

# 细胞因子及 免疫学检验

主编 崔天益

# 细胞因子及 免疫学检验

主 编 崔天盆

副主编 朱建华 陈 超 黄 伟

编 者 (以姓氏汉语拼音为序)

曹文操	陈 超	陈 杰	程贵莲	崔天盆	邓晓菲
韩 杨	胡志敏	黄 伟	黄 炎	高嘉嘉	贾 珉
姜 锐	李 妹	骆 静	罗 娟	马 涛	全紫瑶
饶亚华	苏斌涛	唐媚娜	王月芹	汪淑婷	吴兆立
熊 银	姚华宁	章 爽	赵 岚	朱建华	

绘 图 陈 超

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

细胞因子及免疫学检验/崔天益主编.—北京:人民卫生出版社,2018

ISBN 978-7-117-26904-9

I. ①细… II. ①崔… III. ①细胞因子-关系-免疫学-医学检验 IV. ①Q249②R446.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 166480 号

人卫智网	<a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	<a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	人卫官方资讯发布平台

版权所有,侵权必究!

细胞因子及免疫学检验

主 编:崔天益

出版发行:人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址:北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编:100021

E-mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线:010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷:北京教图印刷有限公司

经 销:新华书店

开 本:787×1092 1/16 印张:22

字 数:535 千字

版 次:2018 年 9 月第 1 版 2018 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号:ISBN 978-7-117-26904-9

定 价:99.00 元

打击盗版举报电话:010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

## 内容 简介

本书是一本介绍细胞因子和细胞因子免疫学检验的专著，其中，介绍的细胞因子包括白细胞介素-1~白细胞介素 39、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  干扰素、肿瘤坏死因子和转化生长因子；细胞因子的免疫学检验方法有酶联免疫吸附试验（ELISA）、免疫发光、电化学发光、酶联免疫斑点试验（ELISPOT）、液相芯片、流式细胞术、免疫印迹、免疫组化和单分子酶联免疫吸附试验等。无论是细胞因子风暴，还是目前生物制剂广泛应用、慢性非感染性疾病的预警，细胞因子的临床检测有广泛需求。各章重点突出、层次清楚、逻辑性强，文字力求通顺、流畅、简明。书中附上编者精心设计和绘制的 20 幅示意图，以求图文并茂。

本书可以作为医学检验工作者、临床医师的参考书，也可供生命科学、医学科研工作者参考。

# 序

在医学和生命科学中，免疫学已发展成一门重要学科。多种免疫细胞、免疫分子、细胞因子构成巨大的免疫网络系统，共同调控机体复杂的免疫应答反应。细胞因子作为免疫活性细胞之间传递信息的媒介，在免疫的发生、应答和效应等过程中发挥重要作用。在多种疾病，如恶性肿瘤、感染性疾病、炎症性疾病、自身免疫性疾病、代谢性疾病等，细胞因子的水平随疾病的发生和发展而不断变化。随着免疫学、分子生物学、病理生理学等多学科的迅速发展，以及检验新技术的不断涌现，丰富了我们对于细胞因子在疾病诊断、治疗、预后中的认识。通过检测患者体内细胞因子的变化，可以为临床疾病的诊断、治疗、疗效观察和预后判断等方面提供依据和帮助，为了解机体免疫平衡提供线索。

有鉴于此，崔天益博士和他的研究团队，查阅了可能获得的国内外有关资料，结合自己的工作经验和体会，编写了《细胞因子及免疫学检验》这本书，逐一详细介绍了各个细胞因子及其受体的基本结构、生理生化以及在疾病诊断和治疗中的作用的最新进展，为临床医生诊断、治疗疾病提供了理论依据。同时，该书还介绍了细胞因子的免疫学检验方法，为医学检验及科学研究提供了可靠的实验手段。该书的编者均为来自临床一线的经验丰富的检验专家、临床专家及科研机构的研究人员，为该书的质量提供了保证。该书配以大量精心制作的插图，可读性、实用性强，是一部既适用于临床检验人员、临床医师，又适用于从事生命科学研究的研究生的参考书。

吴健民

2017年10月17日

# 前言

细胞因子在机体免疫细胞之间、免疫细胞和非免疫细胞之间传递信息，在免疫应答与调节、免疫细胞分化和发育、组织修复、炎症反应、造血中发挥重要作用。细胞因子包括白细胞介素家族、干扰素家族、肿瘤坏死因子家族和转化生长因子家族，定性和定量检测这些细胞因子对于反映机体的免疫状态、疾病进程、预后具有重要临床价值。在全身炎症反应综合征（SIRS）患者体内常存在细胞因子风暴、SARS 冠状病毒、H7N9 流感病毒等病原体感染，也常因细胞因子风暴导致患者死亡；动脉粥样硬化、心力衰竭、哮喘、肾损伤、肿瘤、阿尔茨海默病、帕金森病、器官移植排斥反应、自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等也常有细胞因子的变化。

