

白细胞介素 - 2 在动物疾病防治中的应用进展

沙万里^{1,2}, 杨桂连^{1*}, 王春风^{1*}

(1. 吉林农业大学动物科学技术学院, 吉林省动物微生态制剂工程研究中心, 长春 130118

2. 吉林农业科技学院动物医学学院, 吉林 132101)

[收稿日期] 2012-12-21 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2013) 04-0058-04 [中图分类号] S852.4

[摘要] 白细胞介素-2(IL-2)是免疫学研究的重要细胞因子之一,在动物疾病防治中发挥重要作用,显示了良好的应用前景。就IL-2作为免疫佐剂增强疫苗免疫效果和提高动物抗感染性疾病能力等方面进行了综述,并对应用中存在的问题进行了探讨。

[关键词] 白细胞介素-2; 细胞因子; 免疫增强

Progress on the Application of Interleukin - 2 in the Prevention and Control of Animal Diseases

SHA Wan - Li^{1,2}, YANG Gui - Lian^{1*}, WANG Chun - Feng^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Jilin Provincial Engineering Research Center of Animal probiotics, Changchun 130118, China; 2. College of Veterinary Medicine, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin 132101, China)

Abstract: Interleukin - 2, one of the important cytokines in immunological research, plays an important role and has a good prospect in prevention and controlling of animal disease. As an adjuvant, the ability of enhancing the vaccine immune effect and animals against infectious diseases was reviewed, the problems in the application was discussed in this article.

Key words: interleukin - 2; cytokine; immune enhancement

白细胞介素-2(Interleukin-2, IL-2)是具有广泛生物学活性的重要免疫调节因子之一,分子量大小约为14 kDa,由特异性抗原或致丝裂素激活的T淋巴细胞分泌产生。1976年Morgan等^[1]将其命名为T细胞生长因子,1979年5月于瑞士召开的第二届国际淋巴因子工作会议中正式命名为白细胞介素-2^[2]。

IL-2可以促进T、B淋巴细胞、NK细胞等细胞增殖与分化,促进干扰素(Interferon, IFN)、肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor, TNF)等细胞因子分泌^[3],可以提高动物机体细胞免疫和体液免疫能

力,解除机体免疫抑制,增强疫苗免疫效果,降低疫苗副反应,治疗寄生虫感染等^[4-5]。目前,IL-2已成为一种在预防和治疗疾病方面备受关注的重要细胞因子。基于IL-2在抗病毒、抗感染、抗毒素、抗肿瘤及免疫调节中发挥重要的作用^[6-7],诸多学者已经把目光投向将其用于动物疾病防治的领域,而且IL-2作为免疫佐剂提高动物疫苗免疫效果和制备基因工程疫苗等方面^[8]展现出非常广阔的应用前景。

1 IL-2作为免疫佐剂提高疫苗免疫效果

免疫佐剂(Vaccine adjuvant)又称为非特异性

基金项目: 国家863计划项目(2011AA10A215, 2013AA100806); 国家自然科学基金项目(31272552, 31272541, 81170358); 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-10-0175); 吉林省科技发展计划项目(20111816, 20080104); 吉林省世行贷款农产品质量安全项目(2011-Y07)

作者简介: 沙万里, 硕士, 从事动物病原微生物免疫学与分子生物学研究。

通讯作者: 杨桂连, E-mail: yangguilian@jlau.edu.cn; 王春风, E-mail: wangchunfeng@jlau.edu.cn

