

干扰素刺激基因在肿瘤免疫中作用机制的研究进展*

曹发迪 李 凡**

吉林大学基础医学院, 长春 130021

[摘要] 干扰素刺激基因 (ISGs) 是一种经干扰素诱导、刺激后显著表达的基因。可通过免疫抑制分子的浸润, 免疫检查点抑制, 免疫编辑等方式抑制或者促进肿瘤细胞的生长浸润。本文对 ISGs 在肿瘤免疫中的具体作用机制及其在肿瘤药物治疗中发挥的作用作一综述, 有望为开发更为精准的治疗策略提供理论基础。

[关键词] 干扰素刺激基因; 免疫检查点抑制; 免疫抑制分子; 肿瘤药物

doi: 10.3969/j.issn.1674-7593.2024.05.018

Breakthroughs in the Roles of Interferon-stimulated Genes in Tumor Immunity

Cao Fadi Li Fan**

College of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021

** Corresponding author: Li Fan, email: lifan@jlu.edu.cn

[Abstract] Interferon-stimulated genes (ISGs) are crucially expressed in response to interferons and play pivotal roles in tumor immunity. These genes can either inhibit or promote tumor growth and infiltration by modulating immunosuppressive molecules, immune checkpoint inhibition, and immune editing. This review examines the specific mechanisms through which ISGs influence tumor immunity and their impact on oncological drugs, aiming to provide a theoretical foundation for developing more precise treatment strategies.

[Key words] Interferon-stimulated genes; Immune checkpoint inhibition; Immunosuppressive molecules; Oncological drugs

干扰素 (Interferon, IFN) 是一种具有抗病毒、抗肿瘤、免疫调节和促细胞分泌等多方面作用的细胞因子, 根据其结构特征、受体、细胞来源和生物活性, 分为 3 种类型 IFN-I、IFN-II 和 IFN-III。IFN-I 在抗病毒领域扮演主要角色, 同时也能诱导抗肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤细胞血管生成, 并在免疫系统中发挥多种重要作用^[1]。IFN-I 家族由 IFN- α 、IFN- β 等亚型组成, 它们共享一个共同的受体——干扰素- α/β 受体 (Interferon alpha/beta receptor, IFNAR)^[2]。当 IFN-I 与 IFNAR 结合并激活 Janus 激酶信号转导子和转录激活子途径时, 诱导干扰素刺激基因 (Interferon-stimulated genes, ISGs) 表达上调。ISGs 的表达情况可调控细胞免疫, 如凋亡、自噬等。此外, ISGs 在肿瘤免疫中的作用机制也越来越受到重视。ISGs 的表达产物有上百种, 其中与肿瘤免疫相关性较强的主要是 ISGs15。本文拟对 ISGs 在肿瘤免疫中的作用作一综述, 为开发更为精准的肿瘤治疗策略提供理论基础。

1 ISGs 的生物学活性

1.1 蛋白的 ISGs 化

ISGs 存在一个巯基基团, 可以连接在特定蛋

白质的特定部位, 从而对该蛋白进行修饰。改变该蛋白的活性及功能。ISGs 既可以以游离态发挥作用, 也可以借助类泛素 (Ubiquitin-like, Ubl) 修饰剂对 ISGs 进行修饰后发挥作用。这种 Ubl 修饰剂是一种二聚体, 其合成受到 IFN-I, INF-II, IFN-III 的诱导^[3]。这一过程称为蛋白 ISGs 化 (IS-Gylation)^[4]。

蛋白的 ISGs 化与泛素化过程极为相似, 均需要 3 种酶的共同作用, 即 E1、E2 和 E3。①活化, E1 活性中心半胱氨酸的巯基与 ISGs 的羰基连接, 消耗 ATP; ②转巯基化, ISGs 从 E1 转移至 E2 活性中心半胱氨酸的巯基上; ③连接, E3 连接酶催化 ISGs 从 E2 转移到靶蛋白赖氨酸 ϵ -氨基, 形成异肽键。ISG15 特异性异肽酶, 泛素特异性肽酶 18 (Ubiquitin specific peptidase 18, USP18) 均可以水解该异肽键, 从而逆转靶蛋白的 ISGs 化。蛋白 ISGs 化系统的 E1 称为类泛素修饰激活酶 7 (Ubiquitin like modifier activating enzyme 7, UBA7)^[5]。UBA7 的表达受到 IFN 的刺激, 但其效力较弱^[6]。蛋白 ISGs 化途径的 E2, 称之为泛素共轭酶 E2 L6 (Ubiquitin conjugating enzyme E2 L6, UBE2L6), 对 ISG15 具有高亲和力。同时充当泛素化过程的 E2,

