

· 综述 ·

白细胞介素32在感染性疾病中的研究进展

邹美银 蒋道荣 朱勇根 汪美华

1992年, Dahl等^[1]在使用大剂量白细胞介素(interleukin, IL)-2刺激外周血细胞后发现了一种新的表达基因, 并从人自然杀伤细胞(natural killer, NK)细胞库中克隆出这种互补DNA(complementary DNA, cDNA), 此种cDNA被命名为NK4基因, 但在接下来的十二年中, NK4相关研究并无明显的进展, 其具体功能仍不为人知。直至2005年, 美国科罗拉多大学健康科学中心医学部的Kim等^[2]采用基因芯片技术研究IL-18可诱导高表达基因时, 再次意外获得了该基因, 并成功提取出NK4重组蛋白, 并将其命名为IL-32。初步研究表明, IL-32与多种疾病的发生、发展相关, 已成为目前临床研究热点之一。本文主要就IL-32在感染性疾病中的研究进展作一综述。

一、IL-32的研究概况

人源IL-32基因定位于染色体16p13.3上, 含有8个外显子, 跨长约5 kb, 第2个外显子含有1个起始密码ATG, 由于外显子的选择性连接, 产生6种剪切亚型: IL-32 α 、IL-32 β 、IL-32 γ 、IL-32 δ 、IL-32 ϵ 和IL-32 ζ 。Northern blot杂交分析提示人源IL-32 mRNA长为1.2 kb, 主要表达在脾脏、胸腺、小肠、结肠、白细胞、卵巢、前列腺和睾丸等部位, 且免疫组织中表达高于非免疫组织。IL-32可通过刺激T细胞、NK细胞、单核细胞和上皮细胞的内源性分泌和经基因重组技术而产生。IL-32呈现典型的促炎性细胞因子的多种性状^[3]。上皮细胞和单核细胞中IL-32主要由干扰素(interferon, IFN) γ 诱导产生; NK细胞中的IL-32主要由IL-12与IL-18共同刺激产生; 人外周血单核细胞中则由刀豆蛋白(concanavalin, Con) A刺激产生; 另外IL-2活化的NK细胞或丝裂原刺激的T细胞也能产生IL-32。IL-32可通过核因子(nuclear factor)- κ B通路^[4]、p38MAPK磷酸化通路^[5]、胱冬肽酶(cysteine-containing aspartate-proteases, Caspase)-1途径^[6]等信号转导通路发挥其生物活性。其生物学功能主要表现为: ①诱导T细胞凋亡^[3]; ②参与调节NK正常功能^[7]; ③诱导单核细胞向巨噬细胞分化^[8]; ④诱导细胞因子和趋化因子产生^[6]; ⑤促进炎性介质释放等^[9]。

研究表明, IL-32与多种疾病的发生、发展密切相关。Na等^[10]研究发现重症肌无力患者血清IL-32水平明显升高; 在阻塞性肺疾病急性加重期, 气道上皮由于炎症及氧化应激, IL-32水平亦有明显增加^[11]; 慢性鼻窦炎患者鼻窦上皮

细胞表达增多, IL-32参与了发病过程^[12]; 肾透明细胞癌患者中, 癌组织高表达IL-32组患者5年生存率显著低于低表达组, IL-32表达水平可作为预后判断的重要指标^[13]。在支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病、类风湿性关节炎、结肠炎、骨髓异常增生综合征、肺癌以及胰腺炎等多种疾病中, 均发现IL-32与炎症、病情的严重程度密切相关^[7, 14-19]。