免疫增生剂。本身不具备抗原性,但同抗原一起或预先注射到机体内能够增强免疫原性或改变免疫反应类型。免疫佐剂常有下列几类:抗原传递系统佐剂,如弗氏佐剂、脂质体、免疫刺激复合物(ISCOR)、生物降解微球;铝盐佐剂;微生物来源佐剂,如胞壁酰二肽(MDP)及其衍生物、CpG 免疫调节序列、单磷酸脂质 A (MLA)、霍乱毒素(CT);细胞因子佐剂;天然来源佐剂,如 Quil A、蜂胶;化学物质,如左旋咪唑、西米替。部分佐剂会引起各种副反应,从而很大程度上限制其应用^[9]。很多研究者尝试应用多种方法来增强疫苗免疫效果和提高免疫保护力,其中使用细胞因子佐剂可能是解决疫苗免疫效果不佳的有效方法之一^[10]。

白细胞介素、干扰素等细胞因子作为免疫佐剂已应用于 DNA 疫苗或活载体疫苗中,有研究表明 IL-2 作为细胞因子佐剂已经在多种基因工程疫苗的研发中取得了良好的免疫效果^[11]。目前,IL-2 作为免疫佐剂主要应用于增强常规疫苗和核酸(DNA)疫苗的免疫效果。

1.1 增强常规疫苗免疫效果 张怀等^[12]将 IL-2 作为黏膜免疫佐剂与新城疫弱毒苗口腔注入 8 日龄固始鸡,结果表明 IL-2 能增加浆细胞分泌 SIgA,延长疫苗免疫时间并能增强免疫效果。牛泽等^[13]将 7 日龄健康 SPF 鸡腿部肌肉注射重组鸡 IL-2 和胸部肌肉注射禽流感灭活疫苗,试验结果表明重组 IL-2 蛋白对疫苗具有明显的增强作用。张光勤等^[14]研究表明,猪瘟疫苗免疫同时应用重组 IL-2,可以显著提高经产母猪和育成母猪猪瘟疫苗的抗体滴度水平及整齐度。王彦彬等^[15]也通过重组 IL-2 与鸡新城疫灭活苗联合免疫 8 日龄固始鸡证实其对新城疫疫苗的免疫增强效果,提高血清中抗体水平。以上试验均表明 IL-2 佐剂疫苗具有诱导产生中和抗体的时间早,抗体滴度高的特点,是替代常规疫苗佐剂安全、有效的方法。

1.2 增强基因工程疫苗免疫效果 魏浩澈等^[16]将猪 IL-2 成熟肽基因与 PPV VP2 基因和 PCV2 ORF2 抗原多肽基因重组,构建重组质粒 pCI-IL2-ORF2-VP2,通过转染 PK15 细胞表明重组质粒能够在体外正常表达,免疫小鼠试验证明猪 IL-2 基因重组能显著增强 VP2/ORF2 核酸疫苗效果。何雷等^[17-18]重组腺病毒 Ad-pIL-2,通过兔体交互试验证明 Ad-pIL-2 病毒滴度可以达到 $10^{8.25}$ PFU/mL,而用共表达猪瘟病毒 E2 基因和猪 IL-2 基因的重组腺病毒 rAd-E2-pIL-2,经兔体交互

免疫试验证明 rAd-E2-pIL-2 病毒滴度达 $10^{8.12}$ PFU/mL,淋巴细胞转化试验结果显示猪瘟病毒诱导兔淋巴细胞特异性增殖,攻毒后 rAd-E2-pIL-2 接种兔和猪瘟病毒 C 株接种兔均未出现定型热反应,并且提高兔的抗体水平。云水丽^[19]将禽流感病毒(AIV)H5 亚型血凝素(HA)基因和鸡 IL-2 基因重组获得 rFPV-H5A-IL2 重组鸡痘病毒,免疫结果表明 rFPV-H5A-IL2 免疫比 rFPV-H5A 免疫的试验鸡的抗体水平显著提高,在商品鸡中的攻毒保护率也显著高于 rFPV-H5A 免疫组,而排毒率显著低于后者。Hulse 等^[20]研究发现,鸡 IL-2 能激发 CTL 反应,与传染性法氏囊病毒(IBDV)的 VP2 抗原联合免疫鸡可提高其攻毒保护能力,提高 T 细胞免疫。Kumar 等^[21]克隆了 IBDV 的 VP2 蛋白,并将其与鸡 IL-2 同时使用以抵抗 IBDV,发现其具有良好的免疫效果。大量的试验研究均表明了 IL-2 可以作为基因疫苗的免疫增强剂应用于动物疫病防治中。