* 吉林省教育厅科研项目 (JKH20211161KJ)

** 通讯作者: 李 凡, 电子邮箱 lifan@jlu.edu.cn

因此它在蛋白 ISGs 化和泛素化之间建立了联系^[7]。UBE2L6 的启动子含有一个内部核糖体结合位点, 该位点推动 IFN 诱导的表达^[8]。蛋白 ISGs 化的 E3 有 3 种, 均由 IFN 诱导表达, 其中前两个, 泛素连接酶 25 (Tripartite motif-containing 25, TRIM25) 和果蝇的人类同源物 (Human homolog of drosophila ariadne, HHARI), 对 14-3-3 蛋白 (又称为酪氨酸 3-加单氧酶/色氨酸 5-加单氧酶激活蛋白) 和真核起始因子 4e 同源蛋白 (Eukaryotic initiation factor 4E-homologous protein, 4EHP) 表现出特异性^[9]。14-3-3 蛋白的亚型 14-3-3 ζ 主要通过调控细胞增殖、细胞周期和信号转导等影响肿瘤的形成和发展, 它在多种肿瘤组织中表达量增加, 推测其可能与肿瘤的形成和发展有关。但是, 第三种 E3 连接酶, 含与人乳头瘤病毒 E6 相关蛋白的 C 末端同源 (Homologous to E6-associate protein C-terminus, HECT) 结构域和染色体凝结核调节器 1 (Regulator of chromosome condensation 1, RCC1) 结构域, 称为 HERC5, 却不表现出对靶蛋白的特异性, 但广泛存在^[10]。这可能是因为, HERC5 与合成蛋白质的场所核糖体结合, 以低特异性的方式无选择性地与新合成的蛋白质结合^[11]。

1.2 激活 ISGs 的信号转导途径

介导 ISGs 产生的信号转导途径是免疫系统对抗病原体和调节免疫应答的关键机制之一。其中 Janus 激酶信号转导和转录激活因子 (Janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT) 信号转导途径是最重要的, 该信号通路的激活主要是通过外界 IFN 刺激从而引发^[12]。这一复杂的信号传导网络在细胞内部调控了一系列基因的表达并加强免疫系统的活性, 进而提高了对病原体和肿瘤的抵抗能力。肿瘤细胞能通过影响 IFN 信号传导途径来实现免疫逃逸。例如, 肿瘤细胞可以降低或阻断 IFN 受体的表达, 减少对 IFN 的敏感性, 从而减少 IFN 信号传导引起的免疫应答。在肿瘤微环境中存在的免疫抑制因子可以干扰 JAK-STAT 信号转导途径的正常功能, 从而削弱干扰素诱导的免疫应答, 促进肿瘤的免疫逃逸和生长^[13]。多种类型的 IFN 在细胞表面与相应的受体结合, 从而激活受体的跨膜区域并诱导了 JAK 的产生和释放^[14]。JAK 家族成员在激活状态下其磷酸化了受体的酪氨酸残基, 形成受体-激酶复合物。继而激活 STAT 蛋白家族^[15]。被激活的 STAT 蛋白经过酪氨酸的磷酸化, 形成二聚体, 并在 Src 同源 2 (Src-homology 2, SH2) 结构域与其他 STAT 蛋白结合。这些 STAT 二聚体进入细胞核, 结合到 ISGs 的启动子区域, 直接促进 ISGs 的基因转录^[8, 11]。

2 ISGs 与肿瘤的免疫逃逸

肿瘤的免疫逃逸是指肿瘤细胞逃脱宿主免疫系统的监测和攻击, 使得肿瘤逃避免疫细胞的杀

伤, 持续生长和扩散。肿瘤的免疫逃逸主要通过免疫抑制分子的浸润、免疫检查点抑制及免疫编辑等实现。

2.1 免疫抑制分子的浸润

免疫抑制分子的浸润机制是指免疫抑制分子在组织或肿瘤微环境中的积聚和存在。这些分子包括各种细胞因子、细胞表面受体、化学信号物质等, 抑制免疫系统的正常功能, 使其无法有效识别和攻击异常细胞, 是肿瘤免疫逃逸的主要元凶。

