

IL-24 及其抗肿瘤作用的研究进展

Research Progress in IL-24 and Its Antitumor Activity

ZHANG Lei-lei, WANG Jian

张磊磊, 王 坚

(广东医学院附属医院, 广东 湛江 524000)

摘要: 通过消减杂交法从人黑色素瘤细胞中分离出来的黑色素瘤分化相关基因(melanoma differentiation associated gene 7, *MDA-7*), 因其分子生物学特性与 *IL-10* 相似, 故将其归入 *IL-10* 家族, 并重新命名为 *IL-24*。*IL-24* 能选择性地促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤新生血管形成、增强放疗敏感性和免疫调节作用, 而对正常细胞和组织无毒副作用。作为一种具有多种抗肿瘤功能的细胞因子, *IL-24* 将成为肿瘤基因治疗的新武器。全文主要对 *IL-24* 抗肿瘤作用机制及在肿瘤治疗中的作用作一综述。

关键词: *IL-24*; 肿瘤; 凋亡; 基因治疗

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)07-0545-04

大量研究显示, 黑色素瘤分化相关基因 7/白介素 24(*mda-7/IL-24*) 具有广泛的抗肿瘤生物学作用。它能够通过膜受体或非受体介导的凋亡途径对多种肿瘤细胞产生杀伤作用。此外, *IL-24* 还具有抑制肿瘤新生血管形成、增强放疗敏感性和免疫调节作用^[1]。而对正常细胞和组织无毒副作用, 因此被喻为肿瘤治疗中的“魔法子弹”^[2]。本文对该基因及其抗肿瘤作用的研究进展作一综述。

1 IL-24 的简介

1.1 IL-24 的发现和命名

1995 年美国哥伦比亚大学 Jiang 等^[3]用重组纤维母细胞干扰素(IFN- β)和蛋白激酶 C 活化剂密执毒素(mezerein, MEZ)共同作用于增殖活跃的黑色素瘤细胞株 HO-1, 导致该细胞不可逆的生长抑制, 其致癌性被抑制并诱导了终末分化。利用消减杂交分析法对比处理组和未处理 HO-1 细胞的 cDNA 文库, 发现并证实一个表达增高的新基因与黑色素瘤分化相关, 被命名为黑色素瘤分化相关基因 7 (*mda-7*)。由于 *mda-7* 与 *IL-10* 家族(*IL-10*、*IL-19*、*IL-20*、*IL-22*、*IL-26*)遗传和结构同源性达 22%, 且其受体是细胞因子受体家族成员, 其在白细胞内产物和作用确

认, 2001 年 HUGO 基因命名委员会将其重新命名为 *IL-24*^[4], 归属于 *IL-10* 家族。

1.2 IL-24 的结构

IL-24 基因位于染色体 1q32.2-1q41 区域, 该区域为细胞因子 *IL-10* 家族相关基因丛基区。基因由 7 025 个碱基组成, 含 7 个外显子和 6 个内含子, 外显子大小为 64~889bp, 内含子大小为 115~1 443bp, cDNA 长 1 718bp。其中含一个促进分泌的片段, 主要阅读框架编码有一个由 206 个氨基酸序列组成蛋白质, 分子量为 23.78kD, 是一种 α 螺旋分泌蛋白^[5]。序列分析表明 *IL-24* 蛋白 N 端有一个由 49 个氨基酸组成的信号肽, 与蛋白切割和分泌有关。