二、IL-32在感染性疾病中的作用

近年来多项研究表明, IL-32在感染性疾病的发生、发展中起到重要作用。

1. 乙型肝炎病毒(HBV)感染: 研究发现急、慢性乙型肝炎患者IL-32水平较健康人群明显升高, 且急性乙型肝炎高于慢性肝炎患者; 在慢性乙型肝炎患者中, 随着病情加重, IL-32明显升高(重度>中度>轻度); IL-32与丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素(total bilirubin, TBil)水平呈正相关, 与白蛋白(albumin, ALB)水平呈负相关; 但HBV DNA低于检测下限者与阳性患者比较差异无统计学意义, 提示IL-32在急、慢性乙型肝炎的发生、发展中起到重要作用^[20]。Pan等^[21]通过体外实验研究发现, HBV感染后IL-32主要是由于HBx诱导NF- κ B活化产生, 且IL-32表达水平与HBx呈正相关。Xu等^[22]通过实时聚合酶链反应(real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)技术和免疫组织化学技术检测慢性乙型肝炎患者肝组织中IL-32表达水平, 研究发现肝组织中IL-32表达在严重肝脏炎症和纤维组织中显著升高, 且表达水平与血清ALT水平呈正相关, 与ALB水平呈负相关, 进一步表明IL-32参与慢性乙型肝炎的发生和发展过程。

2. 丙型肝炎病毒(HCV)感染: HCV感染与IL-32关系研究主要集中在慢性丙型肝炎。慢性丙型肝炎患者肝组织IL-32 mRNA表达水平与肝脏组织脂肪变性、炎症程度、纤维化程度、平滑肌肌动蛋白表达水平以及血清ALT水平呈正相关。体外实验研究表明, IFN- α 、IL-1 β 能诱导IL-32在Huh-7.5细胞表达, 但单独使用干扰素- α 则不能诱导IL-32表达, 却能诱导其在CD14⁺单核细胞中表达。此种表达差异主要是由于信号转导通路差异造成的(前者通过NF- κ B进行, 后者通过Jak/STAT进行)。研究还发现, HCV感染的Huh7.5表达IL-32较非HCV感染组明显升高, 但调节IL-32表达水平对HCV复制无明显影响^[23]。

3. 甲型H1N1流感病毒感染: 关于IL-32启动区研究表明, 在流感病毒感染时, NF- κ B、环氧酶(cyclo-oxygenase, COX)-2、cAMP反应结合蛋白(cAMP response element-binding, CREB)、诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.02.035

基金项目: 南通市社会发展项目(No. HS20120019)

作者单位: 226006 南通市, 南通大学附属南通第三医院感染科(邹美银、朱勇根、汪美华); 南通大学附属医院感染科(蒋道荣)

通讯作者: 蒋道荣, Email: jdr@ntu.edu.com

synthase, iNOS)活化IL-32转录过程中起到重要作用^[24-26]。Bae等研究发现^[27],甲型H1N1流感患者血清IL-32水平较健康对照人群明显升高,且与IL-6呈显著正相关;免疫荧光实验分析发现,甲型H1N1流感患者外周血白细胞亦表达IL-32,IL-32不具有直接抗H1N1作用,而是依赖于其诱导产生的免疫细胞因子。上述研究结果在Li等^[25]研究中也得到证实,同时还发现IL-32亚型均具有抗病毒作用。

4. 人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染:IL-32水平与HIV感染相关,HIV感染组患者外周血IL-32较健康组升高74%,HIV感染后能增强IL-32活性,促进IL-32蛋白和mRNA表达;体外实验研究发现,使用小干扰RNA(small interference RNA, siRNA)技术干扰IL-32表达,发现HIV p24药物干预20 h后较对照组显著升高,提示IL-32能够抑制HIV生长^[28]。另一项研究通过细胞因子蛋白微阵列分析还发现siIL-32的抑制效应主要通过作用于Th1、前炎症因子和趋化因子而产生,内源性IL-32减少的同时,HIV-1载量较正常对照组上升4倍,也得到类似结果^[29]。进一步研究发现,IL-32能减少HIV-1共同受体CCR5、CXCR4的配体,提示IL-32为HIV-1天然抑制物。Smith等^[30]研究则发现,HIV感染者中,IL-32主要表达在CD4⁺ T细胞、B细胞、巨噬细胞、树突状细胞以及上皮细胞中,能诱导免疫抑制分子吡啶胺-2,3-双加氧酶(indoleamine-2,3-dioxygenase, DOI)和Ig样转录因子4在体外免疫细胞中表达,研究结果提示IL-32可能促进HIV复制,维持病毒持续感染,与其他研究相矛盾,仍有待进一步证实。