肿瘤来源的转化生长因子 β (Transforming growth factor beta, TGF- β) 和 ISGs 的高表达促使肿瘤免疫逃逸。一个位于核糖体的长链非编码 (Long non-coding RNA, lncRNA) VPS9D1-AS1, 能够放大 TGF- β 信号和 ISGs 表达^[16]。VPS9D1-AS1 的高表达与结直肠癌肿瘤细胞 (Carcinoma of colon and rectum, CRC) 的两个独立队列中 T 淋巴细胞浸润呈负相关^[17]。VPS9D1-AS1 作为一种支架性 lncRNA, 通过与核糖体蛋白 S3 结合, 增强了 TGF- β 、转化生长因子 β 受体 1 基因 (Transforming growth factor beta receptor 1 gene, TGFBR1) 和转录因子 SMAD 家族成员 1/5/9 的翻译。VPS9D1-AS1 的敲除降低了 ISGs 的一种, 2', 5'-寡腺苷酸合成酶 1 (2'-5'-oligoadenylate synthetase 1, OAS1) 的表达, 进一步降低了肿瘤细胞中的 IFNAR1 水平。肿瘤来源的 VPS9D1-AS1/TGF- β /ISGs 信号级联放大效应在促进肿瘤生长和增强免疫逃逸方面起着重要作用。与良性乳腺细胞相比, ISGs15 在某些乳腺癌细胞中表达丰富, 提示 ISGs15 与乳腺癌细胞的增殖和侵袭可能有关^[18]。在乳腺癌细胞系 ZR-75-1 中, 抑制 ISGs15 和其特异性 E2 酶 UbcH8 的蛋白 ISGs 化过程会导致细胞骨架结构的重组, 被破坏的乳腺癌细胞增殖, 增加了乳腺癌细胞的活性^[19]。使用基因集富集分析技术发现, 当乳腺癌细胞给予黄体酮作为治疗方法时, ISGs 的表达被显著抑制, 未经黄体酮处理的乳腺癌细胞中, ISGs 表达活跃, 表明黄体酮与 ISGs 之间存在负相关。这种影响也在人类乳腺癌组织样本的实验中得到了验证, 显示出 ISGs 在黄体酮的作用下在转录水平被抑制, 这种抑制很可能是通过蛋白质位移和空间竞争等方式实现^[20]。

在他莫昔芬耐药和放射耐药的乳腺癌细胞中, 与 IFN 信号相关的基因表达水平明显增加。表明 ISGs 在乳腺癌细胞对这些治疗产生耐药性的过程中被上调。长期的他莫昔芬治疗或重复的放射治疗可能导致耐药细胞中 ISGs 表达的增加, 从而影响癌细胞的生物学行为^[21]。在乳腺癌患者的队列分析中发现, 他莫昔芬耐药和放射耐药乳腺癌细胞中, 表达水平最高的基因与 IFN 信号相关的基因在乳腺癌患者中高度相关^[22]。高 ISGs 表达的乳腺癌患者在接受他莫昔芬治疗或放疗后预后较差,

提示 ISGs 的激活可能与治疗效果和患者的整体生存率相关^[23]。

对肺腺癌的癌组织进行 ISGs15 免疫组化分析发现, ISGs15 高表达的患者具有更长的生存期和无复发生存时间, ISGs15 与上皮剪接调节蛋白 1 (Epithelial splicing regulatory protein 1, ESRP1) 相互作用, 有助于抑制上皮-间充质转化 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT), 表明 ISGs15 可能是肺腺癌患者预后良好的指标^[24]。

抑制 ISGs15 可以有效阻断甲状腺癌细胞的癌症干细胞样特征, 并在异种移植小鼠和斑马鱼模型中显著阻碍它们的生长和转移^[25]。在肿瘤相关钙信号转导子 2 (Tumor associated calcium signal transducer 2, TACSTD2) 小干扰 RNA 肿瘤样细胞簇中, ISGs15 表达降低。ISGs15 在未被干预的甲状腺癌患者中则显著增加^[26]。TACSTD2 和 ISGs15 在甲状腺癌患者中的表达呈现显著负相关。

2.2 免疫检查点抑制

免疫检查点抑制是指肿瘤细胞表面的程序性细胞死亡配体 1 (Programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) 与 T 细胞表面的 PD-1 受体结合, 阻止 T 细胞的活化, 从而抑制免疫应答^[27]。

在前列腺癌模型研究中, 抑制 zeste 2 多梳抑制复合体 2 亚基增强子 (Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit, EZH2) 可以活化双链 RNA-干扰素反应刺激器 CGAMP 交互作用因子 (Stimulator of interferon response CGAMP interactor, STING) -ISGs 的应激反应。这种作用促使抗原呈递, 使得趋化因子信号和 IFN 反应相关基因上调, 包括 PD-1^[28]。

