

· 综述 ·

Toll 样受体与神经系统疾病

韩林 综述 牛余宗 审校

(青岛大学附属市立医院儿科, 山东 青岛 266011)

[中图分类号] R74 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2007)01-0090-03

近年来发现的 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 作为能够识别病原相关的分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs), 在天然免疫识别中起重要作用。其在多种与感染有关的神经系统疾病中所起的作用也受到越来越多的重视。

1 Toll 受体及其介导的信号转导

1.1 Toll 受体的发现

果蝇虽然没有获得性免疫系统, 但有很强的抗微生物感染的能力, 这是由于果蝇能够合成一些具有保护作用的抗微生物多肽。早在 1985 年 Anderson 等^[1] 在研究果蝇胚胎发育中发现 Toll 产物在果蝇胚胎背腹侧轴形成中起重要作用, 此后发现 Toll 在参与果蝇成虫的天然免疫应答中具有重要作用。1997 年, Medzhitov 等^[2] 发现了人类 Toll 蛋白, 至今发现的人类 Toll 同源体即 Toll 样受体已有 13 种, 分别被命名为 TLR 1~13。

1.2 Toll 受体的结构

TLRs 均属于 I 型跨膜受体蛋白, 胞外区由 18~31 个氨基酸组成的富含亮氨酸的重复序列 (leucine rich repeat, LRR), 胞内区为 213 个氨基酸, 与白细胞介素-1 受体 1 (Interleukin-1 receptor1, IL-1R1) 高度同源, 称为 TIR (Toll/IL-1 R1 homologous region)。LRR 是蛋白质和蛋白质相互作用的结构基序, 可以直接识别和结合病原体或其产物, 激发机体的非特异免疫反应; 与 IL-1R 同源的胞内区与核转录因子 κ B (NF κ B) 的激活有关, 并引起炎症因子 IL-1, IL-6, IL-8 的表达。它们的细胞外区域较长, 在 550~980 氨基酸之间, 而且同源性较差, 如 TLR 2 与 TLR 4 细胞外区域的同源性只有 24%, 这可能

是不同配体激活不同受体的结构基础。各分子种属间的差异较小, 如人与鼠的 TLR4 的细胞外区有 53% 的同源, 而胞质区的同源性高达 83%, 提示它们是一组非常保守的分子, 执行着相似的功能。而胞外区的差异可能是不同生物对特定配体产生不同反应机制之一。该蛋白胞质区有 213 个氨基酸, 26% 的序列与 IL-1 受体完全相同, 43% 的序列相似, 提示它们存在共同的信号传导通路。

1.3 Toll 介导的信号转导

机体首先要识别病原体后才能做出防御性反应。Toll 样受体家族成员在识别病原体并介导天然免疫反应中起重要作用。LPS 是革兰阴性菌细胞壁上的主要成分, 也是主要的致病成分, 可刺激几乎所有的真核细胞发生形态、代谢和基因表达变化, 导致宿主细胞因子失控性表达, 发生严重感染, 多脏器损伤, 败血症休克等。LPS 的识别和信号转导是宿主发生防御反应的关键。LPS 介导的细胞激活需要血浆或细胞表面能够和内毒素结合的蛋白参与。LPS 结合蛋白 (LPS binding protein, LBP) 将 LPS 转运到细胞膜上与膜 CD14 (membrane CD14, mCD14) 结合, 以三联体的形式介导 LPS 诱导的细胞活化。mCD14 是锚定蛋白, 缺少跨膜区, 不参与跨膜信号的形成, 需有其他的信号分子介导细胞活化。Toll 受体既可作为 CD14 的跨膜分子, 又可作为 LPS 的受体而介导细胞的活化。TLRs 胞内区 TIR 与 IL-1 受体相似, TLRs 与 IL-1 介导的信号转导有同通路^[3]。TLR 胞内段 TIR 与调节子蛋白 MyD88 的 C 末端同源区结合, 其 N 末端的 DD (death domain) 与 IL-1 受体相关激酶丝/苏蛋白激酶 (IRAK1, IRAK2) 的 DD 作用, IRAK 自磷酸化, 磷酸化的 IRAK 与胞浆中的另一种 TNF 受体连接因子 6 (TRAF6) 作用形成复合物, 激活 NF κ B 诱导的蛋白激酶 (NIK), 通过

