

Toll 样受体信号传导途径的研究进展

刘光伟^① 夏雪培^② 赵勇^{①*}

(^①中国科学院动物研究所 生物膜与膜生物工程国家重点实验室移植生物学研究组 北京 100080;

^②北京海淀医院内分泌科 北京 100080)

摘要 Toll 样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)成员在固有免疫反应,尤其是调节吞噬细胞(如巨噬细胞等)特异性识别微生物病原体抗原,分泌促炎细胞因子,上调共刺激分子,并诱导机体适应性免疫反应抗微生物病原体感染中发挥重要调控作用,被称为机体固有免疫和适应性免疫调节中的辅助受体(adjuvant receptor)。目前,对 Toll 样受体家族成员调控免疫反应信号传导途径的研究已成为分子免疫学领域的研究热点,认为主要存在髓样分化蛋白 88(MyD88,是一种转接蛋白)依赖性和 MyD88 非依赖性两条主要调控途径。本文仅就 Toll 样受体信号传导途径的研究进展作以简要综述。

关键词 Toll 样受体;信号传导途径;固有免疫

中图分类号:Q952 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)06-117-05

Research Progress in Toll-like Receptor Signal Pathways

LIU Guang-Wei^① XIA Xue-Pei^② ZHAO Yong^①

(^① *Transplantation Biology Division, State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080*; ^② *Department of Endocrinology, Beijing Haidian Hospital, Beijing 100080, China*)

Abstract Members of Toll-like receptors (TLRs) family play an important role in the innate immunity, especially in the defending microbial pathogen infection through regulating phagocytic cells, such as macrophages. It can specially recognize microbial pathogen antigens, induce proinflammatory cytokine expression and upregulate costimulatory molecules and subsequently lead to effective adaptive immunity. So, TLRs are referred as adjuvant receptors in the regulation of innate and adaptive immunity. Recently, research on TLRs signal pathways has become a focus in molecular immunology field. It is believed that there are two pathways in TLRs regulation, MyD88-dependent and MyD88-independent pathways. This review will focus on the research progress in TLRs signal pathways.

Key words Toll-like receptors (TLRs); Signal pathways; Innate immunity

Toll 样受体家族(Toll-like receptors, TLRs)是在免疫系统特异性识别微生物病原体抗原中发挥重要调控作用的受体家族。TLRs 识别病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)主要指广泛存在于病原体细胞表面的分子标志,如酵母细胞上的甘露糖,以及脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, 细菌内毒素)、多肽糖、胞壁酸等各种细菌的细胞壁成分等,这些分子标志在进化中趋于保守。对应于 PAMP, TLRs 则被称为模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR),TLRs 通过识别不同病原体的

PAMP 在抗感染固有免疫中发挥重要作用。TLRs 可对 PAMP 进行识别,促进抗炎细胞因子释放,并通过抗原提呈细胞最终诱导 T 细胞的适应性免疫发生。TLRs 作为连接固有免疫和

基金项目 中国科学院引进海外杰出人才百人计划(2003)、国家杰出青年基金(No. 30425026)、中国博士后基金(No. 30020040300)、中科院王宽诚博士后科研基金(2004)资助;

* 通讯作者, E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn;

第一作者介绍 刘光伟,博士,在站博士后,主要从事移植生物学领域研究。

收稿日期 2005-04-12, 修回日期 2005-09-06

适应性免疫的关键环节发挥着极为重要的作用。目前,对 TLRs 调控免疫反应信号传导途径的研究已成为分子免疫学领域的研究热点,认为主要存在髓样分化蛋白 88(MyD88, 是一种转接蛋白)依赖性和 MyD88 非依赖性两条主要调控途径^[1]。本文仅就 TLRs 信号传导途径的研究现状作以简要综述。