本书第一部分介绍了 39 个白细胞介素，第二部分介绍了三类主要干扰素，第三部分介绍了转化生长因子和肿瘤坏死因子。同时，每一种细胞因子分别从基因、蛋白质结构、功能及与疾病的关系等方面进行阐述。因此，有别于免疫学教科书介绍各种细胞因子共同特点的方法，本书一一介绍不同的细胞因子，为促进其在临床中的应用提供有力的理论依据。

第四部分介绍细胞因子的免疫学检验，既包括临床检验应用的酶联免疫吸附试验（ELISA）、免疫发光、电化学发光、酶联免疫斑点试验（ELISPOT），也包括科研应用较多的液相芯片法、流式细胞术、免疫印迹法、免疫组化法、单分子酶联免疫吸附试验等，为读者对细胞因子的免疫学检验有一个全面的了解。然而，没有一种方法能包罗万象，每种方法均有其适应范围和局限性，因此，如何选择正确、适合的方法，还需依据标本种类、分析的用途、可提供的设备及成本而定。

本书坚持用清晰的逻辑、简明的语言和恰当的语言尽力勾勒出细胞因子的基础知识和检测方法。但是，由于编者知识和能力水平有限，编写过程中，在内容、文字、编排、图表等方面可能存在不足之处，恳请各位同道与读者不吝赐教。

崔天盆

2017 年 11 月

# 目录

## 第一篇 白细胞介素

第一章 白细胞介素-1 .....	2
第二章 白细胞介素-2 .....	13
第三章 白细胞介素-3 .....	22
第四章 白细胞介素-4 .....	25
第五章 白细胞介素-5 .....	34
第六章 白细胞介素-6 .....	40
第七章 白细胞介素-7 .....	47
第八章 白细胞介素-8 .....	50
第九章 白细胞介素-9 .....	57
第十章 白细胞介素-10 .....	65
第十一章 白细胞介素-11 .....	75
第十二章 白细胞介素-12 .....	82
第十三章 白细胞介素-13 .....	96
第十四章 白细胞介素-14 .....	101
第十五章 白细胞介素-15 .....	102
第十六章 白细胞介素-16 .....	107
第十七章 白细胞介素-17 .....	112
第十八章 白细胞介素-18 .....	121
第十九章 白细胞介素-19 .....	131
第二十章 白细胞介素-20 .....	136
第二十一章 白细胞介素-21 .....	141
第二十二章 白细胞介素-22 .....	150
第二十三章 白细胞介素-23 .....	156

第二十四章	白细胞介素-24	164
第二十五章	白细胞介素-25	181
第二十六章	白细胞介素-26	191
第二十七章	白细胞介素-27	197
第二十八章	白细胞介素-28	204
第二十九章	白细胞介素-29	209
第三十章	白细胞介素-30	212
第三十一章	白细胞介素-31	213
第三十二章	白细胞介素-32	222
第三十三章	白细胞介素-33	231
第三十四章	白细胞介素-34	241
第三十五章	白细胞介素-35	245
第三十六章	白细胞介素-36	252
第三十七章	白细胞介素-37	260
第三十八章	白细胞介素-38	266
第三十九章	白细胞介素-39	269

---

## 第二篇 干 扰 素

---

第四十章	$\alpha$ 干扰素	274
第四十一章	$\beta$ 干扰素	280
第四十二章	$\gamma$ 干扰素	284

---

## 第三篇 其他细胞因子

---

第四十三章	转化生长因子- $\beta$	292
第四十四章	肿瘤坏死因子	299

---

## 第四篇 细胞因子的免疫学检验

---

第四十五章	酶联免疫吸附试验检测细胞因子	310
第四十六章	化学发光酶免疫试验检测细胞因子	312
第四十七章	电化学发光法检测白细胞介素-6	317
第四十八章	液相芯片法检测细胞因子	320
第四十九章	酶联免疫斑点试验检测细胞因子	325



# 目 录

第五十章 流式细胞术检测胞内细胞因子 .....	328
第五十一章 单分子酶联免疫吸附试验检测 IL-17A .....	332
第五十二章 免疫印迹法检测细胞因子 .....	335
第五十三章 免疫组化法检测细胞因子 .....	339
中英文缩略词对照表 .....	342

# 第一篇 白细胞介素

# 第一章

## 白细胞介素-1

### 一、白细胞介素-1 家族简介

#### (一) IL-1 家族简介

白细胞介素-1 家族 (interleukin-1 family, IL-1F) 包含 11 个成员, 可称作 IL-1F1~IL-1F11; 其中绝大多数是促炎性细胞因子, 主要通过刺激炎症和自身免疫病相关基因的转录, 诱导环氧酶 2、磷脂酶 A2、一氧化氮合酶、干扰素  $\gamma$  及黏附分子等效应蛋白的表达, 在免疫调节及炎症反应中扮演重要角色。近年来, IL-1 多数经典家族成员及其受体的信号传导途径和功能已经得到了广泛而深入的研究。