2 在动物感染性疾病防治中的应用

IL-2 是机体免疫调节核心物质,最近国内外许多研究表明 IL-2 在显著增强疫苗免疫效果的同时,可以明显的促进抗体的分泌,降低病原体的入侵率,缓解症状^[22]。在防治细菌、病毒和寄生虫等感染性疾病得到广泛应用。

2.1 防治细菌性感染疾病 李祥瑞^[23]用抗生素同时配合重组 IL-2 治疗猪链球菌病,能够使疗程缩短 2~5 d,治愈率提高 50% 并且停药后不复发,显示出明显的治疗效果,Irene 等^[24]通过腹腔注射重组 IL-2 治疗小鼠子宫内膜炎,结果显示重组 IL-2 有潜在的免疫调节作用。庄玉辉等^[25]通过将小鼠接种 TB5 和肌肉注射重组 IL-2,观察脾脏中结核杆菌(Tuberculosis, TB)细菌数目,结果重组 IL-2 对 TB 的抑制作用能达到 99%,可见重组 IL-2 对 TB 有很强的抑制作用。

2.2 防治病毒性感染疾病 IL-2 能增强体内的 NK、CTL、LAK 等杀伤细胞活性,清除被病毒感染的细胞,诱导所产生的 IFN- γ 和 TNF 能对病毒再侵入健康细胞起到抑制作用。IFN- γ 能够激活巨噬细胞,增强主要组织相容性复合物 I 和 II 抗原的表达,抑制病毒的复制^[26]。杨发龙^[27]证实鸡 IL-2 不仅能明显提高特异性免疫应答能力,与疫苗联合使用可提高疫苗的免疫原性,还能够有效的防治法氏囊等病毒性疾病。肖啸等^[28]用 IL-2 配合常规药物治疗犬传染性肝炎其治愈率由 90% 上升到

97%, 疗程也平均缩短 3 d, 说明 IL-2 对辅助治疗病毒性疾病有较好的效果。

2.3 防治寄生虫性感染疾病 Kasper^[29]等发现在弓形虫感染小鼠的过程中, 宿主免疫力的产生与 $\gamma\delta$ -T 细胞的增加紧密相关。Xu^[30]等将鸡 IL-2 用于鸡球虫 DNA 疫苗中, 结果证明免疫鸡能够产生针对鸡球虫的保护率高达 100%, 同时不影响鸡增重。谢昆^[31]抗球虫试验中给雏鸡(分别在 14 日龄和 21 日龄)胸部肌肉注射不同剂量的重组鸡 IL-2 蛋白, 并于 28 日龄口服接种 1×10^5 个活球虫卵囊, 结果表明, 其中以注射 250 μg 重组鸡 IL-2 蛋白的试验组抗球虫效果最好, 相对卵囊产量为 23.26%, 盲肠病变记分分别为 0.4, 相对增重率为 97.80%, 综合抗球虫指数 (ACI) 达到 192.8, 抗球虫效果良好, 明显的优于其他试验组。说明重组鸡 IL-2 蛋白能降低相对卵囊产量、减少盲肠病变、提高相对增重。以上试验结果均表明 IL-2 治疗寄生虫性感染疾病具有较好的防治效果。

