

文章编号: 1004-0374(2009)04-0513-04

白细胞介素 21 的生物学功能及其抗肿瘤效应

李 栋¹, 俞慧清^{2,3}, 魏小元¹, 成国祥^{1,2,3*}

(1 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092; 2 上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海 200025;
3 上海转基因研究中心, 上海 201210)

摘 要: 白细胞介素 21 (IL-21) 属于 I 类细胞因子, 主要由活化的 CD4⁺ T 产生, 作用于免疫系统中的大部分骨髓、淋巴细胞, 具有广泛的生物学功能, 是联系主动免疫与被动免疫的中间因子。IL-21 能够调节体液和细胞介导的免疫应答, 促进 T 细胞增殖分化, 调节 B 细胞的增殖分化与凋亡, 增强 NK 细胞的细胞毒性作用与免疫监督功能。此外, IL-21 还具有抗肿瘤作用, 与其他细胞因子、疫苗等联合应用, 可增强其抑制肿瘤细胞生长的功能。该文综述了 IL-21 的生物功能及其应用于抗肿瘤治疗的研究前景。

关键词: 白细胞介素 21; 细胞因子; 免疫调节; 抗肿瘤作用

中图分类号: R392.12; R730.51 **文献标识码:** A

The biological function and antitumour effect of interleukin-21

LI Dong¹, YU Hui-qing^{2,3}, WEI Xiao-yuan¹, CHENG Guo-xiang^{1,2,3*}

(1 School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2 Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China;
3 Shanghai Transgenic Research Center, Shanghai 201210, China)

Abstract: Interleukin-21 (IL-21) is a type I cytokine and mainly produced by activated CD4⁺ T cells. IL-21 targets a broad range of lymphoid and myeloid cells of the immune system and therefore is able to regulate innate and acquired immune responses. IL-21 has effect on T-cell activation, B-cell Ig-production, NK-cell activation. Moreover, Many researchs demonstrated that IL-21 has antitumour activity in several preclinical models. When combining IL-21 with other cytokines or drugs, the antitumour activity can be enhanced. Here, we provide an overview about the biological function of IL-21 and its prospect in cancer therapy.

Key words: IL-21; cytokine; immunoregulation; antitumour

白细胞介素 21 (interleukin 21, IL-21) 是 Parrish Novak 等^[1] 在 2000 年发现的 I 类细胞因子^[1], 由活化的 CD4⁺ T 细胞、NKT 细胞、Tfh 细胞和 Th17 细胞产生, 与 IL-2、IL-4、IL-15 有较高的同源性, 属于 γ_c 家族成员。IL-21 能特异的结合白细胞介素 21 受体 (IL-21R), 激活 JAK/STAT 等信号转导途径, 表现出复杂的生物学效应。IL-21 具有广泛的免疫调节功能, 是免疫调控网络中的重要细胞因子, 能够对 B 细胞、T 细胞、NK 细胞等产生作用, 它可以调控 B 细胞的分化、凋亡及产生抗体的亚类, 促进 T 细胞介导的获得性免疫, 增强 NK 细胞

的细胞毒性及产生 IFN- γ 的能力, 介导主动免疫与被动免疫之间的转换。近年来的研究显示, IL-21 可有效的用于抗肿瘤的治疗^[2]。

1 IL-21 及其受体的特性

1.1 IL-21 的结构 人 IL-21 定位于 4 号染色体长臂上 (4q26-27), 转录一条由 642 个核苷酸组成的成熟

收稿日期: 2009-05-22; 修回日期: 2009-06-15

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目“863”项目 (2007AA100502)

* 通讯作者: E-mail: chenggx@cngenen.com; Tel: 51380608

mRNA, 编码162个氨基酸组成的蛋白前体, 其中前31个氨基酸为信号肽, 后面的131个氨基酸组成具有四螺旋结构域, 相对分子质量为15k的成熟IL-21。IL-21的5'调控区域含有三个T细胞激活核因子(NF-AT)结合位点, IL-21启动子的活性通过钙离子载体作用于细胞而产生。IL-21有两处DNase I超敏位点, 这两个位点在人和小鼠中都是保守的, 其中一个位于IL-21启动子区, 与TCR介导的IL-21转录有关^[3]。人IL-21受体是由独有的IL-21R α 亚单位(IL-21-R α)和共同 γ 链(common γ chain, γ c)组成的复合体^[1], 其中IL-21R α 为配体识别部位, γ c为信号转导单位。