1 Toll 样受体的 MyD88 依赖性信号传导途径

由于白细胞介素-1(interleukin 1, IL-1)受体家族和 TLRs 具有相似的细胞内 TIR 结构域(Toll/IL-1R homologous region, TIR),因此两者具有相似的信号传导途径^[1]。细菌成分,如 LPS 和 IL-1 等刺激可以触发核转录因子 NF- κ B 和 c-Jun 的 N-末端激酶被激活,并诱导促炎细胞因子表达。同 IL-1 受体信号途径相似,大多数 TLRs 均显示可以通过接头蛋白 MyD88 激活 IL-1 受体相关激酶(IL-1 receptor associated kinase, IRAK)。MyD88 具有 2 个明显的结构域,即 N-末端死亡域和 C-末端 TIR 域。配体结合于 TLRs 即可以导致 MyD88 集聚在 TLRs 的 TIR 结构域^[2]。TLRs 和 MyD88 的相互作用具有明显的嗜同种特征。MyD88 的死亡域可以和 IRAK 相互作用。IRAK 基因缺失小鼠表现出明显的 LPS 反应性降低。IRAK 激活后,另一种接头蛋白肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF6)被磷酸纤维化并集聚于 IRAK^[3]。TRAF6 的 C-末端部分同其他 TRAF 家族成员具有相似的结构域,而其 N-末端对于激活下游信号分子却非常重要。近年采用 TRAF6 基因缺失小鼠研究显示,该种小鼠多患骨质疏松症,而且其骨髓来源巨噬细胞明显在 LPS 刺激后一氧化氮产生减少, NF- κ B 不能激活和 IL-1 及抗 CD40 表达增加^[4]。

在静止细胞,核转录因子 NF- κ B 与其抑制性蛋白 I κ B 相关联,近年它的一些组成成分已被证明,包括 IKK α 和 IKK β 激酶及一个调节亚单位(NEMK/IKK γ)。IKK α 和 IKK β 彼此高度同

源,具有亮氨酸链和螺旋-环-螺旋的相似 N-末端激酶结构域^[1]。研究发现^[5],IKK β 和 NEMK/IKK γ 基因缺失小鼠胚胎成纤维细胞表现出在肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)、IL-1 和 LPS 等刺激时 NF- κ B 不能激活。相反,IKK α 缺失小鼠胚胎成纤维细胞表现出正常 NF- κ B 的活性。提示 NF- κ B 激活可能受 IKK α 以外的其他因子调节。研究表明^[6],在 IL-1 和 LPS 信号相关反应中,几种分子可以传递 TRAF6 的下游信号到 IKK 复合体。NF- κ B 诱导激酶(NF- κ B inducing kinase, NIK)可以直接和 IKKs 作用,并将他激活。NIK 的负向调节剂过表达可以明显抑制 TLR2 和 TLR4 介导的 NF- κ B 激活。另外,生化研究显示^[7],TRAF6 通过激活促分裂原活化蛋白激酶激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAPKKK)可以激活转化生长因子 β 激活激酶-1(transforming growth factor β activated kinase 1, TAK-1),激活的 TAK-1 反过来可以磷酸化 MKK3 和 MKK6[是位于 p38MAMKs 和 JNK(是 c-Jun 氨基端激酶)上游的激酶]而且,TAK-1 也可以激活 I κ B 激酶复合物(IKK),可能是通过间接方式激活,其 IKK 磷酸化的直接激酶还需进一步研究证实。I κ B 磷酸化后可以导致其降解,NF- κ B 激活及其 NF- κ B 依赖基因 TNF α 、IL-1 和 IL-6 等的表达。除了 JNK 和 p38MAMKs 以外,TLRs 也可以激活细胞外信号调节激酶 1(extracellular signal-regulated kinase 1, ERK1) ERK2 和促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs),而 ERK 激活的机制依赖于 MAPKKK 家族另一成员 TP12^[8]。近来证明^[9],Toll 信号传导途径进化保守信号中介子(evolutionarily conserved signaling intermediate of Toll pathways, ECSIT)也与 Toll 信号传导相关。ECSIT 可能也是 NF- κ B 的激活子,在 TRAF6 下游通过 MEKK1 激活 NF- κ B,但其体内确切作用机制仍需进一步研究证实。

在大多数 TLRs 信号传导途径中,TLRs 明显依赖于 MyD88 发挥调节作用。在 MyD88 基因缺失小鼠,其胸腺对 IL-1 介导的增殖反应缺如,其自然杀伤(NK)细胞在 IL-18 刺激时不能

表现出 NK 细胞毒活性增强^[10]。而且,其小鼠表现出对 LPS 诱发休克高度抗性。MyD88 缺失巨噬细胞在 LPS 刺激时不能分泌 TNF α 、IL-8 和一氧化氮;其 B 细胞也表现出增殖反应受损^[11]。不仅 LPS,其他细菌成分,如肽聚糖等均不能激活 MyD88 缺失的巨噬细胞。但是,在 MyD88 缺失巨噬细胞进一步研究获得令人吃惊的结果^[12]。LPS 可以激活这种巨噬细胞的 NF- κ B 和 JNK,只不过表现为激活延迟。在野生型巨噬细胞,LPS 刺激后 10 min 即激活,而 MyD88 缺失巨噬细胞需 20 min 才表现出 NF- κ B 的 DNA (脱氧核糖核酸)结合活性和 JNK 激活,但这些被延迟激活的转录因子不能进一步激活促炎性细胞因子基因转录。这提示可能存在促炎性细胞因子基因转录的其他基因调控途径。