簇状分化抗原 47 (Cluster of differentiation 47, CD47) 是 ISGs 的成员之一, 是由 IFN- γ 介导的一类免疫球蛋白。IFN- γ 激活 JAK1/2 信号转导通路, 促进 JAK1、STAT1 和干扰素调节因子 1 (Interferon regulatory factor 1, IRF1) 的表达^[27], 诱导 CD47 的表达^[27]。CD47 与巨噬细胞表面的信号调控蛋白 α (可以视为 CD47 的受体) 结合, 使得信号调控蛋白 α 受体胞质部分的酪氨酸不被磷酸化, 并招募含 SH2 结构域的酪氨酸酸性磷酸酶促进已经磷酸化的酪氨酸去磷酸化, 最终传递一种抗吞噬的信号, 通常称为“别吃我”信号, 从而逃避免疫吞噬。因此, CD47 可能是肿瘤逃避免疫的先天和适应性免疫检查点分子, CD47 阻断也是癌症免疫疗法的潜在靶点。

2.3 免疫编辑

免疫编辑是指免疫系统在肿瘤发展中的双面性, 涵盖 3 个阶段: 消除、平衡和逃逸^[29]。

ISGs 在免疫编辑中起主要作用的是通过水解异肽键而逆转靶蛋白的 ISGs 化的 USP18, 它由 IFN-I 诱导后进行转录, 并通过去 ISGs 化底物和抑制 IFN-I 信号传导来抑制蛋白 ISGs 的过程。USP18

的缺失可以在平衡阶段增加乳腺癌上皮细胞分泌的强效 T 细胞趋化因子 C-X-C 基序趋化因子配体 10 (C-X-C motif chemokine ligand 10, Cxcl10), 从而吸引 Th1 亚型 CD4⁺ T 细胞, 形成一个抑制肿瘤微环境^[30]。从侧面说明了 USP18 的存在可以促进肿瘤的形成与发展, 表现出 ISGs 在免疫编辑中的重要作用。

3 小结与展望

ISGs 可能通过免疫抑制分子的浸润、免疫检查点抑制及免疫编辑等实现肿瘤逃逸, 从而促进乳腺癌、肺腺癌以及甲状腺癌的发生发展, 可能是癌症诊断、治疗及预后的生物学标志物。ISGs 的作用机制主要通过 JAK-STAT 信号通路实现。ISGs 的研究有望为开发更为精准的治疗策略提供理论基础。设计能够调控 ISGs 表达的药物, 从而增强免疫系统对肿瘤的攻击力。

参考文献

- [1] Ji L, Li T, Chen H, et al. The crucial regulatory role of type I interferon in inflammatory diseases [J]. *Cell Biosci*, 2023, 13 (1): 230.
- [2] Chen X, Sun D, Dong S, et al. Host interferon-stimulated gene 20 inhibits pseudorabies virus proliferation [J]. *Virology*, 2021, 36 (5): 1027 - 1035.
- [3] González-Amor M, Dorado B, Andrés V. Emerging roles of interferon-stimulated gene-15 in age-related telomere attrition, the DNA damage response, and cardiovascular disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1128594.
- [4] Tecalco-Cruz A C, Zepeda-Cervantes J. Protein ISGylation: a posttranslational modification with implications for malignant neoplasms [J]. *Explor Target Antitumor Ther*, 2023, 4 (4): 699 - 715.
- [5] Sarkar L, Liu G, Gack MU. ISG15: its roles in SARS-CoV-2 and other viral infections [J]. *Trends Microbiol*, 2023, 31 (12): 1262 - 1275.
- [6] Wardlaw C P, Petrini J. ISG15: a link between innate immune signaling, DNA replication, and genome stability [J]. *Bioessays*, 2023, 45 (7): e2300042.
- [7] Cheon H, Wang Y, Wightman S M, et al. How cancer cells make and respond to interferon-I [J]. *Trends Cancer*, 2023, 9 (1): 83 - 92.
- [8] Munnur D, Banducci-Karp A, Sanyal S. ISG15 driven cellular responses to virus infection [J]. *Biochem Soc Trans*, 2022, 50 (6): 1837 - 1846.
- [9] Suzuki Y, Murakawa T. Restriction of flaviviruses by an interferon-stimulated gene SHFL/C19orf66 [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (20): 12619.
- [10] Xiong F, Wang Q, Wu G H, et al. Direct and indirect effects of IFN-alpha2b in malignancy treatment; not only an archer but also an arrow [J]. *Biomark Res*, 2022, 10 (1): 69.
- [11] Kesheh M M, Mahmoudvand S, Shokri S. Long noncoding RNAs in respiratory viruses: a review [J]. *Rev*