1.2 IL-21的信号传递 IL-21的信号传递主要是通过JAK/STAT途径, IL-21与IL-21R结合时, 通过与 γ c的偶联, 激活JAK1和JAK3(特别是JAK3), 其中JAK1结合IL-21R α , JAK3结合 γ c。活化的JAK使STAT1和STAT3发生磷酸化, 磷酸化的STAT移行到细胞核内, 起到活化NF-AT的作用, 诱导IL-21表达。研究发现STAT1/STAT3基因双敲除鼠的CD8⁺T细胞对IL-21和IL-15刺激的增殖反应明显减弱。此外, 还有研究发现MAPK激酶(MAPK)和PI3K激酶(PI3K)通路被特异抑制因子阻断后, IL-21介导的增殖即被阻断^[4], 表明至少有JAK/STAT、MAPK和PI3K三种信号传递途径参与了IL-21介导的信号转导^[5]。

2 IL-21的免疫调控作用

2.1 IL-21对B细胞的作用 B细胞可产生各类抗体, 是获得性免疫中起主要功能的细胞, 其增殖与凋亡的调控十分重要, IL-21在维持体内B细胞的稳态中起到了不可替代的作用。IL-21对B细胞有正负两种调控形式: 通过共刺激可以促进B细胞的增殖与分化或者凋亡, 这是由与IL-21共刺激物的不同而决定的。IL-21联合 α -CD40可刺激B细胞增殖、抗体类别转换及浆细胞分化, 但却抑制了抗IgM抗体和IL-4激活的B细胞的增殖^[6]。研究发现, IL-21可通过活化前凋亡蛋白Bim, 下调抗凋亡蛋白Bcl-2和Bcl-xL的表达来诱导B细胞的凋亡^[7], IL-21还可调控B细胞产生抗体的类别, IL-21与IL-4/ α -CD40协同作用可诱导B细胞产生IgG1和IgG3之间的类别转换^[8]。IL-21通过抑制胚系C ϵ 的转录来阻止IL-4活化的B细胞产生IgE, 即对IgE的表达起抑制作用, 可用于对IgE依赖性的过敏性疾病的治疗^[9]。尽管IL-21R基因敲除小鼠的淋巴细胞发育正常, 但

相对于野生型小鼠来说, 其体内T细胞依赖性的IgE水平增高, IgG表达量降低。IL-21及IL-4双基因敲除小鼠出现了缺少IgG的异常丙种球蛋白血症, 说明IL-21等 γ c依赖性的细胞因子的失活可能是引起小鼠免疫缺陷综合征的最主要的因素之一^[10]。

2.2 IL-21对T细胞的作用 研究表明IL-21主要作用于初始和记忆性CD8⁺T细胞。IL-21可增强抗CD3抗体激活的CD8⁺T细胞的增殖, 并对细胞毒性T淋巴细胞(CTL)的分化起重要作用。在没有TCR信号的情况下, IL-21和IL-15、IL-7也可以协同作用诱导初始CD8⁺T细胞和记忆CD8⁺T细胞的增殖。IL-21还能抑制活化后的CD8⁺T细胞的自发死亡, 在维持CD8⁺T细胞对各种抗原的反应中发挥重要作用。IL-21也可以提高CD8⁺T细胞的溶细胞的活性。研究显示IL-21R α 链缺失小鼠的CTL细胞抵抗病毒编码抗原的能力显著下降^[11]。

IL-21可以抑制初始CD4⁺T细胞向Th1细胞分化, 抑制其合成IFN等细胞因子。体内外实验均表明IL-21优先表达于Th2细胞, 从而促进Th2细胞效应^[12]。IL-21在TGF- β 和IL-6的联合作用下, 使初始T细胞表达ROR- γ t, 分化成Th17细胞系, 抑制初始CD4⁺T细胞向调节T细胞(Treg)的分化, 克服Treg所介导的免疫抑制。而Th17细胞大量表达IL-21, 进一步引起Th17细胞表达IL-23R, 与IL-23结合可以诱导Th17细胞进一步产生IL-17、IL-21、IL-22以参与炎症反应^[13]。最近一项研究表明, IL-21可抑制FOXP3表达细胞的增殖, 促进CTL细胞的增殖, 增强杀伤力^[14]。