2 Toll 样受体的 MyD88 非依赖性信号传导途径

近年的研究表明^[13],LPS 诱导小鼠巨噬细胞干扰素 α/β 表达并发挥旁分泌和自分泌功能明显先于 LPS 诱导相关基因(如诱导性一氧化氮合酶等)的表达。而 LPS 诱导干扰素 β 表达是与信号转导和转录激活子 1 (signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)及干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)明显相关的。研究表明^[14],LPS 诱导一氧化氮合酶基因表达依赖于 LPS 诱导干扰素 α/β 和 STAT1 激活;而且 LPS 诱导单核细胞趋化蛋白 5 (monocyte chemoattractant protein 5, MCP-5)和干扰素诱导蛋白 10(interferon induced protein 10, IP-10)基因的表达也明显依赖于 STAT1。干扰素 β 基因敲除小鼠研究证实,干扰素 β 是 LPS 诱导内毒素休克的重要效应因子。这均提示,干扰素 α/β 和 STAT1 在 LPS 诱导基因表达中发挥重要调控作用。更重要的是,在 MyD88 缺失巨噬细胞,LPS 刺激仍可诱导一系列基因表达,如 IP-10 基因、干扰素调节基因 1(interferon regulatory gene 1, IRG-1)糖皮质激素衰减反应基因 16(glucocorticoid attenuated response gene 16, GARG16)的表达等。而且,这些基因表达

具有明显 MyD88/TRAR6 非依赖性的特征,但需要 NF- κ B 和 IRF3 等的参与^[15]。研究显示^[16],LPS 刺激可以诱导 IRF3 核转位。而且进一步研究证明,LPS 在 RAW264.7 巨噬细胞中促进 IP-10 基因激活是通过 IRF3 和 NF- κ B 途径实现。IRF3 是 LPS 诱导干扰素 β 激活的重要调节因子。在 IRF3 基因缺失小鼠表现出明显对 LPS 诱导内毒素休克抗性。另外,TLRs 刺激可以激活小鼠巨噬细胞干扰素 β 启动子,引起 STAT-1 α/β 磷酸化和诱导 IP-10、MCP-5 及诱导性一氧化氮合酶基因以 MyD88 非依赖方式表达^[17]。这一系列研究结果提示,IRF3 和 STAT1 激活、干扰素 β 基因表达及干扰素产生等在 LPS 刺激 TLRs 的 MyD88 非依赖性途径中发挥重要调控作用。

另一种 MyD88 同源蛋白也被证实。人 TIRAP(TIR domain containing adaptor protein),又称 MyD88 样适配蛋白(MyD88 adaptor like, Mal),包含 235 个氨基酸,有一个 C-末端 TIR 结构域,其结构不同于 MyD88 在于其缺乏 N-末端死亡域。体外研究显示^[18],TIRAP/Mal 在 TLR4 的 MyD88 依赖信号传导途径中可以直接与 TLR4 结合,而在 TLR4 的非依赖 MyD88 依赖信号传导途径中也发挥调节作用。TIRAP/Mal 过度表达可以激活 NF- κ B,而负显性突变的 TIRAP/Mal 则抑制由 TLR4 介导的 NF- κ B 激活。抑制 TIRAP/Mal 的表达,可阻断野生型和 MyD88 基因缺失小鼠 LPS 诱导的树突细胞的成熟,提示 TIRAP/Mal 可能在 TLR4 介导的 MyD88 非依赖信号传导途径中发挥作用。进一步应用 TIRAP/Mal 基因缺失小鼠研究显示^[19],这些小鼠在 TLR1、TLR2 和 TLR4 与配体的反应明显受损,表现出小鼠脾细胞受 LPS 刺激后增殖能力和细胞因子产生受抑,NF- κ B 和 MAPK 活化延迟,而 TLR3、TLR5、TLR7 和 TLR9 不受影响,表现出干扰素诱导性基因表达和树突细胞成熟正常。而采用 TIRAP/Mal 和 MyD88 基因双缺失小鼠研究发现,小鼠巨噬细胞受 LPS 刺激后干扰素诱导性基因表达和 LPS 诱导的树突细胞表达共刺激分子正常。这说明,TIRAP/Mal 与 MyD88