- Med Virol, 2022, 32 (2): e2275.
- [12] Talukder M, Balboula A Z, Bai H, et al. IFNT stimulates lysosomal function via type I IFN signaling pathway in pregnant bovine leukocytes [J]. *Reproduction*, 2023, 166 (6): 411–421.
- [13] Wu S, Wang B, Li H, et al. Targeting STING elicits GSDMD-dependent pyroptosis and boosts anti-tumor immunity in renal cell carcinoma [J]. *Oncogene*, 2024, 43 (20): 1534–1548.
- [14] Gupta S, Yamada E, Nakamura H, et al. Inhibition of JAK-STAT pathway corrects salivary gland inflammation and interferon driven immune activation in Sjögren's Disease [J]. *Ann Rhevm Dis*, 2024. doi: 10.1136/ard-2023-224842.
- [15] Nowicka H, Sekrecka A, Blaszczyk K, et al. ISGF3 and STAT2/IRF9 control basal and IFN-induced transcription through genome-wide binding of phosphorylated and unphosphorylated complexes to common ISRE-containing ISGs [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (24): 17635.
- [16] Yang L, Dong X, Liu Z, et al. VPS9D1-AS1 overexpression amplifies intratumoral TGF- β signaling and promotes tumor cell escape from CD8⁺ T cell killing in colorectal cancer [J]. *Elife*, 2022, 11: e79811.
- [17] Liu H, Zhang X, Jin X, et al. Long noncoding RNA VPS9D1-AS1 sequesters microRNA-525-5p to promote the oncogenicity of colorectal cancer cells by upregulating HMGA1 [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 9915–9928.
- [18] Kariri Y A, Alsaleem M, Joseph C, et al. The prognostic significance of interferon-stimulated gene 15 (ISG15) in invasive breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2021, 185 (2): 293–305.
- [19] Tecalco-Cruz A C, Ramírez-Jarquín J O, Cruz-Ramos E. Regulation and action of interferon-stimulated gene 15 in breast cancer cells [J]. *Hum Cell*, 2020, 33 (4): 954–962.
- [20] Cao L B, Ruan Z L, Yang Y L, et al. Estrogen receptor α -mediated signaling inhibits type I interferon response to promote breast carcinogenesis [J]. *J Mol Cell Biol*, 2024, 15 (7): mjad047.
- [21] Post A, Smid M, Nagelkerke A, et al. Interferon-stimulated genes are involved in cross-resistance to radiotherapy in tamoxifen-resistant breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24 (14): 3397–3408.
- [22] Wang S, Somisetty V S, Bai B, et al. The proapoptotic gene interferon regulatory factor-1 mediates the antiproliferative outcome of paired box 2 gene and tamoxifen [J]. *Oncogene*, 2020, 39 (40): 6300–6312.
- [23] Han S J, Jain P, Gilad Y, et al. Steroid receptor coactivator 3 is a key modulator of regulatory T cell-mediated tumor evasion [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120 (23): e2221707120.
- [24] Qu T, Zhang W, Qi L, et al. ISG15 induces ESRP1 to inhibit lung adenocarcinoma progression [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (7): 511.
- [25] Xu M, Liang H, Li K, et al. Value of KPNA4 as a diagnostic and prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13 (4): 5263–5283.
- [26] Sun H, Chen Q, Liu W, et al. TROP2 modulates the progression in papillary thyroid carcinoma [J]. *J Cancer*, 2021, 12 (22): 6883–6893.
- [27] Qu T, Zhang W, Yan C, et al. ISG15 targets glycosylated PD-L1 and promotes its degradation to enhance antitumor immune effects in lung adenocarcinoma [J]. *J Transl Med*, 2023, 21 (1): 341.
- [28] Morel K L, Sheahan A V, Burkhart D L, et al. EZH2 inhibition activates a dsRNA-STING-interferon stress axis that potentiates response to PD-1 checkpoint blockade in prostate cancer [J]. *Nat Cancer*, 2021, 2 (4): 444–456.
- [29] Desai R, Coxon A T, Dunn G P. Therapeutic applications of the cancer immunoediting hypothesis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 78: 63–77.
- [30] Miyauchi S, Arimoto K I, Liu M, et al. Reprogramming of tumor-associated macrophages via NEDD4-mediated CSF1R degradation by targeting USP18 [J]. *Cell Rep*, 2023, 42 (12): 113560.

(2024-01-24 收稿)