最新的研究发现T卵泡辅助细胞(Tfh)是一个独特的Th细胞系, 与Th1、Th2不同, 它由IL-21、IL-6激活STAT3信号通路表达。Tfh在生发中心(GC)抗体形成过程中起重要作用, IL-21是Tfh细胞自我分泌的生长因子, 如果没有IL-21, Tfh细胞将无法存活, 从而影响生发中心高亲和力抗体的形成及抗体的类别转换^[15]。

2.3 IL-21对NK细胞的作用 IL-21可诱导小鼠NK细胞终末分化, 增强NK细胞介导的细胞毒活性和免疫监视功能^[16]。IL-21控制了NK细胞的成熟、增殖和细胞溶解力。IL-21可诱导由IL-2活化的鼠骨髓和脾来源的DX5⁺NK细胞高表达IL-10和IFN- γ , 导致活化的NK胞质颗粒度增加、细胞体积增大和穿孔素表达增强而发挥抗肿瘤微转移灶形成作用, 以及通过活化NK细胞NKG2D受体而具有杀伤敏感肿

瘤细胞株的细胞毒作用^[17]。但 IL-21 不是早期 NK 细胞产生的必需细胞因子, 不能促进 NK 细胞的增殖, IL-21R 基因敲除小鼠有正常数目的 NK 细胞。同时, IL-21 可抑制 IL-15 或 IL-2 激活的成熟 NK 细胞的增殖并使其凋亡, IL-21 对于维持 NK 细胞的动态平衡具有较为重要的作用。这种对 NK 细胞增殖的限制, 对 NK 细胞毒性的增强以及对特异性 T 细胞活化的增强, 似乎可以说明 IL-21 是连接固有免疫向适应性免疫过渡的中间因子。

3 IL-21的抗肿瘤效应

3.1 抗肿瘤作用 IL-21 增强了机体的抗肿瘤能力, 其抗肿瘤作用是借助它在免疫调控网络中的机制而实现的。IL-21 通过增强 NK 细胞和 CD8⁺ T 细胞的杀伤活性, 诱导这些细胞分泌 INF- γ 或穿孔素等多种活性物质, 抑制肿瘤细胞生长^[17]。在 NK 细胞介导的抗肿瘤作用中, IL-21 可以促进 NK 细胞的分化和成熟, 与 IL-2、IL-15 一起增强 NK 细胞表达穿孔素和 INF- γ 。在 CD8⁺ T 细胞介导的抗肿瘤效应中, IL-21 增加了 CD8⁺ T 细胞表达穿孔素和端粒酶 B, 同时可以使肿瘤特异性的 CTL 细胞扩增^[11]。此外, IL-21 促进了肿瘤特异性 B 细胞的增殖与分化、产生肿瘤特异性抗体, 通过抗体依赖细胞介导的细胞毒作用 (ADCC) 来增强抗体介导的被动免疫。在一项实验中, 注射 IL-21 转化肿瘤细胞可抑制野生型小鼠神经胶质瘤细胞的生长, 却不能抑制 B 细胞缺失小鼠神经胶质瘤细胞的生长^[18], 由此可见, B 细胞对于 IL-21 介导的抗肿瘤免疫起到了较重要的促进作用。研究发现向肿瘤细胞中转入 IL-21 表达载体或注射重组 IL-21 蛋白溶液后, 肿瘤的生长得到了抑制。

3.2 IL-21 联合治疗策略 恶性肿瘤常具有多种逃避机体免疫监控的功能, 如下调肿瘤特异性抗原, 产生抗药基因、干扰机体免疫调控等。因此, 联合应用多种抗肿瘤方法可更好地清除肿瘤细胞, 减少肿瘤转移与复发。对于 IL-21 而言, 联合治疗可更好地发挥其抗肿瘤效应, 包括与其他细胞因子共激活效应细胞, 增强效应细胞杀伤功能, 强化抗肿瘤免疫反应, 促进肿瘤细胞凋亡等。