IL-1 家族包括 IL-1 亚家族, IL-18 亚家族和 IL-36 亚家族。其中, IL-1 亚家族包括 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-33 和 IL-1 受体拮抗剂; IL-18 亚家族包括 IL-18 和 IL-37; IL-36 亚家族包括 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$ 、IL-38、IL-36Ra (表 1-1)。IL-1 家族主要成员具有促进炎症和增强获得性免疫的作用, 也有些成员发挥抗炎作用。

表 1-1 白细胞介素-1 家族

家族名	通用名	缩写	特性
IL-1F1	interleukin-1 $\alpha$	IL-1 $\alpha$	促炎性
IL-1F2	interleukin-1 $\beta$	IL-1 $\beta$	促炎性
IL-1F3	IL-1-receptor antagonist	IL-1Ra	抗炎性
IL-1F4	interleukin-18	IL-18	促炎性
IL-1F5	IL-36-receptor antagonist	IL-36Ra	抗炎性
IL-1F6	interleukin-36 $\alpha$	IL-36 $\alpha$	促炎性
IL-1F7	interleukin-37	IL-37	抗炎性
IL-1F8	interleukin-36 $\beta$	IL-36 $\beta$	促炎性
IL-1F9	interleukin-36 $\gamma$	IL-36 $\gamma$	促炎性
IL-1F10	interleukin-38	IL-38	抗炎性
IL-1F11	interleukin-33	IL-33	促炎性

(二) IL-1 家族基因及氨基酸序列

IL-1 基因簇位于人体 2 号染色体，含有 9 个 IL-1 样基因，其中六个位于 IL-1A/IL-1B 与 IL-1RN 之间，分别是 IL-37、IL-36 $\gamma$ 、IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36RN 和 IL-38。

IL-1 亚家族包括 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-33 和 IL-1Ra，均有前体蛋白形式。IL-1 $\beta$  的前体蛋白在胞浆被胱天蛋白酶-1 剪切，成熟蛋白释放到胞外；而 IL-1 $\alpha$  前体蛋白被胞膜钙蛋白酶 (calpain) 和膜外中性粒细胞蛋白酶剪切而释放成熟蛋白；IL-33 前体也被膜外中性粒细胞蛋白酶剪切；而 IL-1Ra 则含有信号肽。

IL-18 亚家族包括 IL-18、IL-37 和 IL-18R $\alpha$ ，此亚家族的前体相对较小。IL-18 的前体蛋白需要被胱天蛋白酶-1 剪切才能活化；目前 IL-37 前体片段的剪切方式尚不清楚。

IL-36 亚家族包括 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$ 、IL-38、IL-36Ra，IL-38 能与 IL-36R 结合，故属于此亚家族。

IL-1 家族氨基酸的保守序列是 A-X-D (A 是亲水氨基酸如异亮氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸；X 是任何氨基酸；D 是天门冬氨酸)，此序列中的天门冬氨酸不是胱天蛋白酶-1 的切割位点。A-X-D 保守序列在维持 IL-1 家族三维结构的活性有重要意义。在 A-X-D 保守序列 N 端有 9 个氨基酸残基，当除去 N 端 9 个氨基酸残基后，IL-1 家族成员形成  $\beta$  折叠结构，其中，IL-1 $\beta$  的 N 端有 9 个氨基酸残基可被胱天蛋白酶-1 切割 (图 1-1)。

