于该途径的了解,这可能是通过多条途径实现的,包括直接给予 IL-33 或促进心脏成纤维细胞释放 IL-33,给予 ST2L 激动剂或 sST2 拮抗剂,给予分离衔接蛋白如 MyD88 或 MAL 的合成分子。详细阐明 ST2L 途径的胞浆和核内作用机制对于揭示心血管药物开发的独特靶标具有重要意义。采用刺激 IL-33/ST2 通路作为治疗策略时仍需谨慎,IL-33/ST2 的超生理学激活可能产生非预期后果,如炎症、自身免疫疾病(如哮喘、类风湿性关节炎)和某些胶原血管病的恶化。这些局限可能需要位点特异性递药系统的发展。IL-33 治疗引发的炎症程度取决于治疗剂量和持续时间,IL-33 短时治疗可能会改善心血管病预后,且仅出现最低限度的非预期炎症反应。初步研究显示 IL-33 短时治疗可阻止心肌细胞凋亡,改善实验性心肌梗死预后且不出肺部炎症。

7 结语

IL-33/ST2 作为胞内信号通路参与多种病理过程,如抗原/过敏原反应、自身免疫、器官纤维化和心脏损伤。目前正在进行该途径作用的研究。阐明 IL-33/ST2 在终末器官效应细胞及其环境之间尤其是环境基质和炎症细胞之间信息交流中的作用,可能对于发现哮喘、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化和心力衰竭等疾病的治疗新靶标具有重要意义。

[编译自:Kakkar R, Lee RT. The IL 33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(10):827-840.]

关注药物安全性

FDA 强调来那度胺引起的严重皮肤反应

最新一期 FDA 药物安全性新闻短讯调研了 14 个上市后出现严重皮肤反应报告,均与 Celgene 公司的来那度胺 (lenalidomide) 有关,时间从 2005 年 12 月美国批准后到 2008 年 1 月,包括 Stevens-Johnson 综合征,毒性表皮坏死症和多形性红斑。前两种严重皮肤反应的特点是不同程度的发热和表皮剥脱,可以威胁生命。其中需住院治疗的有 6 例,3 例死亡,其中 1 例死于 Stevens-Johnson 综合征,2 例死于多形性红斑。

(黄世杰)