[收稿日期] 2006-03-30; [修回日期] 2006-07-24

[作者简介] 韩林, 男, 硕士在读, 主治医师。主攻方向: 小儿神经专业。

NIK 将信号传递给 I κ B 激酶复合物 (IKK), 激活 NF κ B 和 c-Jun, 导致一系列炎症因子的合成和释放, 同时引起免疫反应基因的转录, 并进一步诱发特异性免疫反应, 而过度的炎症反应将造成免疫损伤^[4,5]。目前对 TLRs 的了解主要集中在 TLR2 和 TLR4, TLR2 主要结合的 PAMPs 有脂多糖 (LPS)、肽聚糖 (PGN)、脂磷壁酸 (LTA)、脂蛋白 (BLP)、酵母多糖等, TLR4 主要结合 LPS, HSP60, LTA, Taxol 等, 并且 TLR4 是 LPS 的优先受体^[6,7]。此外近年来还证实 TLR 介导革兰阳性菌、真菌、螺旋体、分支杆菌、弓形体和病毒等引起的信号传递。此外 TLR 也与细胞凋亡有关^[8]。

2 TLR 在中枢神经系统的表达

中枢神经系统通过神经系统固有的星形胶质细胞, 小胶质细胞和神经系统浸润的免疫细胞进行免疫监控。Bsibsi 等^[9]通过对体外培养的小胶质细胞, 星形胶质细胞和少突胶质细胞以及体内脑脊髓切片免疫组化试验研究发现, TLRs 在体内外胶质细胞中均有广泛表达。小胶质细胞 TLRs mRNA 表达广泛, 而星形胶质细胞和少突胶质细胞主要表达 TLR 2 和 TLR 3。对照组与变性的小胶质细胞 TLRs mRNA 表达水平明显不同。小胶质细胞 TLR 蛋白表达主要限制在细胞内的囊泡内而星形胶质细胞主要分布在细胞表面。据研究^[10], 人类 TLRs mRNA (TLR1 ~ TLR10) 在胎儿大脑均有少量表达。Laflamme 等^[11]证明, TLR4 mRNA 在大鼠脑内构成性表达, 主要分布在脑室周围器官 (circumventricular organs, CVO), 脉络膜丛和软脑膜等部位, 在脑实质亦有少量 TLR4 mRNA 表达阳性细胞的存在。

3 TLR 与神经系统疾病

3.1 TLR 与脑炎, 脑膜炎

通过脑组织切片免疫组化分析发现炎症脑组织 TLR 3 和 TLR 4 表达高于对照组^[9]。星形胶质细胞在中枢神经系统抗微生物感染中起重要作用。利用 TLRs 抗体通过免疫印迹 (Western blot) 和免疫荧光分析的方法在单独培养的鼠星形胶质细胞中发现有 TLRs。在这些静止培养的细胞中 TLR2, TLR4, TLR5, TLR9 mRNA 低水平表达, 在暴露于特殊的细菌配体后, 这些 mRNA 的表达明显增高。每种 TLR 的已知配体诱导信息表达和细胞因子 IL-6 的分泌能力进一步证实这些受体蛋白功能性的表达。由此

推断 TLR 是一种诱发神经系统炎症疾病的重要成分。Bottcher 等^[12]研究发现中枢神经系统细菌和病毒感染的小鼠 TLRs mRNA 表达存在差异, 肺炎链球菌脑膜炎导致 TLR 2, TLR 4 和 TLR 9 mRNA 表达增强, 在大肠埃希菌脑膜炎 TLR 2, TLR 4 和 TLR 7 mRNA 表达增强, 而单纯疱疹病毒脑炎导致 TLR 4 mRNA 增高。据此证明对不同病原分子 TLR mRNA 的表达不是完全特异的, 可能是对病原体的特异性免疫反应与非特异天然免疫防御的结合。TLR 2 基因敲除的小鼠 (TLR 2^{-/-}) 脑膜炎的严重程度增加, 所表现出的体重明显减低, 运动神经损伤恶化等症状与脑组织和血液中较高的细菌效价相关^[13]。