5. 人乳头状病毒(human papillomavirus, HPV)感染:HPV持续感染与宫颈癌发生密切相关,在宫颈癌尤其在HPV阳性宫颈癌患者中,IL-32呈高水平表达。HPV-16 E7癌基因能诱导IL-32在宫颈癌细胞中表达,通过反义转染、基因敲除、过度表达等技术对照研究发现,使用HPV-16 E7反义引物能减少IL-32表达,而且IL-32能被COX-2抑制物NS398阻断,COX-2过度表达能导致IL-32表达增多。研究结果显示,HPV可通过HPV-16 E7介导COX-2刺激诱导IL-32表达增多;但研究还发现,在IL-32 γ 表达细胞中,HPV-16 E7和COX-2表达下调,使用siRNA技术干扰后二者表达则升高,提示在宫颈癌细胞中,HPV-16 E7和COX-2能够被IL-32反馈抑制^[31]。

6. 滤泡口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)感染:Bae等^[27]采用具有抗病毒活性的IL-32 γ 作用于VSV,未发现其有明确抗病毒作用,但将IL-32 γ 与单克隆抗体E1/H7共同培养后,其表现出明显的抗VSV作用,且能够保护WISH细胞不受VSV感染;单独使用单克隆抗-E1/H7,也未表现出抗VSV作用。但Zepp等^[32]研究则发现,低浓度IL-32能防止VSV诱导上皮WISH细胞死亡,同时使VSV水平下降3~4倍。IL-32 γ 到底是否需要与单克隆抗体E1/H7共同作用才能发挥抗VSV作用仍需进一步研究。使用特异性沉默技术研究表明,在缺乏IL-32情况下,VSV水平较使用低浓度IL-32高2~3倍;该研究还发现IL-32被沉默后,产干扰素- α 的单

核细胞产生的聚肌苷酸-胞苷酸基本消失,为开发抗VSV治疗药物提供了新的思路。

7. 疱疹病毒(herpes virus, HSV)-2感染:使用HSV-2转染上皮Vero细胞后,IL-32能够抑制该病毒复制;IL-32沉默后,病毒载量上升8倍。研究表明,IL-32通过PKR-Eif-2 α 、MxA途径起到抗病毒作用,而不依赖IFNs^[32]。但目前临床研究仍鲜见报道。

8. 结核分枝杆菌感染:结核分枝杆菌可通过Caspase-1、IL-18和IFN- γ 机制诱导IL-32的产生。使用结核分枝杆菌刺激外周血单核细胞后,其表达IL-32显著高于对照组,且随着结核分枝杆菌使用量的增多,IL-32表达量也明显增多;单核细胞为IL-32主要来源,但淋巴细胞也能表达少量IL-32^[33]。Bai等^[34]体外实验证明,结核分枝杆菌感染THP-1人巨噬细胞后,通过抑制内源性IL-32产生,发现对结核分枝杆菌有一定杀伤作用的细胞因子如IL-1 β 、IL-8和肿瘤坏死因子- α 均显著下降,同时发现抑制IL-32产生组结核分枝杆菌显著高于非抑制组,结果提示IL-32对结核分枝杆菌有一定的防御作用。

9. 鸟分枝杆菌复合体(myco bacterium avium complex, MAC)感染:由MAC引起的肺部疾病越来越多,IFN- γ 、IL-18、IL-12和TNF- α 对清除MAC起到重要作用。采用免疫组织化学及形态学分析定量检测IL-32在MAC肺炎中表达的研究发现,MAC感染者气道上皮中IL-32表达明显增多,主要表达在II型气道上皮细胞和巨噬细胞。内源性IL-32 γ 能明显减少巨噬细胞、BEAS-2B细胞内的MAC,使用siRNA干扰技术发现IL-32沉默后,单核细胞MAC表达量明显增多,考虑可能为IL-32能促进细胞凋亡,研究结果表明IL-32能提高机体清除MAC能力,同时也参与了MAC肺炎的发生和发展^[35]。

