

· 综述与译文 ·

白细胞介素-3 与辐射损伤

第三军医大学防原医学教研室(重庆,630038) 罗成基 综述

摘要:国外对 IL-3 的认识仅有十多年的历史。大量实验及临床研究证明,IL-3 确是一种广谱的、具有刺激造血细胞增殖和分化作用的细胞因子;在治疗骨髓衰竭、自身骨髓移植和放疗后粒细胞减少及放射病等方面,均收到较好疗效,且副作用很低,已显示它有很好的应用前景。

关键词:白细胞介素-3 辐射损伤

白细胞介素-3(IL-3)又名多集落刺激因子(multi-CSF)或多系造血细胞生长因子(multi-HGF)。它是由活化的 T 淋巴细胞释放的一种淋巴因子,对造血细胞具有广谱的刺激分裂和分化作用^[1]。因此,IL-3 对辐射所致的造血功能障碍或放疗后骨髓功能低下,有较好的治疗作用。

1 白细胞介素-3 的生物学特性

1.1 IL-3 的结构

人 IL-3 与鼠 IL-3 的 cDNA 同源性极低,直到 1986 年才分离出人 IL-3 的基因^[2]。IL-3 是一种单链糖蛋白,分子量约为 28 000。

IL-3 蛋白的结构大多是依据 IL-3cDNA 的结构推导而得的。人的 IL-3 分子由 152 个氨基酸残基组成,其氨基端的 19 个氨基酸残基也具有信号肽的特征,大多是疏水氨基酸。这种一级结构的特征和别的淋巴因子的结构颇为相似。

人 IL-3 的 16 位上保留着半胱氨酸残基。16/17 位上半胱氨酸残基的高度保守性,提示它们可能有重要的功能^[3]。

1.2 IL-3 的基因表达与调控

IL-3 基因的表达在转录及转录后水平均受到控制。调节 IL-3 基因表达的几个重要元件位于 5' 侧翼转录起始位点上游的 380 核

苷酸内。IL-3 基因 5' 侧翼 156~147 处存在一段序列,它在调节 IL-3 基因表达过程中起重要作用。当缺乏或突变,IL-3 基因几乎失去可诱导的能力。还证明 AP-1 结合位点是 IL-3 基因的增强子,与相应的 AP-1 家族蛋白结合可有效增强 IL-3 基因的表达^[4]。

IL-3 基因的表达依赖于蛋白激酶 C 激活及细胞内游离钙升高两条途径。人 IL-3 受体由 α 及 β_c 两个亚基组成, β_c 亚基与 IL-3、GM-CSF 受体共有;IL-3 受体的信号传导途径依赖于酪氨酸激酶的激活。

用 RNA 斑点杂交分析及特殊的生物学检测方法,发现几种 T 细胞株、激活的外周血淋巴细胞、激活的 NK 细胞以及肥大细胞存在 IL-3 基因的表达。

人 IL-3 基因定位于第 5 条染色体的长臂上,大约与 GM-CSF 的基因在同一条带(5q23-q31),这两个有相似结构而紧密连在一起的基因,提示它们在功能上是相关的,尽管它们的核苷酸或氨基酸序列缺乏相似性。人第 5 条染色体长臂上含有多种编码生长因子及其生长因子受体的基因,如 IL-4、IL-5、M-CSF 及血小板分化生长因子等,故称此区为“关键区”(critical region)。骨髓发育障碍与第 5 条染色体长臂缺失有关^[5]。

比较 IL-3 与 GM-CSF 的启动子,发现二者有几个调控元件是相似的。因此,不难设

想这些相同的保守序列对启动 IL-3 及 GM-CSF 基因在激活的 T 细胞及 NK 细胞中的表达起重要作用。

IL-1 能诱导 IL-3 基因的表达,还能诱导造血祖细胞表达 IL-3R 的 β c 亚基,提高造血祖细胞对 IL-3 的反应性⁽⁶⁾。

1.3 IL-3 的细胞来源与产生

IL-3 的主要生理来源是受抗原刺激或有丝分裂原刺激的 T 细胞。ConA 激活的鼠脾细胞培养上清液含有一种淋巴因子,即 IL-3。同种抗原能刺激 T_H 细胞产生 IL-3。IL-3 是 T 细胞对不同类别抗原的应答产物,正常的和免疫的脾细胞都有对 IL-3 应答的淋巴细胞亚群。IL-3 的产生是 T 细胞特异的,这一点在细胞因子中是比较独特的。因为绝大多数细胞因子都由不止一种细胞产生,包括与 IL-3 活性有很大重叠的 GM-CSF 也是如此。

