

Toll 样受体在过敏性疾病、感染性疾病及肿瘤中的研究进展

朱 江 肖 佳 何世平 姜文奇 郑 多

摘 要 先天性免疫是机体抵御病原体入侵和维持自体稳态的一个重要防御机制。Toll 样受体作为先天性免疫机制中的重要受体分子,被认为在多个免疫反应相关的信号通路中起关键作用。Toll 样受体家族成员能识别病原信号分子,激活机体免疫系统。然而,在不同疾病中,Toll 样受体的激活或抑制将发挥截然不同的作用。本文重点阐述了 Toll 样受体在过敏性疾病、感染性疾病和肿瘤中的研究进展,并讨论了 Toll 样受体及相关药物在这些疾病中的应用。

关键词 Toll 样受体 过敏性疾病 感染性疾病 肿瘤

中图分类号 R392

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.002

先天性免疫是机体抵御病原体入侵,维持自体稳态的重要防御机制。现今已知多种免疫相关细胞,如中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞及树突状细胞等,与先天性免疫机制有着密不可分的关系。这些免疫相关细胞上普遍存在一类受体分子,它们能够在机体受到外源病原体等入侵时,识别相应的“危险信号”,并启动先天性免疫的保护机制。这些负责识别“危险信号”的重要受体分子被称为模式识别受体(PRRs)。PRRs 种类繁多,根据识别的配体种类以及激活的下游级联通路等,可分为 Toll 样受体(TLRs),C 型凝集素受体(CLRs),NOD 样受体(NLRs),RIG-1 样受体(RLRs)和 AIM2 样受体(ALRs)等 5 类受体分子。其中,Toll 样受体是一类最为重要的模式识别受体,被认为在多个免疫反应相关的信号通路中起关键作用。本文将针对目前热门研究的 Toll 样受体相关疾病,如过敏性疾病、感染性疾病及肿瘤等,讨论 Toll 样受体及相关药物在这些疾病中的研究进展及应用前景。

一、Toll 样受体的分类及相关信号通路

Toll 样受体主要由富含亮氨酸的胞外配体识别区,跨膜区,和参与信号通路的 Toll-interleukin 1 受体(TIR)区域组成。目前,已发现 10 种不同功能的人 Toll 样受体和 12 种鼠 Toll 样受体。根据在细胞分布位置不同,Toll 样受体可分为细胞表面 Toll 样受体

和内涵体 Toll 样受体。细胞表面 Toll 样受体主要有 TLR2、TLR4 和 TLR5。其中 TLR2 常与 TLR1 或 TLR6 组成的异源二聚体,其主要作用是感知细菌产物如脂蛋白、脂多糖、肽聚糖、葡聚糖、糖基磷脂酰肌醇和糖蛋白等;TLR4 主要由革兰阴性菌产生的 LPS 激活;TLR5 主要监测细菌的鞭毛蛋白。而 TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9 则主要是以内涵体 Toll 样受体的形式存在于细胞中,其生物学功能主要是识别细菌的核酸类物质,其中 TLR3 能识别双链 RNA;TLR7 和 TLR8 主要识别单链 RNA;TLR9 则识别包括非甲基化修饰 CpG 的 DNA 序列^[1]。因此,内涵体 TLRs 主要与病毒防御有关,而细胞膜 TLRs 则主要跟细胞和真菌感染有关^[2]。

Toll 样受体的相关信号通路主要是通过 TIR/TIR 区域相互作用实现的,而信号衔接蛋白 MyD88 是 Toll 样受体下游信号通路中的重要分子。除 TLR3 以外几乎所有 Toll 样受体均通过 MyD88 实现下游 NF- κ B 和 MAPK 的活化。TLR5、TLR7、TLR8、TLR9 激活后可直接与 MyD88 分子相互作用,TLR2 和 TLR4 则需要通过 TIRAP 分子与 MyD88 发生作用。包涵体膜上的 TLR3 能够募集 TRIF 并通过 TRAM 的桥接作用激活 TLR4。同时还能通过 TRIF,而非依赖 MyD88,激活 IRF3 以及 NF- κ B 的活化,激活干扰素以及干扰素诱导基因^[3]。Toll 样受体通过不同的机制参与过敏性疾病、感染性疾病以及肿瘤等多种疾病的发生、发展过程,因此研究 Toll 样受体及其相关的激动剂类或抑制剂类药物对这些疾病的预防和治疗有着重要的作用。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81402289)