在 TLRs 信号途径中的作用相似,但可能仅在 TLR1、TLR2 和 TLR4 的信号传导途径中发挥调节作用。

近年,另外一个含 TIR 结构域分子 TRIF (TIR domain containing adaptor inducing interferon β) 又称为 TICAM-1 (TIR domain containing adaptor molecular 1) 被证实在 TLRs 的 MyD88 非依赖性信号途径中发挥作用。负显性 TRIF/ TICAM-1 可以抑制 TLR2、TLR3、TLR4 和 TLR7 激活 NF- κ B。更重要的是,TRIF/ TICAM-1 可以优先激活干扰素 β 启动子和参与 TLR3 介导的干扰素 β 的产生。而且,采用 TRIF/TICAM-1 基因敲除鼠证实该基因为 TLR3 信号传导途径所必需^[20]。这提示,TRIF/TICAM-1 是一种 TLR3 信号途径中的接合蛋白,是 NF- κ B 和 IRF3 激活的关键性调节因子,在 TLR3 信号传导途径中起重要调控作用。TRIF/TICAM-1 也参与 TLR4 介导的 MyD88 非依赖性信号传导途径。在 TRIF/TICAM-1 基因敲除鼠,LPS 刺激后 TLR4 介导的干扰素 β 表达、IRF3 激活及干扰素诱导基因表达缺失^[21]。另据报道^[22],TRIF/TICAM-1 单基因缺失小鼠显示 LPS 刺激后,NF- κ B 和 MAPK 正常激活,而 TRIF/TICAM-1 和 MyD88 双基因缺失后小鼠表现出 NF- κ B 和 MAPK 激活完全缺如。因此研究者推测,TLR4 可能是通过 MyD88 依赖性途径激活 NF- κ B 和 MAPK,而通过 MyD88 非依赖性途径延迟激活。在实验中还发现,在 TRIF/TICAM-1 单基因缺失小鼠,LPS 刺激后在正常激活 NF- κ B 和 MAPK 的同时,LPS 诱导的炎症细胞因子产生却受损。研究者推测,TLR4 介导炎症细胞因子产生可能是通过 MyD88 依赖性和 MyD88 非依赖性(TRIF/TICAM-1 依赖性)途径相结合来调控完成。

3 结 语

机体固有免疫的本质是识别微生物病原体的保守性分子模式,除了其本身固有的功能外,还赋予适应性免疫反应识别“自己”与“非己”的能力并调控其反应类型。TLRs 作为连接固有免疫与适应性免疫的关键环节,特征性揭示了

对病原体的初始识别和随之引发的适应性免疫反应之间联系的分子机制。因此,重新把目光投向固有免疫,并继续深入研究 Toll 样受体家族及其信号传导途径,必将会对免疫学的认识与发展产生深远的影响,为新型疫苗和免疫调节剂的研发提供新的重要理论依据,甚至为研究疾病的发生机制、宿主对疾病的易感性及其防治等问题提出了新的视角^[1]。

目前已知 TLRs 信号传导途径尚不能完全解释每一个 TLR 分子的调控功能。比如,TLRs 识别受体的一个显著特征是特异性的而且是多样化的,TLRs 是怎样识别他们的受体等问题仍不清楚。TLR4 能够识别完全不相关的配体如 LPS、热休克蛋白 60 (hsp60) 和紫杉酚(Taxol)。由于 TLRs 的高度亲和力的配体还没有发现,所以有可能存在那些没有被发现的受体来特异性识别他们的配体。结晶状结构的研究有助于进一步详细阐明 TLR 和他们配体之间的关系^[23]。