IL-3 的非 T 细胞性的来源细胞是肿瘤细胞或是转化细胞。所谓转化,是指在外源 DNA 的作用下,外源 DNA 参与宿主细胞 DNA 的重组,并在宿主的表現型中显示出自己的遗传信息,从而使宿主的一定遗传性状产生变异。在体外培养条件下,转化细胞表现出无限制的生长。

WEH1-3 细胞是粒单细胞性白血病细胞系,它所产生的 IL-3 与常规条件 IL-3 的生化特性和生物活性无差别,产量却高 100 倍。这种病理性产生的 IL-3,说明该肿瘤细胞在不断增殖过程中存在自身刺激机制。

IL-3、IL-5 和 GM-CSF 都是由激活的 T 细胞及肥大细胞产生的造血生长因子。虽然这三个细胞因子氨基酸序列的同源性很低,但仍存在许多相似的性质:①基因是连锁的,定位于人的第 5 条染色体;②能诱导相似蛋白质的磷酸化,对某一类型的造血细胞具有相同的生物学作用;③受体之间具有共同的 β 亚基(β c),具有交叉竞争的作用。说明这三个细胞因子在进化过程中是相关的⁽⁷⁾。

2 白细胞介素-3 的生物学功能

IL-3 是细胞因子大家族中的一员,其主要生物学活性是支持各个分化阶段细胞的增殖,能与各种克隆刺激因子(CSFs)协同作用,促进骨髓多能干细胞分化为不同的细胞系。单独 IL-3 即能促使多能干细胞向肥大细胞转化。

2.1 刺激造血细胞集落形成

在造血生长因子池中,IL-3 是唯一占支配地位的因子。IL-3 对人及鼠都能促进多能造血干细胞的增殖分化、刺激各系造血祖细胞集落的形成。 10^{-12} mol 的 IL-3 能支持 CFU-GM、CFU-G、CFU-M、CFU-Meg、CFU-Eo、CFU-B 集落的形成。与红细胞生成素结合还可支持早期、晚期红系集落形成⁽⁸⁾。

IL-3 和 GM-CSF 都是对多种造血细胞有作用的广谱造血生长因子,但其作用方式及效应有所不同。IL-3 对多能干细胞有作用,GM-CSF 主要作用于各系祖细胞;IL-3 作用较缓慢而持续时间长,GM-CSF 作用较迅速而持续时间短。

IL-3 对粒细胞集落形成的支持作用比 G-CSF 弱得多,提示祖细胞分化到某一阶段就失去对 IL-3 的敏感性,而需要特异的细胞因子的支持。IL-3 与 G-CSF 共同刺激粒系集落形成的效果比单一因子强许多倍。类似现象也在红系及巨噬细胞系中被观察到⁽⁹⁾。

2.2 作为细胞活化因子

IL-3 能激活嗜酸性粒细胞的吞噬功能,还能刺激嗜碱性粒细胞胞浆内组织胺颗粒的释放;IL-3 能激活培养的单核细胞 TNF 基因的转录,从而增强单核细胞杀肿瘤的作用。

IL-3 能促进外周血 T 细胞的增殖和增强 T 细胞对 IL-2 的敏感;IL-3 能刺激正常 B 细胞,并能促进由 IL-2 激活 B 细胞分泌 IgG⁽¹⁰⁾。