1.3 IL-24 的表达和调节

IL-24 生理表达见于正常胸腺、脾和外周血液等免疫组织器官中的单核细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和 NK 细胞^[4], 在人外周血单个核细胞中, 主要是活化 CD3-T 淋巴细胞和单核细胞能够表达 *IL-24*^[3]。植物血凝素和脂多糖激活人淋巴细胞 CD56⁺ 和 CD19⁺ 两个亚群, 能表达一种分泌蛋白, 即 *IL-24* 蛋白^[4]。正常造血细胞向巨核细胞分化过程中, 经 TPA 诱导能表达 *IL-24*^[5]。在 *IL-24* 基因的发发现实验中, 用 IFN- β +MEZ 诱导黑色素瘤细胞 HO-1, 发现了 *IL-24mRNA* 的表达, 其稳定性增加、半衰期延长, 但细胞的启动子活性并没有发生明显改变, 提示 HO-1 细胞中 *IL-24* 基因的表达调控主要发生在转录后水平^[3]。

通讯作者: 王 坚, 硕士生导师, 教授, 博士; 广东医学院附属医院泌尿外科, 广东省湛江市人民大道南 57 号(524000); E-mail: zj_wangjian@126.com。

收稿日期: 2012-04-18; **修回日期:** 2012-05-10

2 IL-24 抗肿瘤作用机制研究

2.1 抑制肿瘤生长和诱导其凋亡

IL-24 最引人关注之处在于其靶向肿瘤细胞作用,即能特异性引起肿瘤细胞生长抑制和诱导凋亡。Pataer 等^[6]发现正常黑色素细胞与黑色素瘤细胞中, IL-24 的 mRNA 和蛋白表达水平与细胞恶性程度呈负相关,并在黑色素瘤生长和进展中起负性调节作用。IL-24 的异位表达使肿瘤细胞生长停滞在 G₂/M 期,这种抑制肿瘤生长效应在黑色素瘤、乳腺癌、肺癌、肠癌、肝癌、卵巢癌、神经胶质瘤、胰腺癌等多数肿瘤细胞中都可观察到,而对正常细胞却无任何作用^[7-11]。这一结果表明 IL-24 在肿瘤细胞中是一个生长抑制因子,它特异性抑制肿瘤细胞生长,不依赖于 p53、Rb 或 p16ink4 等经典肿瘤抑制基因在这些肿瘤细胞中的表达^[7],而是通过降低 Bcl-2 的表达和上调 bax 蛋白的表达实现^[7,11,13-15]。

2.2 抑制肿瘤血管形成

研究显示 IL-24 是一种强有力的肿瘤血管形成抑制剂。Saeki 等^[16]报道 IL-24 转染人脐静脉内皮细胞后,其血管样结构的形成被完全抑制。研究发现 IL-24 是通过下调促血管生成物质 VEGF 和 TGF- β 起作用。Ramesh 等^[17]研究发现,体外分泌形式的 IL-24 蛋白能抑制经 VEGF 或碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)刺激的内皮细胞分化及迁移,这种抑制作用需要 IL-22R1 的介导。将稳定表达并分泌 IL-24 蛋白的 293 细胞与肺癌细胞 A549 联合移植入裸鼠体内,IL-24 蛋白能显著抑制 A549 细胞的生长、减少肿瘤血管的形成及降低血红蛋白含量。

2.3 抑制肿瘤转移和侵袭

IL-24 对一些具有转移和侵袭特性的细胞表现出强有力的抑制。Ramesh 等^[18]将 AdIL-24 作用于非小细胞肺癌细胞(H1299、A549),发现其体外发生转移和侵袭的特性较未治疗组降低,体内致瘤性也明显减弱。其作用是通过 IL-24 下调磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B、成簇黏附激酶、基质金属蛋白酶-2 和基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-2、-9, MMP-2、MMP-9)实现的。MMP-2、MMP-9 在脑胶质瘤侵袭中发挥重要作用,当瘤细胞与无形基质黏附后,两者能使相关组织分泌基质降解酶,导致局部正常脑组织被降解,形成局部侵袭生长的过程,是人脑胶

质瘤恶性表型及侵袭的指标。于愿等^[19]报道 AdIL-24 能显著抑制肝细胞癌转移和复发,可能与显著抑制 MMP-9 和 VEGF165 表达,从而抑制或阻断瘤栓形成和肿瘤血管发生有关。IL-24 抑制 MMP-9 可能是其抑制恶性肿瘤细胞侵袭的重要机制之一。