10. 幽门螺旋杆菌(helicobacter pylori, Hp)感染:Hp感染与胃炎、胃癌密切相关。IL-32参与胃炎的发生、发展,IL-32表达水平与胃组织病变程度相关。在非Hp感染胃黏膜中,IL-32很少表达,但在胃炎、胃癌组织中表达明显增多;Hp感染的胃上皮细胞系IL-32表达明显增加;其主要通过细胞毒素相关致病岛(cytotoxin associated gene pathogenicity island, cagPAI)基因和NF- κ B活化产生。IL-32在AGS细胞系中主要表达在胞质中,而上清液中不表达;Hp感染的IL-32敲除的AGS细胞系中,CXCL1、CXCL2、IL-18表达减少,且NF- κ B活化亦减少,提示IL-32能调节Hp感染胃黏膜细胞因子的表达^[36]。

三、结论和展望

IL-32作为一种新型前炎症因子,在多种感染性疾病发生、发展中起着重要作用。但是迄今为止,尚无研究能够明确IL-32在感染性疾病中的确切作用以及发挥免疫调节作用的机制。因此,进一步研究IL-32在感染性疾病中的作用以及与其相关的细胞因子、细胞因子受体如何相互作用尤为重要,可为感染性疾病发病机制的研究提供一个新思

路, 并有利于在治疗方面取得新的突破。

参 考 文 献

- Dahl CA, Schall RP, He HL, et al. Identification of a novel gene expressed in activated natural killer cells and T cells. *J Immunol*, 1992, 148(2):597-603.
- Kim SH, Han SY, Azam T, et al. Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNF-alpha. *Immunity*, 2005, 22(1):131-142.
- Goda C, Kanaji T, Kanaji S, et al. Involvement of IL-32 in activation-induced cell death in T cells. *Int Immunol*, 2006, 18(2):233-240.
- Shoda H, Fujio K, Yamaguchi Y, et al. Interactions between IL-32 and tumor necrosis factor alpha contribute to the exacerbation of immune-inflammatory diseases. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8(6):R166.
- Dinarello CA, Kim SH. IL-32, a novel cytokine with a possible role in disease. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(Suppl 3):61-64.
- Netea MG, Azam T, Ferwerda G, et al. IL-32 synergizes with nucleotide oligomerization domain (NOD) 1 and NOD2 ligands for IL-1beta and IL-6 production through a caspase 1-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(45):16309-16314.
- Marcondes AM, Mhyre AJ, Stirewalt DL, et al. Dysregulation of IL-32 in myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia modulates apoptosis and impairs NK function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(8):2865-2870.
- Netea MG, Lewis EC, Azam T, et al. Interleukin-32 induces the differentiation of monocytes into macrophage-like cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(9):3515-3520.
- Conti P, Youinou P, Theoharides TC. Modulation of autoimmunity by the latest interleukins (with special emphasis on IL-32). *Autoimmun Rev*, 2007, 6(3):131-137.
- Na SJ, So SH, Lee KO, et al. Elevated serum level of interleukin-32 alpha in the patients with myasthenia gravis. *J Neurol*, 2011, 258(10):1865-1870.
- Kudo M, Ogawa E, Kinose D, et al. Oxidative stress induced interleukin-32 mRNA expression in human bronchial epithelial cells. *Respir Res*, 2012, 13:19.
- Keswani A, Chustz RT, Suh L, et al. Differential expression of interleukin-32 in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Allergy*, 2012, 67(1):25-32.
- Lee HJ, Liang ZL, Huang SM, et al. Overexpression of IL-32 is a novel prognostic factor in patients with localized clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Lett*, 2012, 3(2):490-496.
- Meyer N, Christoph J, Makrinioti H, et al. Inhibition of angiogenesis by IL-32: possible role in asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 129(4):964-973.
- Calabrese F, Baraldo S, Bazzan E, et al. IL-32, a novel proinflammatory cytokine in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(9):894-901.
- Shoda H, Fujio K, Yamamoto K. Rheumatoid arthritis and interleukin-32. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(19-20):2671-2679.
- Choi J, Bae S, Hong J, et al. Paradoxical effects of constitutive human IL-32gamma in transgenic mice during experimental colitis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(49):21082-21086.
- Sorrentino C, Di Carlo E. Expression of IL-32 in human lung cancer is related to the histotype and metastatic phenotype. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180(8):769-779.
- Nishida A, Andoh A, Inatomi O, et al. Interleukin-32 expression in the pancreas. *J Biol Chem*, 2009, 284(26):17868-17876.
- 张艳, 许春梅, 左维泽, 等. 乙型肝炎患者外周血T细胞亚群、IL-32、IL-6水平的变化及其临床意义. *胃肠病学*, 2010, 15(8):471-474.
- Pan X, Cao H, Lu J, et al. Interleukin-32 expression induced by hepatitis B virus protein X is mediated through activation of NF-kappaB. *Mol Immunol*, 2011, 48(12-13):1573-1577.
- Xu Q, Pan X, Shu X, et al. Increased interleukin-32 expression in chronic hepatitis B virus-infected liver. *J Infect*, 2012, 65(4):336-342.
- Moschen AR, Fritz T, Clouston AD, et al. Interleukin-32: a new proinflammatory cytokine involved in hepatitis C virus-related liver inflammation and fibrosis. *Hepatology*, 2011, 53(6):1819-1829.
- Li W, Liu Y, Mukhtar MM, et al. Activation of interleukin-32 pro-inflammatory pathway in response to influenza a virus infection. *PLoS One*, 2008, 3(4):e1985.
- Li W, Sun W, Liu L, et al. IL-32: a host proinflammatory factor against influenza viral replication is upregulated by aberrant epigenetic modifications during influenza a virus infection. *J Immunol*, 2010, 185(9):5056-5065.
- Li W, Yang F, Liu Y, et al. Negative feedback regulation of IL-32 production by iNOS activation in response to dsRNA or influenza virus infection. *Eur J Immunol*, 2009, 39(4):1019-1024.
- Bae S, Kang D, Hong J, et al. Characterizing antiviral mechanism of interleukin-32 and a circulating soluble isoform in viral infection. *Cytokine*, 2012, 58(1):79-86.
- Rasool ST, Tang H, Wu J, et al. Increased level of IL-32 during human immunodeficiency virus infection suppresses HIV replication. *Immunol Lett*, 2008, 117(2):161-167.
- Nold MF, Nold-Petry CA, Pott GB, et al. Endogenous IL-32 controls cytokine and HIV-1 production. *J Immunol*, 2008, 181(1):557-565.
- Smith AJ, Toledo CM, Wietgreffe SW, et al. The immunosuppressive