IL-3 在转录水平促进 TNF 基因的表达,使 TNF 的合成增加,从而加强巨噬细胞

的杀伤作用。IL-3在体外能促进脾细胞生长,参与巨噬细胞释放IL-1辅助骨髓系细胞的生长。IL-3促进肥大细胞生成的效应受到过敏学家的密切关注^[11]。

2.3 体内造血效应

IL-3在体内能使外周血的白细胞数量提高一倍以上,但升白细胞的作用较GM-CSF或G-CSF弱。IL-3能诱导外周血嗜碱及嗜酸性粒细胞及单核细胞的增殖,还能增加外周血中网织红细胞及血小板的数量。

给小鼠腹腔注射重组的IL-3,在注射6天后就可见到小鼠脾脏重量增加了50%,外周血粒细胞增加了近10倍。先给恒河猴静注1周的IL-3 $[10\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$,接着连续用21天的GM-CSF $[2\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$,用GM-CSF的第二天,外周血白细胞就升至 $5\sim 6$ 万/ mm^3 ,并持续两周。嗜碱性粒细胞、网织红细胞和血小板也有不同程度的增加,比单独使用IL-3或GM-CSF的效果强数倍^[12]。

对IL-3、G-CSF及GM-CSF的造血作用进行了比较研究,证明能维持造血祖细胞增殖的主要是IL-3。显然IL-3可能是治疗造血障碍的最佳候选者^[13]。

3 白细胞介素-3与辐射损伤

3.1 促进造血重建

CBA小鼠受致死性照射后,输注同种骨髓有核细胞,早期(照后24小时)在贴壁细胞部分能产生造血生长因子(IL-1、IL-3、CSA);较迟时期(照后3~6天),不贴壁的骨髓成分能合成体液因子(IL-3,CSA),这与由移植或活存的干细胞所形成有功能活性的细胞有关^[14]。重组的IL-3能加速受照射动物重建造血功能,只要残留一定数量的造血干细胞,IL-3就有促进自身造血恢复的可能性^[15]。

给免疫缺陷小鼠移植人胎儿骨髓,100cGy全身照射前或后,腹腔注入 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 人干细胞因子(SCF)。照后14天,发现大

多数游离的骨髓细胞是人的,BFU-E增加4.3倍,CFU-GM增加13.1倍。提示SCF对防止辐射引起的骨髓衰竭有潜在的临床价值^[16]。

放射事故患者,受到10Gy高剂量急性全身照射后,破坏了大多数造血细胞,只有移植骨髓才有可能恢复。仅用支持疗法包括输血及造血生长因子(粒-巨噬集落刺激因子及IL-3),造血恢复很慢,红细胞及血小板恢复不完全。第130天发生的肺部感染是死亡的原因^[17]。

3.2 增进免疫反应

PI小鼠受致死剂量300cGy照射,给予注入鼠重组的IL-3后14天活杀,发现胸腺细胞数增加和Con A有丝分裂原反应恢复,并伴有双阴性 $\text{CD}_4^- \text{CD}_8^-$ 、双阳性 $\text{CD}_4^+ \text{CD}_8^+$ 及单阳性 $\text{CD}_4^- \text{CD}_8^-$ 和 $\text{CD}_4^- \text{CD}_8^+$ 细胞数增加。IL-3治疗也能使脾细胞数及T、B细胞有丝分裂反应恢复。此结果提示,IL-3可使亚致死剂量照射小鼠胸腺细胞分化和生长以及使T、B淋巴细胞功能恢复^[18,19]。

3.3 与其它因子的复合效应

高剂量亚致死性照射引起灵长类骨髓衰竭,按 $15\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 连续给予重组的人IL-3及IL-6能增强骨髓的增生,使循环血小板及嗜中性粒细胞增加^[20]。用人的GM-CSF及鼠的IL-3治疗亚致死剂量 γ 射线照射的小鼠骨髓抑制和各种血细胞减少,均取得显著效果^[21]。

用450cGy中子和 γ 射线混合照射猴,给予GM-CSF/IL-3融合蛋白(PIXY)治疗,能明显增强血小板和中性粒细胞的回升,且能活化成熟粒细胞。用GM-CSF/IL-3融合蛋白治疗发挥了两种因子的综合作用^[22]。亚致死剂量照射猴,给予GM-CSF/IL-3融合蛋白(PIXY321),能增加嗜中性粒细胞和血小板再生率以及循环嗜中性细胞的功能活性^[23]。