研究发现 IL-21 与 IL-2 联合应用可增强 CTL 细胞和 NK 细胞的杀伤功能, 加强抗原激活的 T 细胞反应, 表现出持续的抗肿瘤活性, 被应用于路易斯肺癌治疗研究^[19]。IL-21 联合 IL-15 可增强 CD8⁺ T 细胞的激活和产生 INF- γ 的能力, 抑制肿瘤细胞转

移及生长, 对淋巴瘤和黑色素瘤有较好的抑制作用^[20, 21]。同时, IL-21 能够激活 CD8⁺ T 细胞的功能, 并且可以长期诱导肿瘤特异性的 CTL 细胞发挥作用, 是作为肿瘤治疗疫苗佐剂的最好选择, 在 HIV 疫苗的研究中, IL-21、IL-15 与 HIV 疫苗联用, 增强了 HIV 疫苗的功效, HIV 疾病模型小鼠中病毒含量降低, 分泌病毒特异性 INF- γ 的 CD8⁺ T 细胞增多^[22]。IL-21 与肿瘤特异性抗体协同作用, 通过抗体特异性结合肿瘤细胞, 可增强 ADCC 作用, 从而促进 NK 细胞及巨噬细胞的杀伤和吞噬功能^[23], 研究表明, 在小鼠乳腺癌、肾癌和结肠癌模型中, IL-21 与三联抗体 (抗 DR5/ 抗 CD40/ 抗 CD137) 联用可以完全清除小鼠体内的肿瘤细胞^[24], IL-21 还可与抗 CTLA4 抗体联合使用, 抑制 CTLA4 对免疫反应的负调控作用, 初步研究显示该组合表现了特别的抗肿瘤功效。IL-21 与肿瘤细胞特异性凋亡因子 TRAIL 联用, 在促进肿瘤细胞凋亡的同时, 激活肿瘤特异性 CTL 细胞, 可协同进一步清除机体内的肿瘤细胞。此外, IL-21 与一些药物联用可以产生很好的治疗效果, 如与美罗华联用治疗非何杰金瘤, 与爱必妥联用治疗结肠直肠癌^[25]。然而, 在应用联合治疗发挥显著抗肿瘤效应的同时, 一些副作用, 如低血压、心动过速、恶心、腹泻等也会出现。因此, 针对不同的肿瘤选择不同的药物组合方案, 不同的使用剂量及使用方法, 以及如何在抗肿瘤功效与副作用之间选择一个平衡点有待于更进一步的研究。

4 展望

IL-21 是十分有潜力的可以应用于免疫治疗的细胞因子, 在免疫系统中发挥着广泛的免疫调节作用。在小鼠体内进行的大量临床前试验表明 IL-21 具有抗肿瘤作用, IL-21 在临床试验中也已通过了安全性评价。2005 年, 美国 FDA 批准白细胞介素 21 (ZymoGenetics 生产) 为治疗进展期和侵袭性黑色素癌和肿瘤的罕用药物, IL-21 作为一种新药研究已处于 II 期临床阶段。我们有理由相信, IL-21 可联合细胞因子、单抗、疫苗、化学药物等应用于更多肿瘤与疾病的治疗。因此, 进一步研究 IL-21 的作用机理及生物特性, 探索 IL-21 用于肿瘤治疗的潜能将给人类疾病的治疗带来新的希望。

[参 考 文 献]