3.2 TLR 与脑脓肿

脑脓肿相关的病原众多, 其中链球菌和 *S. aureus* 最为重要。目前证实 *S. aureus* and PGN 导致 TLR2 mRNA 和蛋白表达有意义的增加, 在脑脓肿发展过程中能增加小胶质细胞对细菌的敏感性。通过对 TLR2 敲除小鼠的原代小胶质细胞培育发现 TLR2 在对 PGN 而非 *S. aureus* 的识别中起重要作用。近来发现星形胶质细胞表达 TLR2, 虽然这些细胞对 TLR2 的配体作出反应, 但是到目前还不能真正揭示这个受体的功能性意义。通过 TLR2 敲除小鼠和野生型小鼠的原代培养的星形胶质细胞, 证实 TLR2 在 *S. aureus* and PGN 的识别中起重要作用, 并通过星形胶质细胞表达细胞因子和化学因子。原代星形胶质细胞有吞噬 *S. aureus* 的能力, 但在体外 TLR2 敲除小鼠和野生型小鼠的星形胶质细胞对完整的 *S. aureus* 具有相同的吞噬能力, 因此认为 TLR2 不是星形胶质细胞吞噬病原的主要受体^[14]。

3.3 TLR 与早产儿脑白质损伤

早产儿脑白质损伤 (white matter damage, WMD) 是导致早产儿伤残的重要原因, WMD 主要包括脑室周围白质软化 (periventricular leucomalacia, PVL), 其神经病理表现为局灶性和弥漫性病变, 前者位于脑白质深部, 其特征是所有细胞成分的局灶性凝固性坏死, 形成囊性 PVL, 而后者主要表现为少突胶质细胞弥漫性损伤。研究证实^[15,16]脑白质软化与缺氧缺血和宫内感染炎症相关。小胶质细胞在脑白质损伤中具有的重要地位。当小胶质细胞包含的 TLR4 被 LPS 激活, 释放对少突胶质细胞前体有高度毒性的产物 ROS 和 RNS。少突胶质细胞前体是白质软化的细胞靶点, 易受 ROS 和 RNS 攻击, 导致细胞死亡。在 *tlr4* 基因丧失的突变细胞培养中, LPS 不会诱发少突胶质细胞死亡^[17]。实验研究证明, 在 LPS 和阈下缺血缺氧复合诱发的神经元损伤中, TLR4 是

必需的,LPS可能通过TLR4途径增加未成熟大脑对继发性损伤和缺氧缺血损伤的敏感性^[18]。

3.4 TLR与多发性硬化

多发性硬化是中枢神经系统具有多种病理特征、病程和遗传特征的与感染有关的脱髓鞘病变。通过对对照组和多发性硬化脑脊髓切片免疫组化分析发现炎性脑组织中TLR3和TLR4表达增强^[9]。Reindl等^[9]证实多发性硬化患者与对照组Asp299Gly和Thr399Ile TLR4基因多态性的发生率没有差异。认为TLR4基因多态性对多发性硬化的发病率、进展和炎症参数没有影响。