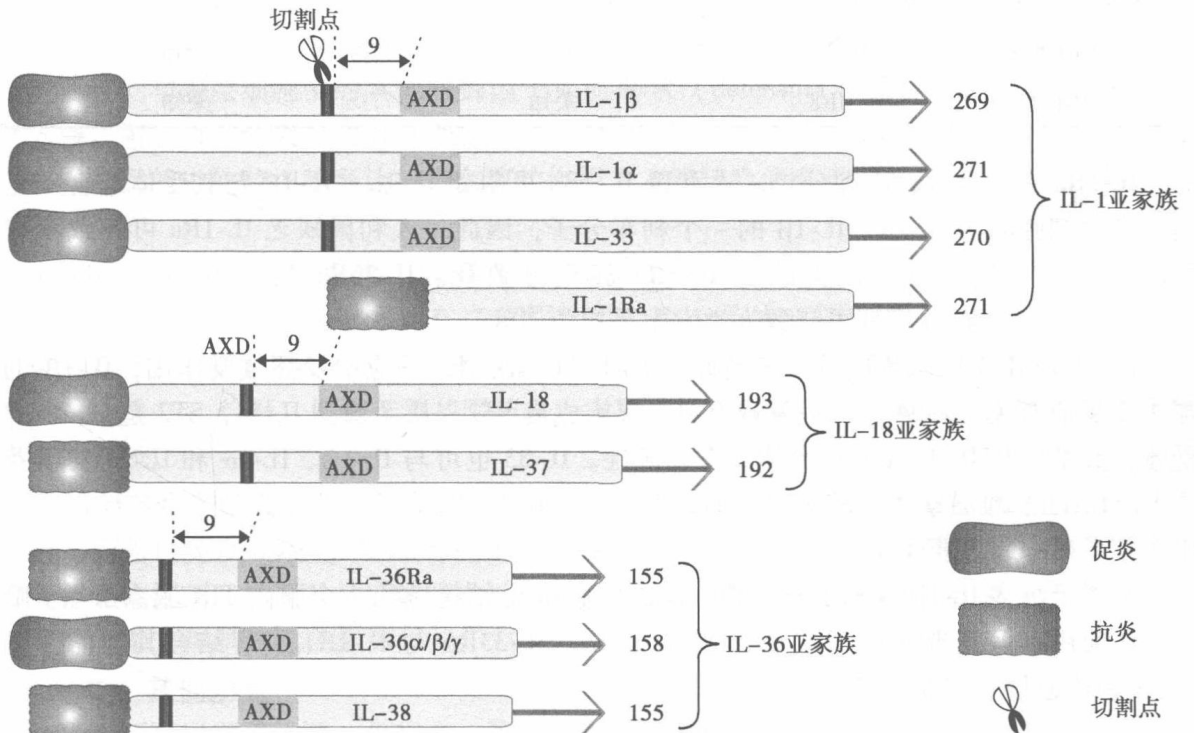


图 1-1 IL-1 家族细胞因子的蛋白结构

二、白细胞介素-1 受体家族

IL-1 受体家族包括 11 个成员 (表 1-2)，它们的共同特征表现为：胞外段含 3 个免疫球蛋白样区 (IL-18BP、TIR8 除外)；胞内含类似于 TLR 信号通路的 MyD88 信号通路所需

的 TIR 结构域。TIR 结构域是细胞感受微生物感染、启动固有免疫和炎症反应的关键感受器。IL-1 受体家族可形成 4 个受体复合物，即 IL-1R 复合物 (IL-1R1 和 IL-1RAcP)、IL-33R 复合物 (ST3 和 IL-1RAcP)、IL-18R 复合物 (IL-18Ra 和 IL-18Rb) 和 IL-36R 复合物 (IL-1Rrp2 和 IL-18BP)，其中，IL-1RAcP 为 IL-1R I 受体辅助蛋白 (IL-1R I accessory protein)。除了这四种受体复合物外，同时还包括 TIR8，它是 IL-1 负调节因子 (图 1-2)。

表 1-2 IL-1 受体家族

名称	描述	配体	共受体
IL-1R I	IL-1R1	IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-1Ra	IL-1RAcP (IL-1R3)
IL-1R II	IL-1R2	IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\beta$ 前体	IL-1RAcP (IL-1R3)
IL-1RAcP	IL-1R3	IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$ 、IL-33、IL-36	不适用
ST2/IL-33R $\alpha$	IL-1R4	IL-33	IL-1RAcP (IL-1R3)
IL-18R $\alpha$	IL-1R5	IL-18、IL-37	IL-18R $\beta$ (IL-1R7)
IL-1Rrp2	IL-1R6	IL-36 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$	IL-1RAcP (IL-1R3)
IL-18R $\beta$	IL-1R7	IL-18	不适用
TIGIRR-2/IL-1RAPL	IL-1R8	未知	未知
TIGIRR-1	IL-1R9	未知	未知
SIGIRR	IIR8	未知	未知

IL-1Ra 一旦合成，立即分泌。人和鼠 IL-1Ra 可阻断 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  与其受体结合，充当促炎性细胞因子 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的一个刹车分子，因此，人和鼠缺乏 IL-1Ra 可导致系统和局部炎症反应增强，人类缺乏 IL-1Ra 甚至可致死。IL-36Ra 拮抗 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$  活性，IL-36Ra 突变可导致人类发生严重银屑病。

IL-33 是 IL-1 亚家族成员，之前称为 IL-1F11，在 Th2 反应中发挥重要作用，IL-1 $\beta$  也与 Th2 反应有关。1994 年，因发现 IL-1R 家族成员 ST2，从而预测 IL-33，ST2 是 IL-33 的受体，其结构与 IL-1、IL-1 $\alpha$  受体具有同源性。IL-33 也可与 IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$  和 IL-36 共用受体 IL-1RAcP。雌激素诱导转录因子 Fos 活性进而调节 ST2 表达，雌激素的这个特性在调节 IL-1 和炎症中起重要作用。

类似于很多 IL-1R 家族成员，ST2 有 3 个胞外 Ig 结构域和 1 个胞内 TIR 域。虽然 ST2 仍然在使用，但其现在被正式命名为 IL-33R $\alpha$ 。IL-33R $\alpha$  与 IL-1R1 一样结合其配体，但 IL-33R $\alpha$  传递信号需要 IL-1RAcP。

### 三、白细胞介素-1 家族生物学功能

#### (一) IL-1 家族与天然免疫反应

在除人类外的大部分哺乳动物体内，病原体或其产物作用于宿主时，宿主通过增加防御反应，吞噬细胞浸润到感染部位，限制感染和杀灭病原体，肝脏合成急性时相反应蛋白，如抗蛋白酶等多种方式保护机体。