作者单位:510060 广州,中山大学肿瘤防治中心(朱江、姜文奇);518060 深圳大学医学部(朱江、何世平、姜文奇、郑多);510632 广州,暨南大学生命科学技术学院(肖佳)

通讯作者:郑多,电子信箱:dzheng@szu.edu.cn

二、Toll 样受体与过敏性疾病

现阶段过敏性疾病的治疗,由于治疗费用高、不良反应大以及疗效不显著等因素,亟待寻求新的治疗方案。众多研究表明,Toll 样受体作为先天免疫中的重要受体分子,很有可能成为安全有效的治疗靶点^[4]。Toll 样受体与 Th1 型和 Th2 型 T 细胞的形成和成熟关系密切,因而其在过敏性疾病中发挥着双刃剑的作用^[5]。

Toll 样受体能有效识别多种病原体结构成分,其中包括能引起呼吸道过敏性免疫反应的革兰阳性和阴性细菌以及一些病毒成分。其主要通过 TIR 的衔接蛋白 TIRAP 和 MyD88 下游信号通路最终使干扰素调控因子 3/7、API 和 NF- κ B 移动到细胞核,使得 I 型干扰素及一些趋化因子和细胞炎性因子产量增加^[6]。在多种细胞膜 Toll 样受体中,TLR5 在单核细胞来源的树突状细胞,嗜酸性粒细胞以及呼吸道上皮细胞都有表达。但 TLR5 与呼吸道过敏性疾病的关系还存在争议,有研究认为 TLR5 的表达与哮喘无明显关系,但另有研究提示在哮喘患者呼吸道上皮中 TLR5 表达下降^[7]。研究表明 TLR2 激动剂 Pam3Cys 能增加 Th2 型免疫应答反应以及呼吸道的炎性反应,而同样是 TLR2 激动剂的 Pam3CSK4 却能有效降低 Th2 型细胞因子的释放以及 IgE 的水平^[8]。内涵体 Toll 样受体 TLR7/8 激动剂咪喹莫特,在促进细胞抵抗病毒和病毒导致的呼吸道功能丧失方面有明显作用^[9]。在小鼠实验中,使用咪喹莫特可降低肺组织中巨噬细胞和 B 淋巴细胞的数量以及 TNF- α 产量,同时增加 DC 细胞和自然杀伤细胞的富集及 IL-10 的产量^[10]。另外,近期的临床试验表明,TLR7 激动剂 AZD8848,能够安全有效的降低季节性过敏性鼻炎的症状。其作用机制可能是 AZD8848 能促进 IL-1Ra 的产生,并且降低过敏性鼻炎患者肥大细胞中类胰蛋白和 α 2 巨球蛋白的产生,从而减少浆液渗出以及肥大细胞的活力^[11]。

三、Toll 样受体与感染性疾病

动物实验和临床研究表明,Toll 样受体在感染性疾病中同样发挥重要作用。Toll 样受体经活化后,通过增强成熟抗原递呈细胞等从而增强体内免疫反应^[12]。TLR4 缺陷的 C3H/HeJ 小鼠对 LPS 的免疫应答能力下降,并且容易因鼠伤寒沙门菌等致死性菌而致病^[13]。而 TLR2 敲除小鼠容易受到肺炎链球的感染,并增加其在鼠间的传播^[14]。当机体受到细菌等外源病原体入侵时,TLR4-MD2-CD14 复合体能结

合革兰阴性菌表面内毒素并激活下游相关信号通路^[15]。另外,细胞膜表面的 TLR2 可识别多种微生物源配体,包括细菌、真菌、病毒和寄生虫等,并与 TLR1、TLR6 甚至可能与 TLR10 组成异源二聚体发挥功能性作用。T2.5 是一类能中和 TLR2 的单克隆抗体,并能有效阻断 Pam3CSK4 所介导的 NF- κ B 入核以及 MAPK 磷酸化。Pam3CSK4 或高剂量热灭活枯草杆菌引起休克的动物模型试验中,注射 T2.5 能避免致命的休克综合征,增加模型动物的存活率。另外,T2.5 联合抗 TLR4/MD-2 抗体和抗生素还能抑制小鼠因肠道沙门菌和大肠杆菌感染引起的败血症。