- [1] Parrish-Novak J, Foster DC, Holly RD, et al. Interleukin-21

- and the IL-21 receptor: novel effectors of NK and T cell responses. *J Leukoc Biol*, 2002, 72(5):856-63
- [2] Skak K, Kragh M, Hausman D, et al. Interleukin 21: combination strategies for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(3):231-40
- [3] Spolski R, Leonard WJ. Interleukin-21: basic biology and implications for cancer and autoimmunity. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26:57-79
- [4] Zeng R, Spolski R, Casas E, et al. The molecular basis of IL-21-mediated proliferation. *Blood*, 2007, 109(10):4135-42
- [5] Benczik M, Gaffen SL. The interleukin (IL)-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes. *Immunol Invest*, 2004, 3(2):109-42
- [6] Parrish-Novak J, Dillon SR, Nelson A, et al. Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature*, 2000, 408(6808):57-63
- [7] Herrin BR, Justement LB. Expression of the adaptor protein hematopoietic src homology 2 is up-regulated in response to stimuli that promote survival and differentiation of B cells. *J Immunol*, 2006, 176(7):4163-72
- [8] Pène J, Gauchat JF, Lécart S, et al. Cutting edge: IL-21 is a switch factor for the production of IgG1 and IgG3 by human B cells. *J Immunol*, 2004, 172(9):5154-7
- [9] Suto A, Nakajima H, Hirose K, et al. Interleukin 21 prevents antigen-induced IgE production by inhibiting germ line $\text{C}\epsilon$ transcription of IL-4-stimulated B cells. *Blood*, 2002, 100(13):4565-73
- [10] Ozaki K, Spolski R, Feng CG, et al. A critical role for IL-21 in regulating immunoglobulin production. *Science*, 2002, 298(5598):1630-4
- [11] Smyth MJ, Hayakawa Y, Cretney E, et al. IL-21 enhances tumor-specific CTL induction by anti-DR5 antibody therapy. *J Immunol*, 2006, 176(10):6347-55
- [12] Nurieva R, Yang XO, Martinez G, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature*, 2007, 448(7152):480-3
- [13] Zhou L, Ivanov II, Spolski R, et al. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol*, 2007, 8(9):967-74
- [14] Li Y, Yee C. IL-21-mediated Foxp3 suppression leads to enhanced generation of antigen-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes. *Blood*, 2008, 111(1):229-35
- [15] Vogelzang A, McGuire HM, Yu D, et al. A fundamental role for interleukin-21 in the generation of T follicular helper cells. *Immunity*, 2008, 29(1):127-37
- [16] Wang G, Tschoi M, Spolski R, et al. *In vivo* antitumor activity of interleukin 21 mediated by natural killer cells. *Cancer Res*, 2003, 63(24):9016-22
- [17] Brady J, Hayakawa Y, Smyth MJ, et al. IL-21 induces the functional maturation of murine NK cells. *J Immunol*, 2004, 172(4):2048-58
- [18] Daga A, Orengo AM, Gangemi RM, et al. Glioma immunotherapy by IL-21 gene-modified cells or by recombinant IL-21 involves antibody responses. *Int J Cancer*, 2007, 121(8):1756-63
- [19] He H, Wisner P, Yang G, et al. Combined IL-21 and low-dose IL-2 therapy induces anti-tumor immunity and long-term curative effects in a murine melanoma tumor model. *J Transl Med*, 2006, 4:24
- [20] Zeng R, Spolski R, Finkelstein SE, et al. Synergy of IL-21 and IL-15 in regulating CD8⁺ T cell expansion and function. *J Exp Med*, 2005, 201(1):139-48
- [21] Strengell M, Matikainen S, Sirén J, et al. IL-21 in synergy with IL-15 or IL-18 enhances IFN- γ production in human NK and T cells. *J Immunol*, 2003, 170(11):5464-69
- [22] Bolesta E, Kowalczyk A, Wierzbicki A, et al. Increased level and longevity of protective immune responses induced by DNA vaccine expressing the HIV-1 Env glycoprotein when combined with IL-21 and IL-15 gene delivery. *J Immunol*, 2006, 177(1):177-91
- [23] Roda JM, Parihar R, Lehman A, et al. Interleukin-21 enhances NK cell activation in response to antibody-coated targets. *J Immunol*, 2006, 177(1):120-9
- [24] Smyth MJ, Teng MW, Sharkey J, et al. Interleukin 21 enhances antibody-mediated tumor rejection. *Cancer Res*, 2008, 68(8):3019-25
- [25] Davis ID, Skak K, Smyth MJ, et al. Interleukin-21 signaling: functions in cancer and autoimmunity. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(23):6926-32