2.4 增加肿瘤细胞的放疗敏感性

2001 年美国癌症研究协会年会上 Kawabe 等^[20]首先报道将 AdIL-24 基因转染人非小细胞肺癌的细胞后,可增强肿瘤细胞对放射治疗的敏感性,这可能通过抑制肿瘤血管新生的介导实现。Su 等^[21]实验证实经 IL-24 作用后,人恶性神经胶质细胞系对射线的抑制生长和诱导凋亡作用更为敏感,且这种增敏效应不依赖 p53 表达,而伴有 GADD(growth arrest and DNA damage)基因家族表达上调。Yacoub 等^[22]在患有神经胶质瘤的裸鼠体内观察到 IL-24 的这种射线增敏作用是通过 JNK 信号转导途径实现的。PI3K 和 ERK1/2 信号转导途径参与这一效应介导过程,因为单独抑制 PI3K 或 ERK1/2 都不能增强 IL-24 的杀伤作用,然而当同时抑制这两条途径时杀伤作用增强^[13]。

3 腺病毒介导 IL-24 在肿瘤治疗中的研究

IL-24 广谱、特异性的抗肿瘤作用在基因治疗上所面临的关键问题,是如何有效地将外源基因导入靶细胞内并稳定表达。研究发现腺病毒载体是高效表达的基因转移载体,具有宿主范围广、理化性质稳定、装载容量大等优势,现已广泛用于基因治疗中。

3.1 IL-24 与黑色素细胞瘤

Lebedeva 等^[13]用 AdIL-24 转染多组黑色素瘤细胞株(SV40、HO-1、FM516、WM35、FO-1、MeWo),同时用 Ad.vec(mda-7 缺陷控制型腺病毒)、Ad.p21(细胞周期蛋白激酶抑制因子 p21)及 Ad.p53(生长抑制/凋亡基因 p53)作对照,结果表明抗凋亡基因 Bcl-2/Bcl-xL 表达水平下降是导致 AdIL-24 转染后选择性诱导凋亡的关键。Sarkar 等^[23]认为 IL-24 通过 p38MAPK 途径诱导生长阻滞和 DNA 损伤相关基因,如 GADD153、GADD45 α 和 GADD34,从而选择性诱导黑色素瘤细胞株的凋亡,而 GADD 表达增加可被 p38 蛋白激酶的选择性抑制剂 SB203580 抑制。

3.2 IL-24 与乳腺癌

Zheng 等^[24]用 AdIL-24 转染乳腺癌细胞 MDA-MB231 和 MDA-MB453 后,出现明显生长抑制作用,认为 IL-24 蛋白通过“抗肿瘤—旁观者效应”抑制乳腺癌细胞生长。这种“旁观者效应”是依赖于 IL-24 与其受体 IL-20R1 结合后激活 JAK/STAT3 途径,使 STAT1 和 STAT3 活化来实现的。Chada 等^[7]通过腺病毒载体将 IL-24 转入多种不同乳腺癌细胞系中,证实其对乳腺癌细胞不依赖 p53 的生长抑制、G₂/M 期阻滞和诱导凋亡作用。通过联合使用放射线治疗、化学治疗等手段,发现 IL-24 同放疗、化疗等有协同作用,增强放疗及化疗药物如三苯氧胺敏感性。倪启超等^[25]报道 AdIL-24 能明显地抑制乳腺癌细胞的生长,促进乳腺癌细胞的凋亡,随后动物试验也证实对裸鼠乳腺癌荷瘤生长有显著抑制作用。