3 问题与展望

近十年研究表明 IL-2 在动物疾病防治中已凸显出其重要性, IL-2 作为免疫佐剂不仅在增强常规疫苗和基因疫苗免疫效果方面展现出优越性, 而且作为防治剂在防治各类感染性疾病方面也表现出较好的效果。IL-2 能够提高抗病毒 T 细胞应答^[32], 在临床治疗肿瘤、肝炎、艾滋病等已得到应用, 同时 IL-2 应用于动物疾病防治的相关产品也已问世, 已具备壳聚糖纳米颗粒包装 VPIL2 质粒作为新型动物抗感染分子免疫增强剂的应用^[33]、猪 α 干扰素 (PoIFN- α)/白细胞介素 2 (PoIL-2) 嵌合基因的构建表达及表达蛋白的快速复性与纯化^[34]、壳聚糖纳米颗粒包装 VRIL2S + VRIL6C 质粒组合作为新型动物抗感染分子免疫增强剂的应用^[35]、鸡 α 干扰素 (ChIFN- α)/白细胞介素 2 (ChIL-2) 嵌合基因用于鸡病毒性疾病预防和治疗^[36]等相关技术, 为 IL-2 走向市场奠定了基础。

目前, IL-2 在免疫系统的活化和平衡作用机制正在被不断的被揭示^[37], 已有很多国内外学者把目光投向 IL-2 及其相关药物在降低器官移植产生的急性排斥反应以及减少激素用量、研究高效广谱的 IL-2 基因工程抗病毒制剂^[38]、构建 IL-2 重组基因工程疫苗、开发安全有效的成熟的疫苗佐剂等科研领域。但同时也存在许多问题: 1) 表达载体的选用: 真核表达载体在真核细胞内能稳定地表达外源目的基因, 但蛋白表达量较低、纯化工艺复

杂, 从而提高规模化生产成本, 而原核表达载体表达外源蛋白量高、成本低、可应用性强, 但同时容易形成难溶的包涵体蛋白, 纯化后所表达蛋白构象是否具有较高生物活性; 2) 外源性与内源性差异: 外源 IL-2 毕竟不是自身所产生, 在调节机体免疫系统的同时存在潜在的副作用; 3) 给药途径: 采用注射方法和口服建立黏膜免疫是两种不同的途径, 针对不同的疾病究竟哪种方法的免疫和治疗效果最佳还有待摸索; 4) 添加剂量与时相: 大量试验表明低剂量使用 IL-2 效果不佳, 而高剂量使用又会产生自身免疫抑制, 导致自身免疫系统失衡, IL-2 半衰期短, 有时还可在体内诱导产生一定抗体, 这也是研制长效剂型 IL-2 产品制约因素之一; 5) 抗原表位的优化、表达载体的修饰以及外源给予 IL-2 是否影响动物安全等方面还有待于进一步研究。

随着国家规模化养殖技术的推广, 饲养环境恶化程度的加剧, 禽流感等各种传染类疾病对养殖业甚至人类的危害日益加剧, 传统防治方法已不能满足需求。对新型免疫防治剂、免疫增强剂, 以及基因工程疫苗的需求显得尤为迫切。本实验室已开展重组 IL-2 微生态制剂对动物疾病防治的相关研究, 探索新型微生态制剂的制备方法和实际应用效果。由此可见, 未来 IL-2 将会在提供安全绿色的动物产品、防治动物重大疫病、攻克人类疾病防治难题等领域展现出非常广阔的前景。

参考文献:

- [1] Morgan D A, Ruscetti F W, Gallo R. Selective *in vitro* growth of T lymphocytes from normal human bone marrows [J]. Science, 1976, 193(4257): 1007-1008.
- [2] Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, *et al.* Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2 [J]. Nature, 1983, 302(5906): 305-310.
- [3] Malek T R. The main function of IL-2 is to promote the development of T regulatory cells [J]. Journal of Leukocyte Biology, 2003, 74(6): 961-965.
- [4] Douglas J. Schwartzentruber, David H. Lawson, Jon M. Richards, *et al.* Gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma [J]. New England Journal of Medicine, 364(22): 2119-2127.
- [5] 李蕴玉, 李佩国, 张艳英, 等. 白细胞介素-2 (IL-2) 在兽医中的应用进展 [J]. 河北科技师范学院学报, 2006, 20(4): 63-66.
- [6] Hyun S, Lillehoj, Xi C D, *et al.* Resistance to intestinal coccidiosis following DNA immunization with the cloned 3-1E Eimeria gene plus IL-2, IL-15 and IFN- γ [J]. Avian Diseases, 2005, 49(1): 112-117.