- role of IL-32 in lymphatic tissue during HIV-1 infection. J Immunol,2011,186(11):6576-6584.
- 31 Lee S, Kim JH, Kim H, et al. Activation of the interleukin-32 pro-inflammatory pathway in response to human papillomavirus infection and over-expression of interleukin-32 controls the expression of the human papillomavirus oncogene. Immunology,2011,132(3):410-420.
- 32 Zepp JA, Nold-Petry CA, Dinarello CA, et al. Protection from RNA and DNA viruses by IL-32. J Immunol,2011,186(7):4110-4118.
- 33 Netea MG, Azam T, Lewis EC, et al. *Mycobacterium tuberculosis* induces interleukin-32 production through a caspase-1/IL-18/interferon-gamma-dependent mechanism. PLoS Med,2006,3(8):e277.
- 34 Bai X, Kim SH, Azam T, et al. IL-32 is a host protective cytokine against *Mycobacterium tuberculosis* in differentiated THP-1 human macrophages. J Immunol,2010,184(7):3830-3840.
- 35 Bai X, Ovrutsky AR, Kartalija M, et al. IL-32 expression in the airway epithelial cells of patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease. Int Immunol,2011,23(11):679-691.
- 36 Sakitani K, Hirata Y, Hayakawa Y, et al. The role of Interleukin-32 in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. Infect Immun,2012,80(11):3795-3803.

(收稿日期: 2012-10-10)

(本文编辑: 孙荣华)

邹美银, 蒋道荣, 朱勇根, 等. 白细胞介素32在感染性疾病中的研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7 (2): 299-302.