3.3 IL-24 与胰腺癌

AdIL-24 在胰腺癌抗肿瘤作用中是一个特例,其肿瘤细胞中一个很常见的基因突变是 *k-ras* 癌基因的活化^[8]。当单独使用 AdIL-24 时,无论 *k-ras* 表型如何,都不能诱导胰腺癌肿瘤细胞凋亡;经 AdIL-24 感染后虽能检测到 mRNA 高表达,但蛋白表达缺失;将 AdIL-24 联合下调 *k-ras* 基因时,检测到 IL-24 蛋白表达,并在突变型 *k-ras* 胰腺癌肿瘤细胞中有显著生长抑制和诱导凋亡作用。最近 Lebedeva 等^[26]发现胰腺癌细胞对 IL-24 内在抵抗是由于 mRNA 在翻译过程中被阻断所致,而将 AdIL-24 联合紫杉醇后,能通过诱导产生活性氧有效逆转 IL-24 的“蛋白翻译阻断”,继而促进其蛋白产生,引起肿瘤细胞生长抑制和凋亡。

3.4 IL-24 与肝癌

Wang 等^[9]用 Ad.VGFP/IL-24 处理人肝癌细胞株 SMMC-7721 及瘤内注射治疗肝癌裸鼠动物模型,体外实验显示 Ad.VGFP/IL-24 可使 SMMC-7721 细胞细胞周期 S 期缩短和 G₂/M 期阻滞。体内实验也显示对肝癌细胞生长有抑制作用。张小峰等^[27]报道 AdIL-24 可显著抑制裸鼠肝癌移植瘤生长和新生血管的形成,并通过内质网应激通路显著诱导肝癌细胞凋亡。王从俊等^[14]发现 AdIL-24 联合阿霉素在体内能显著增强抗肿瘤和预防转移效应,是通过下调 VEGF、MMP-2、TGF- β 和上调上皮细胞钙黏蛋白表达来实现的。

3.5 IL-24 与肺癌

Oida 等^[28]将 AdIL-24 和半甾体抗炎药舒林酸联合应用治疗非小细胞肺癌细胞株,发现舒林酸呈剂量依赖性地促进 IL-24 对癌细胞的生长抑制和诱导凋亡,显示其与某些药物合用能提高 IL-24 疗效。Pataer 等^[29]认为 IL-24 通过与 PKR 直接结合并导致 PKR 被磷酸化激活,PKR 进一步激活 eIF-2 α 、STAT1 等与生长调控和凋亡相关的下游因子,其中 eIF-2 α 被激活后可抑制真核翻译起始因子 eIF2- β 阻断蛋白合成,从而抑制肿瘤细胞生长并诱发细胞凋亡。

3.6 IL-24 与其他肿瘤

苑兴卉等^[30]将 AdIL-24 用于人鼻咽癌细胞 CNE 的凋亡研究,发现与空病毒 Ad-GFP 以及 PBS 处理组相比,前者对 CNE 细胞有更明显的凋亡诱导作用。熊炬等^[31]用 IL-24 感染两种卵巢癌耐药细胞 OVCAR-3 和 OVCAR-8/TR,72h 内细胞最高凋亡率明显高于空载体组和未感染组,证实 AdIL-24 可诱导卵巢癌耐药细胞凋亡。Chang 等^[10]发现 mda-7/IL-24 能抑制结肠癌 HT-29 细胞的生长并诱导凋亡,还能诱导 GADD 的表达,减少移植瘤中 VEGF 和 MVD 的表达。Yan 等^[15]报道重组人 IL-24 下调 Bcl-2/Bax、VEGF 和 CD34,从而体外抑制胃癌 SGC7901 细胞生长。Jia 等^[11]通过体外实验证实 AdIL-24 能显著诱导胆囊癌 GBC-SD 细胞株凋亡,同样在体内实验中能明显抑制裸鼠胆囊癌荷瘤生长,这种抑制作用是通过下调 Bcl-2 和释放细胞色素 C,继而激活 caspase-9、caspase-3 和 PARP 来诱导凋亡。