内涵体 Toll 样受体 TLR3 主要识别在病毒感染过程中产生的 dsRNA。在不同病毒感染的情况下,TLR3 发挥的作用也不相同^[16]。致命性呼吸道病毒感染动物模型实验中,运用 TLR3 激动剂多聚胞苷酸 [poly(I:C)] 的衍生物 [Poly(I:C12U)] 进行治疗,收到良好效果。另外,TLR7/8 激动剂咪喹莫特可以活化 TLR7 和 TLR8 能产生大量的 I 型干扰素以及 NF- κ B 信号通路的相关细胞因子,产生强烈的抗病毒反应^[17]。已经进入临床试验的 TLR9 激动剂,如 CPG10101、IMO-2125、SD-101 和 CpG 7909 等 CpG 寡脱氧核苷酸 (CpG ODNs) 类似物,在治疗慢性病毒感染中能发挥重要作用。如在治疗慢性 HCV 感染的实验中,应用 CpG ODNs 类似物激动剂能够有效的抑制病毒的复制,降低体内病毒负载量,促进机体免疫应答反应。

四、Toll 样受体与肿瘤

Toll 样受体及其下游信号通路的过度激活很可能导致持续性免疫反应,最终导致慢性炎症甚至肿瘤的发生,而 Toll 样受体的异常激活很可能在其中扮演重要角色,如幽门螺杆菌感染会增加胃腺癌和胃淋巴瘤的患病风险;特定的 HPV 感染可导致宫颈癌;慢性 HBV 和 HCV 感染直接导致肝癌的发生;EB 病毒感染与伯基特淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤以及鼻咽癌的发生有直接关系;HPV8 是引起卡波西肉瘤的重要因素等^[18]。

高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 是一类肿瘤细胞发生细胞坏死时释放的损伤相关模式分子 (DAMP)。HMGB1 是 TLR4 的一种细胞内源性配体,研究发现 HMGB1 与肿瘤细胞的侵袭,迁移及转移有密切关系^[19]。另一项研究发现,在肿瘤微环境中高水平的 DAMP 相关分子将促进 TLR4 相关慢性炎症的发生,最终导致恶变和肿瘤的形成和转移^[20]。但与此同

时,也有研究发现应用牛结核分枝杆菌卡介苗时,能激发 DC 细胞的 TLR4 以及 TLR2 信号通路,最终促进 T 细胞以及巨噬细胞的活化、增殖和抗肿瘤能力。此外,冻干青霉素灭活后的酿脓链球菌中的提取物 OK-432 也能够通过 TLR4 信号通路提升抗肿瘤免疫能力和 DC 细胞的成熟^[21]。

内涵体 Toll 样受体与肿瘤的发生、发展也密切相关,如增生型和绒毛状息肉型大肠癌患者 TLR9 的表达量明显下降^[22]。很多肿瘤治疗将内涵体 Toll 样受体作为重要的抗肿瘤药物靶点。前文所述的 TLR9 激动剂 CpG 寡脱氧核苷酸是现阶段研究较多的一类靶向 TLR9 的抗肿瘤药物。其诸多类似物已经被用于抗肿瘤治疗研究,如 PF-3512676 在治疗慢性淋巴细胞性白血病效果显著,MGN1703 可有效控制大肠癌等^[23,24]。但同时,另一些研究也发现,活化 TLR3 和 TLR9 能够通过激活 NF- κ B 信号通路,将导致骨髓瘤细胞的增殖^[25]。因此,虽然目前 Toll 样受体相关药物在某些肿瘤的治疗中发挥抗肿瘤的作用,但其适用性和不良反应等仍需进一步研究。

五、展 望

目前,国内对于 Toll 样受体及相关的靶向药物的临床研究较少。综合近年来国际上对 Toll 样受体的研究,无论是过敏性疾病的治疗、感染性疾病的治疗或是抗肿瘤治疗,Toll 样受体都备受关注。但随着对 Toll 样受体信号通路机制等相关研究的深入,人们发现简单的应用相关抑制剂或激动剂作为药物来治疗疾病,似乎过于草率。例如一方面 Toll 样受体能增强免疫反应,但是另一方面,某些肿瘤细胞也可以将这些信号通路为其所用。因此,在研究 Toll 样受体相关治疗药物的同时,也应注意到不同疾病对 Toll 样受体及其信号通路的不同反应。目前临床试验的多种 Toll 样受体激动剂,虽然前期在细胞、组织和动物实验中结果令人满意,但很多药物在临床试验中都表现出失效或是不良反应过大等缺点。因此研究有效、低不良反应的 Toll 样受体相关药物将是未来 Toll 样受体免疫治疗的重点。同时,基于疾病的类型和阶段的不同,目前临床试验中表现较好的药物如 MGN-1703(TLR9)、咪喹莫特(TLR7/8)等,虽然单独使用的治疗作用明显,但越来越多的文献以及临床研究发现,联合多种治疗手段对疾病的控制和治疗效果更为突出。因此,使用现有治疗方案的同时,联合多种新型疗法的综合治疗方法将会表现出更好的应用前景。