参 考 文 献

- [1] Finlay B B, Hancock R E. Can innate immunity be enhanced to treat microbial infection? *Nature Rev Microbiology*, 2004, 6 (2): 497 ~ 504.
- [2] Rosenberger C M, Finlay B B. Phagocyte sabotage: disruption of macrophage signaling by bacterial pathogens. *Nature Rev Mole Cell Biol*, 2003, 4 (1): 385 ~ 396.
- [3] Kimbrell D A, Beutler B. The evolution and genetics of innate immunity. *Nature Rev Genetics*, 2001, 2 (1): 255 ~ 267.
- [4] Mitsuhiro F, Masashim M, Kenichi T, et al. Molecular mechanisms of macrophage activation and deactivation by lipopolysaccharide: roles of the receptor complex. *Pharmacology Therapeutics*, 2003, 100 (15): 171 ~ 194.
- [5] Takede K, Kaisho T, Akira S. Toll like receptors. *Annual Review of Immunology*, 2003, 21 (7): 335 ~ 376.
- [6] Rudolph D, Yeh W C, Wakeham A, et al. Severe liver degeneration and lack of NF- κ B activation in NEMO/IKK γ deficient mice. *Gene Dev*, 2000, 14 (3): 854 ~ 862.
- [7] Irie T, Muta T, Takeshige K. TAK1 mediates an activation signal from toll like receptors to nuclear factor- κ B in lipopolysaccharide stimulated macrophage. *FEBS Lett*, 2000, 467 (51): 160 ~ 164.
- [8] Gregory M, Barton A, Ruslan M. Toll like receptors signaling pathways. *Science*, 2003, 300 (6): 1 524 ~ 1 525.
- [9] Tsuneyasu K, Shizuo A. Toll like receptors as adjuvant

- receptors. *Biochimica Biophysica Acta*, 2002, **1598**(1):1 ~ 13.
- [10] Christelle B, John H, Rachel D M, *et al.* Innate immunity and pathogen host interaction. *Vaccine*, 2003, **21**(S2):12 ~ 24.
- [11] Goldstein D R. Toll like receptors and other links between innate and acquired alloimmunity. *Curr Opin Immunol*, 2004, **16**(5):538 ~ 544.
- [12] Hazeki K, Masuda N, Funami K, *et al.* Toll like receptor mediated tyrosine phosphorylation of paxillin via MyD88 - dependent and independent pathways. *Eur J Immunol*, 2003, **33**(3):740 ~ 747.
- [13] Takeuchi O, Akira S. MyD88 as a bottle neck in Toll/IL-1 signaling. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2002, **270**(3):155 ~ 167.
- [14] Hoshino K, Kaisho T, Iwabe T, *et al.* Differential involvement of IFN-beta in Toll like receptor stimulated dendritic cell activation. *Int Immunol*, 2002, **14**(10):1 225 ~ 1 231.
- [15] Galdiero M, Finamore F, Rossano F, *et al.* Haemophilus influenzae porin induce Toll like receptor 2 mediated cytokine mouse macrophages. *Infect Immun*, 2004, **72**(2):1 204 ~ 1 209.
- [16] Marson A, Lawn R M, Mikita T. Oxidized low density lipoprotein blocks lipopolysaccharide induced interferon beta synthesis in human macrophages by interfering with IRF3 activation. *J Exp Med*, 2004, **199**(12):1 651 ~ 1 658.
- [17] Punturieri A, Alviani R S, Polak T, *et al.* Specific engagement of TLR4 or TLR3 dose not lead to IFN-beta mediated innate signal amplification and STAT 1 phosphorylation in resident murine alveolar macrophages. *J Immunol*, 2004, **173**(2):1 033 ~ 1 042.
- [18] Takeda K, Akira S. Microbial recognition by Toll like receptors. *J Dermatol Sci*, 2004, **34**(2):73 ~ 82.
- [19] Vogel S N, Femton M. Toll like receptor 4 signaling : new perspectives on a complex signal transduction problem. *Biochem Soc Trans*, 2003, **31**(Pt3):664 ~ 668.
- [20] Dshiumi H, Sasai M, Shida K, *et al.* TIR containing adaptor molecular(TICAM)-2, a bridging adapter recruiting to toll like receptor 4 TICAM-1 that induces interferon-beta. *J Biol Chem*, 2003, **278**(50):49 751 ~ 49 762.
- [21] Hoebe K, Du X, George L, *et al.* Identification of LPS2 as a key transducer of MyD88- independent TIR signaling. *Nature*, 2003, **424**(6 950):743 ~ 748.
- [22] Hoebe K, Beutler B. LPS, dsRNA and the interferon bridge to adaptive immune responses : Trif, Tram and other TIR adaptor proteins. *J Endotoxin Res*, 2004, **10**(2):130 ~ 136.
- [23] Bruno L. The road to Toll. *Nature Rev Immunology*, 2004, **4**(1):521 ~ 528.