- [7] Zhang H Y, Sun S H, Guo Y J, *et al.* Optimization strategy for plasmid DNAs containing multiple - epitopes of foot - and - mouth disease virus by cis - expression with IL - 2 [J]. *Vaccine*, 2008, 26(6): 769 - 777.
- [8] 余 波. 鹅白介素 - 2 成熟蛋白基因表达及其免疫佐剂效应的研究 [D]. 四川. 四川农业大学. 2008.
- [9] 潘杭君, 孙红祥. 免疫佐剂的研究进展 [J]. *中国兽药杂志*. 2004, 38(1): 32 - 37.
- [10] Ma M, Jin N, Wang Z, *et al.* Construction and immunogenicity of recombinant fowlpox vaccines coexpressing HA of AIV H5N1 and chicken IL18 [J]. *Vaccine*, 2006, 24(20): 4304 - 4311.
- [11] Rompato G, Ling E, Chen Z, *et al.* Positive inductive effect of IL - 2 on virus - specific cellular responses elicited by a PRRSV - ORF7 DNA vaccine in swine [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2006, 109(1 - 2): 210 - 216.
- [12] 张 怀, 裴淑丽, 赵珊珊, 等. IL - 2 对免疫新城疫疫苗的固始鸡十二指肠 (SIgA) 分泌的增强作用 [J]. *江西农业学报*, 2010, 22(1): 122 - 125
- [13] 牛 泽, 任晓峰, 曾 岩, 等. 重组鸡白介素 - 2 对禽流感灭活疫苗免疫增强作用的研究 [J]. *中国家禽*, 2010, 32(3): 20 - 23.
- [14] 张光勤, 李 旺, 赵星灿, 等. 重组白介素 - 2 对猪瘟疫苗免疫效果的影响 [J]. *河南农业大学学报*, 2003, 37(2): 174 - 176.
- [15] 王彦彬, 闫峰宾, 康相涛. 重组鸡 IL - 2 对新城疫灭活疫苗免疫效果的影响 [C]. *中国家禽科学研究进展第十四次全国禽科学学术讨论会论文集*, 2009: 1058 - 1061.
- [16] 魏浩澈, 徐志文, 徐 凯, 等. 猪 IL2 基因重组对 PPV VP2 - PCV2 ORF2 真核质粒免疫原性增强的研究 [J]. *中国兽医学报*, 2011, 31(3): 315 - 322.
- [17] 何 雷, 张彦明, 向 华, 等. 表达猪白介素 2 基因重组腺病毒的构建及其免疫增强作用 [J]. *西北农业学报*, 2010, 19(11): 1 - 7.
- [18] 何 雷, 张彦明, 徐彦召, 等. 共表达猪瘟病毒 E2 基因和猪白介素 2 基因的重组腺病毒的构建及其免疫原性研究 [J]. *病毒学报*, 2010, 26(5): 385 - 391.
- [19] 云水丽, 张 伟, 刘武杰, 等. 共表达 H5 亚型禽流感病毒 HA 基因和鸡 IL - 2 基因的重组鸡痘病毒的构建及其免疫效力研究 [J]. *病毒学报*, 2009, 25(6): 430 - 435.
- [20] Hulse D J, Romero C H. Partial protection against infectious bursal disease virus through DNA - mediated vaccination with the VP2 capsid protein and chicken IL - 2 genes [J]. *Vaccine*, 2004, 22(9 - 10): 1249 - 1259.
- [21] Kumar S, Ahi Y S, Salunkhe S S, *et al.* Effective protection by high efficiency bicistronic DNA vaccine against infectious bursal disease virus expressing VP2 protein and chicken IL - 2 [J]. *Vaccine*, 2009, 27(6): 864 - 869.
- [22] Lowenthal J W, Lambrecht B, Van den Berg T P, *et al.* Avian cytokines the natural approach to therapeutics [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2000, 24: 355 - 365.