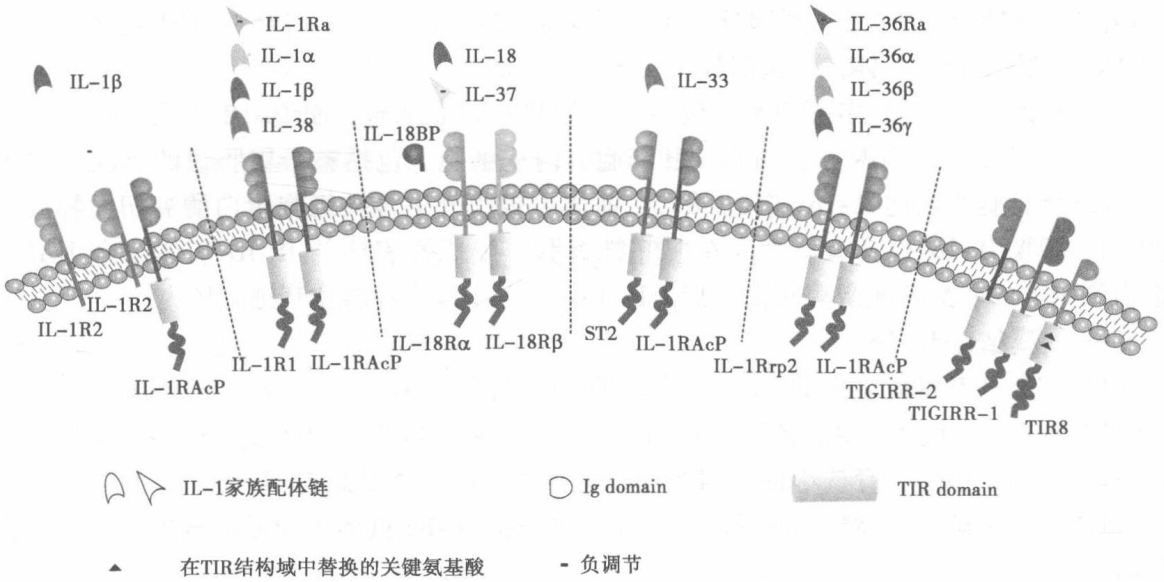


图 1-2 IL-1 家族细胞因子受体复合物

皮肤中的角质形成细胞 (keratinocytes)、气道上皮细胞或胃肠道上皮细胞构成防止微生物入侵的第一道防线，这几种细胞均表达 IL-1α、IL-18、IL-33 和 IL-36 家族成员，对损伤迅速发生应答反应，故它们又被称为警报素 (alarmins)，警醒宿主启动免疫应答或炎症反应。它们与表层细胞中的其他防御因子如防御素 (defensin) 共同作用，直接抵抗微生物入侵。第一道防线表达的 IL-1 家族成员除了 IL-1α 均为前体形式，前体形式活性较低，只有在浸润的中性粒细胞释放的蛋白酶的作用下才能转换成有活性的形式，杀灭入侵的微生物。

1989 年，Curtis BM 克隆小鼠 IL-1 受体，发现 IL-1 受体的胞浆与 1991 年 Gay NJ 和 Keith FJ 发现的果蝇 Toll 受体具有高度同源性。IL-1 受体家族和 TLR 家族均有 TIR 域，TIR 域结合信号分子 MyD88，MyD88 也含有 TIR 域，TIR 域-TIR 域相互作用触发激酶瀑布反应，传递 IL-1 信号，促进下游基因转录，主要包括其他类型的细胞因子、趋化因子及宿主炎性介质。

Charles J 提出天然免疫反应辅助宿主的获得性免疫反应的学说，即“天然免疫反应”调节“获得性免疫反应”，譬如有些天然免疫反应细胞因子如 IL-2、IL-4、IL-6 或淋巴细胞受体，像佐剂一样调节淋巴细胞生长因子，促进淋巴细胞克隆扩增，导致其产生中和抗体或细胞毒 T 细胞清除病原体。

### (二) 其他功能

IL-1 还可以调节体温、骨吸收、肌肉蛋白水解及通过 TNF 间接调节恶病质。在 T 细胞活化过程中，IL-1 与 IL-6，IL-21，IL-23 和 TGF-β 一起促进 Th17 细胞分化。

## 四、白细胞介素-1α

从进化角度来看，IL-1α 是 IL-1 家族最古老成员，其原始氨基酸序列与成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 高度相关。类似于 FGF，IL-1α 无信号肽，能与核

DNA 结合, 细胞死亡时释放到胞外, 可与受体直接结合。IL-1 $\alpha$  结合 IL-1RI 受体, 招募 IL-1RAcP, 形成异二聚体, 传递信号, 诱导炎症反应。