参考文献

- Brown J, Wang H, Hajishengallis GN, *et al.* TLR – signaling networks: an integration of adaptor molecules, kinases, and cross – talk [J]. *J Dent Res*, 2011, 90(4): 417 – 427
- Piccinini AM, Midwood KS. DAMPening inflammation by modulating TLR signalling[J]. *Mediators Inflamm*, 2010, 2010(pii): 672395
- Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 805 – 820
- Ramaprakash H, Hogaboam CM. Intranasal CpG therapy attenuated experimental fungal asthma in a TLR9 – dependent and independent manner[J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2010, 152(2): 98 – 112
- Olivier A, Sainz – Perez A, Dong H, *et al.* The adjuvant effect of TLR agonists on CD4⁺ effector T cells is under the indirect control of regulatory T cells[J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(8): 2303 – 2313
- Valkov E, Stamp A, Dimaio F, *et al.* Crystal structure of Toll – like receptor adaptor MAL/ TIRAP reveals the molecular basis for signal transduction and disease protection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(36): 14879 – 14884
- Lun SW, Wong CK, Ko FW, *et al.* Expression and functional analysis of Toll – like receptors of peripheral blood cells in asthmatic patients: implication for immunopathological mechanism in asthma[J]. *J Clin Immunol*, 2009, 29(3): 330 – 342
- Haapakoski R, Karisola P, Fyhrquist N, *et al.* Toll – like receptor activation during cutaneous allergen sensitization blocks development of asthma through IFN – gamma – dependent mechanisms[J]. *J Invest Dermatol*, 2013, 133(4): 964 – 972
- Drake MG, Scott GD, Proskocil BJ. Toll – like receptor 7 rapidly relaxes human airways[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(6): 664 – 672
- Hackstein H, Hagel N, Knoche A, *et al.* Skin TLR7 triggering promotes accumulation of respiratory dendritic cells and natural killer cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e43320
- Greiff L, Cervin A, Ahlstrom – Emanuelsson C, *et al.* Repeated intranasal TLR7 stimulation reduces allergen responsiveness in allergic rhinitis[J]. *Respir Res*, 2012, 13(1): 53
- Watts C, West MA, Zaru R. TLR signalling regulated antigen presentation in dendritic cells[J]. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(1): 124 – 130
- Al – Ojali SM, Tara Moore CB, Fernandez – Cabezudo MJ, *et al.* IFN γ expression by an attenuated strain of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium improves vaccine efficacy in susceptible TLR4 – defective C3H/HeJ mice[J]. *Med Microbiol Immunol*, 2013, 202(1): 49 – 61
- Richard AL, Siegel SJ, Erikson J, *et al.* TLR2 signaling decreases transmission of *Streptococcus pneumoniae* by limiting bacterial shedding in an infant mouse Influenza A co – infection model[J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(8): e1004339
- Bode JG, Ehrling C, Häussinger D. The macrophage response towards LPS and its control through the p38(MAPK) – STAT3 axis[J]. *Cell Signal*, 2012, 24(6): 1185 – 1194

(下转第 11 页)

cytokine production; role of indoleamine 2, 3 - dioxygenase and prostaglandin E2[J]. Blood, 2008, 111(3): 1327 - 1333

- 11 Di Nicola M, Carlo - Stella C, Magni M, *et al.* Human bone marrow stromal cells suppress T - lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli[J]. Blood, 2002, 99(10): 3838 - 3843
- 12 Rasmusson I, Uhlin M, Le Blanc K, *et al.* Mesenchymal stem cells fail to trigger effector functions of cytotoxic T lymphocytes[J]. J Leukocyte Biol, 2007, 82(4): 887 - 893
- 13 Traggiai E, Volpi S, Schena F, *et al.* Bone marrow - derived mesenchymal stem cells induce both polyclonal expansion and differentiation of B cells isolated from healthy donors and systemic lupus erythematosus patients[J]. Stem Cells, 2008, 26(2): 562 - 569
- 14 Fang B, Shi M, Liao L, *et al.* Systemic infusion of FLK1 + mesenchymal stem cells ameliorate carbon tetrachloride - induced liver fibrosis in mice[J]. Transplantation, 2004, 78(1): 83 - 88
- 15 Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, *et al.* Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2003, 48(12): 3464 - 3474
- 16 Zhao LR, Duan WM, Reyes M, *et al.* Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats[J]. Exp Neurol, 2002, 174(1): 11 - 20
- 17 Djouad F, Charbonnier LM, Bouffi C, *et al.* Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin - 6 - dependent mechanism[J]. Stem Cells, 2007, 25(8): 2025 - 2032
- 18 Jiang XX, Zhang YI, Liu B, *et al.* Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte - derived dendritic