小鼠以亚致死剂量 $(7.75\text{Gy})^{60}\text{Co}-\gamma$ 射

线照射, 照后 1~17 天, 皮下给予生理盐水或是重组鼠肥大细胞生长因子——MGF [100 μ g/(kg·d)], rmGM-CSF [100 μ g/(kg·d)], rmIL-3 [100 μ g/(kg·d)], 或是复合应用这些细胞因子, 在照射后 14 天和 17 天, CFU-S、GM-CFC、外周血细胞、红细胞、血小板均有增加^[24]。

参 考 文 献

- 1 Schrader JW et al. Immunol Rev, 1984;76:79
- 2 Yang YC et al. Cell, 1986;47:3
- 3 Dorsser's L et al. Gene, 1987;55:115
- 4 Sara G et al. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:9650
- 5 Nimer SD et al. Blood, 1987;70:1705
- 6 Watanabe Y et al. Blood, 1992;80:2215
- 7 Taketazu F et al. J Cell Physiol, 1991;146:251
- 8 Emerso SG et al. J Clin Invest, 1988;82:1282

- 9 Sieff CA et al. J Clin Invest, 1987;80:818
- 10 Xia X et al. J Immunol, 1992;148:491
- 11 Herrod HG et al. Ann Allergy, 1989;63:269
- 12 Donahue RE et al. Science, 1988;241:1820
- 13 Leary AG et al. Blood, 1987;70:1343
- 14 Dygai AM et al. Radiat-Biol Radioecol, 1994;34:220
- 15 Tani KS et al. Exp Hematol, 1989;19:883
- 16 Leigh BR et al. Stem-Cells Dayt, 1994;12:430
- 17 Baranov AE et al. Blood, 1994;83:596
- 18 Prasca D et al. Blood, 1994;83:1563
- 19 Doria G et al. Stem-Cells Dayt, 1993;11:93
- 20 MacVittie TJ et al. Blood, 1994;84:2515
- 21 Kindle V et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1986;321:872
- 22 Williams DE et al. Exp Hematol, 1991;19:584
- 23 Williams DS et al. Biotechnol Ther, 1993;4:17
- 24 Patohen ML et al. Biotherapy, 1993;7:13

(收稿日期: 1994-12-01)

电 离 辐 射 对 NF- κ B 的 影 响

卫生部放射生物重点实验室(长春, 130021) 范 冰综述 鞠桂芝 萧佩新* 审校

摘 要: 在简单介绍转录因子 NF- κ B 的结构及功能的基础上, 概述了电离辐射对 NF- κ B 的影响及其机制, 以期阐述辐射效应的分子机制。

关键词: 电离辐射 NF- κ B

电离辐射具有广泛的生物学作用, 如分裂延迟、致突与致癌效应、细胞的生物氧化抑制和 DNA 链断裂等放射损伤作用, 以及近年来颇为流行的辐射兴奋效应和辐射诱导的适应性反应, 都可在整体、细胞、亚细胞水平不同程度地反映出来。随着分子生物学的发展, 放射生物学研究也渐入佳境, 趋向于研究各种辐射效应的分子机制, 尤其在辐射诱导某些基因的表达方面, 如 TNF、c-fos、HSP70^[1,2] 等。

真核基因的表达是通过顺式作用序列和反式作用蛋白因子的相互作用来调控的^[3], 所谓反式作用因子是指可溶性的转录调控蛋白因子, 比如为人所熟知的 SP1, AP-1/(Jun·Fos) 家族和类固醇激素受体超家族成员。近年来, 关于转录活性核蛋白因子 NF- κ B (nuclear factor of kappa B)^[4] 的研究日益受到重视, 并趋于深入。本文综述了 NF- κ B 在放射生物学研究中的背景及其地位, 以期了解辐射效应的分子机制。

* 河北省放射卫生研究所(石家庄, 050071)