综上所述,一个理想的基因治疗要求该基因只在促进肿瘤细胞生长抑制和凋亡时,能引起强烈旁观者抗肿瘤效应,并且能够抗血管生成和治疗转移病灶。当与其他的治疗措施相结合时,能放大一定的免疫杀伤效应。通过联合生物治疗和基因治疗来治愈肿瘤,已经成为肿瘤研究领域的热点^[32]。而 IL-24 等基因治疗可能成为有效抗肿瘤的一种新方法,但是其具体的抗肿瘤机制有待进一步深入研究, I、II 期临床试验后在临床的推广需要进一步商榷。

参考文献:

- [1] Dent P, Yacoub A, Hamed HA, et al. MDA-7/IL-24 as a cancer therapeutic: from bench to bedside [J]. *Anticancer Drugs*, 2010, 21(8): 725-731.
- [2] Fisher PB. Is IL-24 a “magic bullet” for cancer? [J]. *Cancer*

- Res, 2005, 65(22):10128–10138.
- [3] Jiang H, Lin JJ, Su ZZ, et al. Subtraction hybridization identifies a novel melanoma differentiation associated gene, mda-7, modulated during melanoma differentiation, growth and progression[J]. *Oncogene*, 1995, 11(12):2477–2486.
- [4] Caudell EG, Mumm JB, Poindexter N, et al. The protein product of the tumor suppressor gene, melanoma differentiation-associated gene 7, exhibits immunostimulatory activity and is designated IL-24[J]. *J Immunol*, 2002, 168(12):6041–6046.
- [5] Huang EY, Madireddi MT, Gopalkrishnan RV, et al. Genomic structure, chromosomal localization and expression profile of a novel melanoma differentiation associated (mda-7) gene with cancer specific growth suppressing and apoptosis inducing properties [J]. *Oncogene*, 2001, 20(48):7051–7063.
- [6] Pataer A, Vorburger SA, Chada S, et al. Melanoma differentiation-associated gene-7 protein physically associates with the double-stranded RNA-activated protein kinase PKR[J]. *Mol Ther*, 2005, 11(5):717–723.
- [7] Chada S, Mhashilkar AM, Liu Y, et al. Mda-7 gene transfer sensitizes breast carcinoma cells to chemotherapy, biologic therapies and radiotherapy: correlation with expression of bcl-2 family members[J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13(5):490–502.
- [8] Bardeesy N, DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(12):897–909.
- [9] Wang X, Ye Z, Zhong J, et al. Adenovirus-mediated IL-24 expression suppresses hepatocellular carcinoma growth via induction of cell apoptosis and cycling arrest and reduction of angiogenesis[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2007, 22(1):56–63.
- [10] Chang S, Yang J, Chen W, et al. Antitumor activity of an adenovirus harboring human IL-24 in colon cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(1):395–401.
- [11] Jia J, Li S, Gong W, et al. IL-24 induces apoptosis in human GBC-SD gallbladder carcinoma cells via mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25 (1):195–201.
- [12] Mhashilkar AM, Stewart AL, Sieger K, et al. MDA-7 negatively regulates the beta-catenin and PI3K signaling pathways in breast and lung tumor cells[J]. *Mol Ther*, 2003, 8(2):207–219.
- [13] Lebedeva IV, Su ZZ, Chang Y, et al. The cancer growth suppressing gene mda-7 induces selectively in human melanoma cells [J]. *Oncogene*, 2002, 21(5):708–718.
- [14] Wang CJ, Zhang H, Chen K, et al. Ad.mda-7 (IL-24) selectively induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines, suppresses metastasis, and enhances the effect of doxorubicin on xenograft tumors [J]. *Oncol Res*, 2010, 18(11):561–574.
- [15] Yan S, Zhang H, Xie Y, et al. Recombinant human interleukin-24 suppresses gastric carcinoma cell growth in vitro and in vivo[J]. *Cancer Invest*, 2010, 28(1):85–93.