cells[J]. Blood, 2005, 105(10): 4120 - 4126

- 19 Sun L, Akiyama K, Zhang H, *et al.* Mesenchymal stem cell transplantation reverses multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans[J]. Stem Cells, 2009, 27(6): 1421 - 1432
- 20 Gu Z, Akiyama K, Ma X, *et al.* Transplantation of umbilical cord mesenchymal stem cells alleviates lupus nephritis in MRL/lpr mice[J]. Lupus, 2010, 19(13): 1502 - 1514
- 21 Carrion F, Nova E, Ruiz C, *et al.* Autologous mesenchymal stem cell treatment increased T regulatory cells with no effect on disease activity in two systemic lupus erythematosus patients[J]. Lupus, 2010, 19(3): 317 - 322
- 22 Sun L, Wang D, Liang J, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheumatol, 2010, 62(8): 2467 - 2475
- 23 Chang JW, Hung SP, Wu HH, *et al.* Therapeutic effects of umbilical cord blood - derived mesenchymal stem cell transplantation in experimental lupus nephritis[J]. Cell Transplant, 2011, 20(2): 245 - 257
- 24 Nemeth K, Keane - Myers A, Brown J M, *et al.* Bone marrow stromal cells use TGF - β to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed - induced asthma[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(12): 5652 - 5657
- 25 Martínez - González I, Cruz M J, Moreno R, *et al.* Human mesenchymal stem cells resolve airway inflammation, hyperreactivity and histopathology in a mouse model of occupational asthma[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(19): 2352 - 2363

(收稿日期: 2014 - 12 - 04)

(修回日期: 2014 - 12 - 17)

(上接第 7 页)

- 16 Matsumoto M, Oshiumi H, Seya T. Antiviral responses induced by the TLR3 pathway[J]. Rev Med Virol, 2011, 21(1): 67 - 77
- 17 Sainathan SK, Bishnupuri KS, Aden K, *et al.* Toll - like receptor - 7 ligand Imiquimod induces type I interferon and antimicrobial peptides to ameliorate dextran sodium sulfate - induced acute colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2012, 18(5): 955 - 967
- 18 Schiller J, Lowy D. Virus infection and human cancer: an overview [M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2014: 1 - 10
- 19 Ko YB, Kim BR, Nam SL, *et al.* High - mobility group box 1 (HMGB1) protein regulates tumor - associated cell migration through the interaction with BTB domain[J]. Cell Signal, 2014, 26(4): 777 - 783
- 20 Sato Y, Goto Y, Narita N, *et al.* Cancer cells expressing toll - like receptors and the tumor microenvironment[J]. Cancer Microenviron, 2009, 2(1): 205 - 214
- 21 Koido S, Homma S, Okamoto M, *et al.* Combined TLR2/4 - activated dendritic/tumor cell fusions induce augmented cytotoxic T lymphocytes[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59280

- 22 Eiró N, González L, González LO, *et al.* Study of the expression of Toll - like receptors in different histological types of colorectal polyps and their relationship with colorectal cancer[J]. J Clin Immunol, 2012, 32(4): 848 - 854
- 23 Zent C, Smith B, Ballas Z, *et al.* A phase I clinical trial of CpG oligonucleotide 7909 (PF - 03512676) in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia[J]. Leuk Lymphoma, 2012, 53(2): 211 - 217
- 24 Schmoll HJ, Wittig B, Arnold D, *et al.* Maintenance treatment with the immunomodulator MGN1703, a Toll - like receptor 9 (TLR9) agonist, in patients with advanced colorectal carcinoma and disease control after induction therapy: a randomised, double - blind, placebo - controlled trial[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(9): 1615 - 1624
- 25 Chiron D, Jegou G, Pellat - Deuceunynck C. Toll - like receptors: expression and involvement in multiple myeloma[J]. Leukemia Research, 2010, 34(12): 1545 - 1550

(收稿日期: 2015 - 02 - 27)

(修回日期: 2015 - 03 - 09)