4 展望

综上所述,TLR在中枢神经系统感染、早产儿脑白质损伤、多发性硬化等多种神经系统疾病的发生、发展中发挥着重要的作用,为深入阐明这些疾病的发病机制并拓展治疗方法提供了新的方向。但TLR的研究仍然存在许多问题,一方面,尚有许多问题需要回答,例如病毒和原生动物是否被TLRs识别,怎样识别;是否所有内皮细胞都被识别;自身免疫是否与TLR缺陷有关;不同疾病中对不同病原微生物的识别差异有何意义,另一方面,目前主要局限于体外,真正能应用于临床的成果尚未出现,它的研究是否能提供中枢神经系统保护途径,是否能减少抗生素的应用等问题有待于进一步探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Anderson KV, Jurgens G, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the toll gene product [J]. *Cell*, 1985, 42 (3): 779-789.
- [2] Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptor in the induction of the innate immune response [J]. *Nature*, 2000, 406 (6796): 782-787.
- [3] MUzio M, Natoli G, Sciani S, Levrero M, Mantovani A, et al. The human toll signaling pathway: divergence of nuclear factor Kappa B and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor associated factor 6 (TRAF6) [J]. *J Exp Med*, 1998, 187 (12): 2097-2101.
- [4] Zhang GL, Ghosh S. Toll-like receptor mediated NF- κ B activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity [J]. 2001, 107 (1): 13-19.
- [5] Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes [J]. *Cell Signal*, 2001, 13 (2): 85-94.
- [6] Brightbill DH, Libraty DH, Krutzik SR, Yang RB, Belisle JT, Bleharski JR, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors [J]. *Science*, 1999, 285 (5428): 732-736.
- [7] Flo TH, Halaas O, Lien E, Ryan L, Teti G, Golebock DT, et al. Human toll-like receptor 2 mediates monocyte activation by *Listeria monocytogenes*, but not by group B streptococci or lipopolysaccharide [J]. *J Immunol*, 2000, 164 (4): 2064-2069.
- [8] Aliprantis AO, Yang RB, Mark MR, Suggett S, Devaux B, Radolf JD, et al. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor 2 [J]. *Science*, 1999, 285 (5428): 736-739.
- [9] Bsibsi M, Ravid R, Gveric D, Van Noort JM. Broad expression of Toll-like receptors in the human central nervous system [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002, 61 (11): 1013-21.
- [10] Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human Toll-like receptors and related genes [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28 (5): 886-892.
- [11] Laflamme N, Rivert S. Toll-like receptor 4: the missing link of the cerebral innate immune response triggered by circulating gram-negative bacterial cell wall components [J]. *FASEB J*, 2001, 15 (1): 155-163.
- [12] Botcher T, von Mering M, Ebert S, Meyding-Lamade V, Kuhnt V, Gerber J, et al. Differential regulation of toll-like receptor mRNAs in experimental murine central nervous system infections [J]. *Neurosci Lett*, 2003, 344 (1): 17-20.
- [13] Koedel U, Angele B, Rupprecht T, Wanger H, Roggenkamp A, Pfister HW, et al. Toll-like receptor 2 participates in mediation of immune response in experimental pneumococcal meningitis [J]. *J Immunol*, 2003, 170 (1): 438-444.
- [14] Esen N, Tanga FY, DeLeo JA, Kielian T. Toll-like receptor 2 (TLR 2) mediates astrocyte activation in response to the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* [J]. *J Neurochem*, 2004, 88 (3): 746-758.
- [15] Volpe JJ. Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infant [J]. *Pediatr Res*, 2001, 50 (5): 553-562.
- [16] Hagberg H, Peebles D, Mallard C. Models of white matter injury: comparison of infectious, hypoxic-ischemic, and excitotoxic insults [J]. *MRDD Res Rev*, 2002, 8 (1): 30-38.
- [17] Lehnardt S, Lachance C, Patrizi S, Follett PL, Jensen FE, Rosenberg DA, et al. The toll-like receptor TLR4 is necessary for lipopolysaccharide-induced oligodendrocyte injury in the CNS [J]. *J Neurosci*, 2002, 22 (7): 2478-2486.
- [18] Lehnardt S, Massillou L, Follett P, Jensen FE, Ratan R, Rosenberg DA, et al. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (14): 8514-8519.
- [19] Reindl M, Lutterotti A, Ingram J, Schanda K, Gassner C, Deisenhammer F, et al. Mutations in the gene for toll-like receptor 4 and multiple sclerosis [J]. *Tissue Antigens*, 2003, 61 (1): 85-88.

(本文编辑:吉耕中)