- [16] Saeki T, Mhashilkar A, Swanson X, et al. Inhibition of human lung cancer growth following adenovirus-mediated mda-7 gene expression in vivo [J]. *Oncogene*, 2002, 21 (29):4558–4566.
- [17] Ramesh R, Mhashilkar AM, Tanaka F, et al. Melanoma differentiation-associated gene 7/interleukin (IL)-24 is a novel ligand that regulates angiogenesis via the IL-22 receptor[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(16):5105–5113.
- [18] Ramesh R, Ito I, Gopalan B, et al. Ectopic production of MDA-7/IL-24 inhibits invasion and migration of human lung cancer cells[J]. *Mol Ther*, 2004, 9(4): 510–518.
- [19] 于愿, 薛新波, 陈堃, 等. 腺病毒介导的 mda-7 / IL-24 抑制肝癌 VEGF 和 MMP-9 的表达 [J]. *临床外科杂志*, 2010, 18(2):95–98.
- [20] Kawabe S, Nishikawa T, Munshi A, et al. Adenovirus-mediated mda-7 gene expression radiosensitizes non-small cell lung cancer cells via TP53-independent mechanisms [J]. *Mol Ther*, 2002, 6(5): 637–644.
- [21] Su ZZ, Lebedeva IV, Sarkar D, et al. Melanoma differentiation associated gene-7, mda-7/IL-24, selectively induces growth suppression, apoptosis and radiosensitization in malignant gliomas in a p53-independent manner [J]. *Oncogene*, 2003, 22(8) :1164–1180.
- [22] Yacoub A, Mitchell C, Lebedeva IV, et al. Mda-7 (IL-24) inhibits growth and enhances radiosensitivity of glioma cells in vitro via JNK signaling[J]. *Cancer Biol Ther*, 2003, 2(4):347–353.
- [23] Sarkar D, Su ZZ, Lebedeva IV, et al. Mda-7/IL-24 mediates selective apoptosis in human of the melanoma cells by inducing the coordinated over expression of GADD family of genes by means of p38MAPK [J]. *Pros Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(15):10054–10059.
- [24] Zheng M, Bocangel D, Doneske B, et al. Human interleukin 24 (IL-24) protein kills breast cancer cells via the IL-20 receptor and is antagonized by IL-10[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(2):205–215.
- [25] 倪启超, 杨琳, 张春辉, 等. 腺病毒介导黑色素瘤分化相关基因对乳腺癌细胞生长和凋亡的研究[J]. *中华医学杂志*, 2008, 88(42):3008–3011.
- [26] Lebedeva IV, Su ZZ, Vozhilla N, et al. Mechanism of in vitro pancreatic cancer cell growth inhibition by melanoma differentiation-associated gene-7/interleukin-24 and perillyl alcohol [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (18):7439–7447.
- [27] 张小峰, 殷正丰, 艾莉, 等. IL-24 对裸鼠肝癌移植瘤的生长抑制和促凋亡作用 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2009, 16(1):45–49.
- [28] Oida Y, Gopalan B, Miyahara R, et al. Sulindac enhances adenoviral vector expressing IL-24-mediated apoptosis in human lung cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4 (2):291–304.
- [29] Pataer A, Vorburger SA, Chada S, et al. Melanoma differentiation-associated gene-7 protein physically associates with the double-stranded RNA-activated protein kinase PKR [J]. *Mol Ther*, 2005, 11(5):717–723.
- [30] 苑兴卉, 俞一鸣, 王筱靛, 等. 腺病毒介导人 MDA-7/IL-24 基因对人鼻咽癌细胞 CNE 的凋亡作用[J]. *复旦学报(自然科学版)*, 2009, 48(3):361–366.
- [31] 熊炬, 彭芝兰, 谭欣, 等. 腺病毒介导 mda-7/IL-24 基因感染对卵巢癌耐药细胞凋亡的影响[J]. *癌症*, 2007, 26(4):371–376.
- [32] Los M. New, exciting developments in experimental therapies in the early 21st century [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 625(1–3) :1–5.