IL-1 $\alpha$  组成性表达于多种细胞, 包括正常细胞和肿瘤细胞, 而 IL-1 $\beta$  则没有组成性表达。角质形成细胞、胸腺上皮细胞、肝细胞、内皮细胞、包括整个胃肠道的黏膜上皮细胞、成纤维细胞均表达 IL-1 $\alpha$  前体。IL-1 $\alpha$  前体可被膜外中性粒细胞蛋白酶剪切而释放活性蛋白, 膜型 IL-1 $\alpha$  也具有活性。在成纤维细胞, 组成性表达的 IL-1 $\alpha$  前体结合 HAX-1 (造血细胞内的非酪氨酸激酶底物) 后, IL-1 $\alpha$ -HAX-1 复合物转位到细胞核内。

### (一) 膜结合 IL-1 $\alpha$

单核细胞和 B 细胞表面的 IL-1 $\alpha$  前体, 即为膜结合 IL-1 $\alpha$ , 膜结合 IL-1 $\alpha$  具有活性, 其活性可被抗 IL-1 $\alpha$  抗体中和, 而不被抗 IL-1 $\beta$  抗体中和。内皮细胞在压力诱导下发生凋亡时, 释放的凋亡小体含有核小体、组蛋白、完整 IL-1 $\alpha$  前体及成熟 IL-1 $\alpha$ 。将此凋亡物注入小鼠体内, 可诱导中性粒细胞浸润, 然而, 给予抗 IL-1 $\alpha$  抗体干预后可减少中性粒细胞浸润。

### (二) 处理和分泌 IL-1 $\alpha$

虽然 IL-1 $\alpha$  前体也具有活性, 但分泌型 IL-1 $\alpha$  活性更强。采用重组 N 端 113 个氨基酸残基的 IL-1 $\alpha$  可与 IL-1R 结合, 钙蛋白酶 II (calpain II) 促进 IL-1 $\alpha$  前体的剪切, 且依赖钙离子。使用氢醌 (hydroquinone) 处理巨噬细胞, 钙蛋白酶 II 水平下降, 抑制 IL-1 $\alpha$  前体的剪切。同时, IL-1 $\alpha$  与 IL-1 $\beta$  结合, IL-1 $\beta$  作为伴侣蛋白, IL-1 $\alpha$  的分泌依赖于 IL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  缺陷小鼠不能分泌 IL-1 $\alpha$ 。也有研究表明, IL-1 $\beta$  可结合 HMGB-1, 并增强 HMGB-1 活性, IL-1 $\alpha$  分泌到胞浆外可与 IL-1 $\beta$  和 HMGB-1 两者结合。

### (三) 组成性表达 IL-1 $\alpha$ 的生物学功能

尽管有很多用细菌和真菌诱导细胞因子的炎症性疾病模型, 但是更多的炎症性疾病是无菌性炎症, 如动脉粥样硬化、心肌梗死、脑卒中、肿瘤、肾和肝功能衰竭等, 无菌性炎症不依赖 TLR2 和 TLR4 信号通路。无菌性炎症中, 缺血及低氧导致局部坏死, 释放包括核酸在内的胞内容物, 其中包括 IL-1 家族成员, IL-1 $\alpha$  与局部巨噬细胞、上皮细胞表面 IL-1R 结合, 触发炎症反应, 导致中性粒细胞及单核细胞浸润。研究表明, 肿瘤细胞分泌物诱导中性粒细胞浸润的炎症反应, 可被缺乏 IL-1R 或中和 IL-1 $\alpha$  而抑制, 但是不被中和 IL-1 $\beta$  抑制。

无论是 IL-1 $\alpha$  前体, 还是 IL-1 $\alpha$ , 均是警报素, 能快速启动炎症反应。内皮细胞因营养素缺乏, 释放含有 IL-1 $\alpha$  前体和 IL-1 $\alpha$  的炎性凋亡体, 炎性凋亡体诱导趋化因子和中性粒细胞浸润于血管周围, 都有赖于 IL-1 $\alpha$  的参与。血小板既含 IL-1 $\alpha$  也有 IL-1 $\beta$ , 血小板源 IL-1 诱导内皮细胞释放趋化因子如 IL-8 及单核细胞释放 MCP-1。血小板源 IL-1 在脑卒中导致的脑损伤和动脉粥样硬化中均有重要作用。

### (四) 基于 IL-1 $\alpha$ 缺陷小鼠的研究

实验研究表明 IL-1 $\alpha$  缺陷小鼠几乎不影响小鼠发育。在一些局部和全身炎症模型中, IL-1 $\alpha$  缺陷小鼠体内出现发热和急性时相反应, 而 IL-1 $\beta$  缺陷小鼠则不能产生相应反应。与野生小鼠和 IL-1 $\beta$  缺陷小鼠相比, IL-1 $\alpha$  缺陷小鼠高脂肪饮食诱导后, 体内动脉粥样硬化标志物和淀粉样蛋白 A 水平显著降低; 且 IL-1 $\alpha$  缺陷小鼠体内非高密度脂蛋白胆固醇水平较高, 表明膜型 IL-1 $\alpha$  在动脉粥样硬化的发生发展中起重要作用。