- [23] 李祥瑞, 赵星灿, 张江宏, 等. 重组白介素 - 2 用于猪链球菌病治疗试验 [J]. *畜牧与兽医*, 2002, 34(2): 26.
- [24] Irene Velasco, Francisco Quereda, Rosa Bermejo, *et al.* Intraperitoneal recombinant interleukin - 2 activates leukocytes in rat endometriosis [J]. *Journal of Reproductive Immunology*, 2007, 74: 124 - 132.
- [25] 庄玉辉, 李国利, 张晓刚, 等. rIL - 2 在小鼠体内抗结核菌能力的研究 [J]. *上海免疫学杂志*, 1992, (2): 76 - 77.
- [26] Song K D, Lillehoj H S, Choi K D, *et al.* Expression and functional characterization of recombinant chicken interferon - gamma [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1997, 58: 321 - 333.
- [27] 杨发龙, 岳 华, 贾文祥. 鸡白介素 - 2 (IL - 2) 对鸡免疫功能的影响 [J]. *中国家禽*, 2005, 27(19): 17 - 20.
- [28] 肖 啸, 李松彪, 李志敏, 等. 白介素 - 2 对犬传染性肝炎的疗效观察 [J]. *动物科学与动物医学*, 2004, 21(12): 78 - 79.
- [29] Kasper L H, Matsuura T, Fonseka S, *et al.* Induction of gamma - delta T cells during acute murine infection with *Toxoplasma gondii* [J]. *The Journal of Immunology*, 1996, 157: 5521 - 5527.
- [30] Xu Q, Song X, Xu L X, *et al.* Vaccination of chickens with a chimeric DNA vaccine encoding *Eimeria tenella* TA4 and chicken IL - 2 induces protective immunity against coccidiosis [J]. *Veterinary Parasitology*, 2008, 156(3 - 4): 319 - 323.
- [31] 谢 昆, 李祥瑞. 重组鸡 IL - 2 的抗虫作用 [J]. *中国兽医杂志*, 2006, 42(8): 7 - 9.
- [32] Joseph N. Blattman, Jason M. Grayson E. John Wherry, *et al.* Therapeutic use of IL - 2 to enhance antiviral T - cell responses in vivo [J]. *Nature Medicine*, 2003, 9: 540 - 547.
- [33] 四川今朝生物科技有限公司. 猪白介素 - 2 基因抗感染制剂的制备及应用 [P]. 中国专利: CN1720998, 2006 - 01 - 18.
- [34] 河南省动物疫病预防控制中心. 猪 α 干扰素/白介素 2 嵌合基因其构建及其蛋白纯化方法 [P]. 中国专利: CN101570757. 2009 - 11 - 04.
- [35] 四川大学. 新型猪白介素 2 和 6 基因表达质粒抗感染制剂的应用技术 [P]. 中国专利: CN1954886. 2007 - 05 - 02.
- [36] 河南省动物疫病预防控制中心. 鸡 α 干扰素/白介素 2 嵌合基因 [P]. 中国专利: CN102041263A. 2011 - 05 - 04.
- [37] Onur Boyman, Jonathan Sprent. The role of interleukin - 2 during homeostasis and activation of the immune system [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2012, 3(12): 180 - 190.
- [38] William J Murphy, James L Ferrara, Thomas Malek. A delicate balance: tweaking IL - 2 immunotherapy [J]. *Nature Medicine*, 2012, 18: 208 - 209.

(责任编辑: 陈 希)