糖皮质激素抑制 IL-1 $\beta$  缺陷小鼠体内的炎症反应,但对 IL-1 $\alpha$  缺陷小鼠没有作用。IL-1 $\alpha$  缺陷小鼠脑部 IL-1 $\beta$  表达降低 1.5 倍,而 IL-1 $\beta$  缺陷小鼠脑部 IL-1 $\alpha$  表达降低 30 倍。上述数据表明,IL-1 $\beta$  显著调控 IL-1 $\alpha$  表达,而 IL-1 $\alpha$  对 IL-1 $\beta$  表达的调控能力较小。同时,胱天蛋白酶-1 缺陷小鼠体内,IL-1 $\alpha$  表达也明显降低。

## 五、白细胞介素-1 $\beta$

### (一) IL-1 $\beta$ 是 IL-1 家族的重要成员

IL-1 $\beta$  是重要的炎性细胞因子,IL-1 $\beta$  和 IL-1 $\alpha$  结合相同的受体 IL-1RI,启动促炎性反应。在发现树突状细胞之前,由于巨噬细胞分泌 IL-1 $\beta$ ,IL-1 $\beta$  被认为在巨噬细胞抗原递呈中起重要作用。无活性的 IL-1 $\beta$  可被胞内胱天蛋白酶-1 水解成有活性的 IL-1 $\beta$ ,当 IL-1 $\beta$  基因内胱天蛋白酶-1 剪切位点突变后,可导致致死性炎症反应,当阻断受体信号转导或采用 IL-1 $\beta$  中和抗体,可逆转这种炎症反应。同时,IL-1 $\beta$  中和抗体可以治疗 IL-1 $\beta$  介导的慢性炎症。

IL-1 $\beta$  还参与介导一类不同于经典自身免疫的“自身炎症反应 (auto-inflammatory)”的疾病。虽然自身炎症反应和自身免疫反应都是炎症反应,但是自身炎症反应主要是 IL-1 $\beta$  介导的,获得性免疫反应不参与其反应过程。

### (二) IL-1 $\beta$ 是诱导细胞因子

区别于 IL-1 $\alpha$ ,IL-1 $\beta$  前体在正常情况下不表达。健康人外周血单核细胞、骨髓细胞并没有 IL-1 $\beta$  mRNA 的组成性表达,同时,组成性表达 IL-1 $\alpha$  和 IL-33 前体的内皮细胞、皮肤角质细胞、成纤维细胞和上皮细胞不组成性表达 IL-1 $\beta$ ,即使予以 TLR 配体刺激也不表达。IL-1 $\beta$  主要由活化的单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、B 细胞和 NK 细胞表达;急性髓系白血病、黑色素瘤、多发性骨髓瘤、儿童髓系白血病等多种疾病的肿瘤细胞组成性表达 IL-1 $\beta$ 。黑色素瘤细胞也表达 IL-1 $\beta$  前体,越是侵袭或转移能力高的肿瘤细胞 IL-1 $\beta$  表达及活性水平越高。骨髓内中性粒细胞可诱导表达 IL-1 $\beta$  前体,但外周血成熟中性粒细胞不再产生 IL-1 $\beta$ 。

与其他细胞因子的基因启动区不同,IL-1 $\beta$  基因启动调节区多达几千个碱基,除了 cAMP 反应元件,还有 NF- $\kappa$ B 样元件和 AP-1 位点。虽然 IL-1 $\beta$  mRNA 是反应必不可少,但是 IL-1 $\beta$  前体转录和翻译不完全同步。非 TLR 配体如补体 C5a、低氧、黏附到表面或凝血可诱导单核细胞中 IL-1 $\beta$  mRNA 转录水平升高,但是 IL-1 $\beta$  蛋白质翻译水平并未明显增加,IL-1 $\beta$  mRNA 聚集在核糖体,但是没有显著促进蛋白延伸,因此并没有完整蛋白的合成。这是由于编码区存在非稳定区所致,这些非稳定区也存在于 IL-18 和 IL-37 的基因中,导致 IL-18 和 IL-37 mRNA 不稳定。然而低浓度 TLR 配体与单核细胞 TLR 结合后,则诱导 IL-1 $\beta$  蛋白翻译水平升高;利用 IL-1 诱导单核细胞也有相同的效应。

### (三) 处理和分泌的 IL-1 $\beta$

几乎所有微生物产物都可通过 TLR 活化诱导 IL-1 $\beta$  的产生,此外 IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  也可在体外诱导单核细胞分泌 IL-1 $\beta$ 。无论何种刺激,IL-1 $\beta$  的分泌均活化胱天蛋白酶-1 的剪切,在此过程中胱天蛋白酶-1 前体需水解成胱天蛋白酶-1。然而,活化胱天蛋白酶-1 需要炎症小体 (inflammasome),炎症小体是一组复杂的蛋白质,参与先天免疫系统的激活。



炎症小体含有细胞凋亡相关的斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC), 引起坏死性细胞死亡, 同时也担负着将胱天蛋白酶-1 (caspase-1) 加工成激活型的重任。炎症小体的核心组分是 NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3), NLRP3 也被称为冷焦蛋白 (cryopyrin), 冷焦蛋白是核苷酸结合域富含亮氨酸重复蛋白家族 (nucleotide-binding domain leucine-rich-repeat-containing family) 的一名成员。最近报道显示, 冷焦蛋白是某类病原菌-诱导的坏死性细胞死亡的一种重要的宿主介质。

外周血单核细胞用 TLR 激动剂刺激 4 小时后, 释放 IL-1 $\beta$ , 且未观察到细胞死亡, 在随后 20~40 小时内观察到其他细胞因子的释放。脂多糖 (LPS) 刺激单核细胞, 15 分钟后, IL-1 $\beta$  就开始显著升高, 但 4 小时后, 由于 IL-1 $\beta$  mRNA 的半衰期短和 microRNA 的作用, IL-1 $\beta$  mRNA 开始衰减。IL-1 刺激单核细胞, 胞内 cAMP 水平升高, 诱导 IL-1 转录和蛋白合成增加; 相对于其他刺激因子, IL-1 刺激合成的 IL-1 $\beta$  mRNA 能稳定维持 24 小时。同时, 自身炎症患者的单核细胞, 无 TLR 配体刺激可自发分泌 IL-1 $\beta$  达 24 小时。

从健康人气道分离的巨噬细胞, 给予 LPS 刺激后, 不分泌 IL-1 $\beta$ 。然而, 一旦加入外源 ATP, 就会释放 IL-1 $\beta$ 。除了 ATP 可活化 P2X7 受体, 进而活化胱天蛋白酶-1, 中性粒细胞来源的 LL-37 也可促进 IL-1 $\beta$  的剪切和释放。胱天蛋白酶-1 在胞浆或特化分泌的溶酶体内剪切 IL-1 $\beta$  前体。IL-1 $\beta$  可以通过多种方式分泌到胞外, 如溶酶体的胞吐、膜微体释放、直接通过转运体释放及外泌体释放等, 一般情况下, 释放活化的 IL-1 $\beta$  伴随 LDH 的释放。焦亡是胱天蛋白酶-1 依赖细胞死亡方式, 也可释放 IL-1 $\beta$ ; 增加胞内钙浓度, 也可以依赖于磷脂酶 C 方式释放胞内成熟 IL-1 $\beta$ 。

#### (四) 功能激活突变的冷焦蛋白

CIAS1 基因 (编码冷焦蛋白) 突变与自身炎症周期性发热综合征 (以 IL-1 $\beta$  过量生成作为特征) 相关。研究证实疾病相关的 CIAS1 突变, 造成单核细胞株系内出现坏死性细胞死亡, 表达突变冷焦蛋白的细胞比表达野生型冷焦蛋白的细胞释放更多 IL-1 $\beta$ 。CIAS1 突变的患者体内, 单核细胞经由一个依赖 ASC 和组织蛋白酶 B (cathepsin B) 程序而出现过量细胞死亡, 并最终导致 HMGB1 的生成。由于人们认为疾病相关的冷焦蛋白突变是功能激活 (gain-of-function) 突变, 那么野生型冷焦蛋白应该就具有与突变型冷焦蛋白相似的特质, 只是表达水平较低或在刺激后才开始表达。

#### (五) P2X7 多态性及其炎症小体的激活

经典自身炎症性疾病如家族性地中海热 (familial Mediterranean fever, FMF) 和 Cryopyrin 相关周期性综合征 (cryopyrin-associated periodic syndromes, CAPS) 具有相似的临床表现, 分泌较多的 IL-1 $\beta$ , 且 IL-1R 阻滞反应显著。这类疾病中 NALP3 无突变, 可能 P2X7 本身存在突变或其他控制钾离子通道的基因存在突变, 影响 IL-1 $\beta$  的分泌。同时, P2X7 受体基因多态性, 导致功能多态性显著影响 IL-1 $\beta$  的分泌。P2X7 受体纯合子多态性患者的单核细胞分泌 IL-18 减少。P2X7 受体的另一个多态性影响异体干细胞移植个体的生存率, 这种个体并发菌血症比例高达 68%, 而野生型只有 18%。P2X7 受体缺陷小鼠表现为炎症、疼痛, 小鼠体内 IL-1 $\beta$  及其介导的 IL-6 生成水平均显著降低。

研究证明, 类风湿关节炎患者的单核细胞经 ATP 刺激后, P2X7 受体活化, 导致 IL-1 $\beta$  的分泌增多。ATP 除了可以降低胞内钾离子, 也可形成过氧亚硝酸盐 (peroxynitrite), 而胱天蛋白酶-1 的活化需要过氧亚硝酸盐, 因此, 过氧亚硝酸盐减少可降低 IL-1 $\beta$  的分泌。