

• 综述 •

钟声蛋白样受体的研究及现状

赵保胜, 霍海如*, 姜廷良

(中国中医科学院中药研究所唐氏中药研究中心, 北京 100700)

[摘要] 目的: 整理钟声蛋白样受体(Toll 样受体, TLRs) 研究资料, 为中药抗炎免疫药物的作用靶点研究提供思路与方法。资料来源: 主要搜集近 10 年来国内外学者公开发表的对 Toll 样受体的研究成果, 对其进行整理与分析。资料选择: 综述 Toll 样受体的发现、分布、结构特征, 尤其是其效应细胞配体、信号转导途径及功能研究资料, 综合分析其研究现状。结果: 目前的研究主要集中在对 Toll 样受体信号转导通路的基础研究上, 而对药物的研究却极为匮乏。结论: 对 Toll 样受体信号转导通路的进一步研究可能会为某些疾病的防治提供科学依据, 同时为中药抗炎免疫药物作用靶点的研究提供新的思路与方法。

[关键词] 钟声蛋白样受体; 研究; 现状

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2006)07-0062-04

The Research and Advancement of Toll-like Receptors

ZHAO Bao-sheng, HUO Hai-ru, JIANG Ting-liang

(Tang Center for Herbal Medicine Research, Institute of Chinese Materia Medica
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** Collected the data about the toll-like receptors(TLRs) to provide the studying ideas and methods for the anti-inflammatory herb drugs. **Sources of the data:** Mainly collected the achievements of TLR in the late 10 years. **Choice of the data:** Reviewed TLR'S discovery, distribution and structural feature, especially their effector cell ligand, signal transduction pathway and functions, aggregately analyzed TLR'S current research situations. **Results:** Nowadays' study mainly concentrated on the signal transduction way, but the drug'S mechanism study on it are insufficient. **Conclusion:** The further research of TLRs will provide scientific evidence for prevention and treatment of diseases, at the same time, these may provide new methods to the study of new drugs' effective targets.

[Key words] Toll-like receptor; Research; Advancement

免疫系统的基本功能是识别外源性抗原, 诱导机体产生一系列反应, 清除外源致病性物质, 以保持机体内环境的稳定。免疫分为适应性免疫(获得性免疫)和固有性免疫(先天性免疫)。天然免疫系统是生物进化过程中一种比较古老的防御体系, 也是机体抵御感染性疾病的第一道防线。当病原体侵入机体后, 天然免疫系统通过识别病原体相关分子模式结构(pathogen associated molecular patterns,

PAMPs)^[1]产生迅速有效的免疫反应, 清除病原体, 同时也会导致炎症反应。

PAMPs 广泛存在于病原体细胞表面, 如内毒素、肽聚糖、鞭毛蛋白、双链 RNA 以及酵母细胞壁上的甘露糖等。识别 PAMPs 的受体称为模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)。钟声蛋白样受体(Toll 样受体, Toll-like receptors, TLRs) 分子即是一类重要的 PRR^[2]。TLRs 的发现是生物信息史上的一件大事, 对医学生物学的发展做出了巨大贡献, 现将其目前的研究现状总结如下。

1 TLRs 的发现

TLRs 是参与固有性免疫的一类古老的蛋白质

[收稿日期] 2005-12-30

[通讯作者] 霍海如, Tel: (010) 64041008; E-mail: huohr@yahoo.com.cn

家族,目前已经发现了 10 种 TLRs^[3]。

1988 年研究发现了果蝇的 Toll 受体^[4]。1997 年, Lemaitre 等^[5]发现 Toll 受体参与成蝇的免疫反应,并具有介导抗真菌感染信号转导的功能,后研究发现 Toll 家族的另一成员 18-wheel 与产生一种抗菌肽 attactin 相关联^[6]。表明 Toll 受体在抗真菌、细菌等病原感染中的重要意义。Janeway 等^[7]首次发现人 hToll 及编码的 Toll 样受体蛋白,并命名为 TLR4,后又陆续发现了其它 9 种 TLRs 亚型。

2 TLRs 的分布

TLR1 和 TLR6 在外周血几乎所有的细胞中都有表达, TLR2 主要在肺、心、脑、血液单核细胞和肌肉组织表达, TLR3 在胎盘和胰腺有高度表达, TLR4 主要在胎盘和肺组织中表达, TLR5 高表达于单核细胞、未成熟树突状细胞(dendritic cell, DC)和上皮细胞,在卵巢有少量表达^[8,9]。

3 TLRs 的结构特征

TLRs 为 I 型跨膜蛋白,与果蝇 Toll 受体存在同源性,胞外区有富含亮氨酸的重复区(LRR),胞内区序列与 IL-1 受体的胞内区的保守序列有高度同源性,被称为 Toll/IL-1R(TIR)区域,与信号传导密切相关^[10]。

4 TLRs 对效应细胞配体的识别

TLRs 家族属于固有性模式识别受体,其相应的配体以及配体的供体具有特异性。其配体识别情况如表 1^[11]:

表 1 钟声蛋白样受体(TLRs)家族各亚型及其配体

TLR 亚型	配 体
TLR-1	三酰脂肽
TLR-2	细菌脂蛋白、脂多肽、脂壁酸、酵母多糖 ^[12]
TLR-3	双链 RNA 病毒(dsRNA 病毒) ^[13]
TLR-4	脂多糖(LPS)、热休克蛋白 60(HSP60) ^[14]
TLR-5	鞭毛蛋白
TLR-6	二酰脂肽
TLR-7	单链 RNA 病毒(ssRNA 病毒)
TLR-8	尚不确定
TLR-9	细菌(CpG)DNA ^[15]
TLR-10	尚不确定

5 TLRs 的信号转导途径

目前已经明确参与信号转导的分子有:髓性分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)、IL-1R 相关的激酶(IL-1R associated kinase, IRAK)和肿瘤坏死因子受体相关因子-6(TNF-receptor-associated factor 6, TRAF6)等。

5.1 MyD88 MyD88 有三个功能区域, N 端的死亡

区域(death domain, DD), 中间区域及 C 端的 TIR^[16]。研究表明,只有 DD 和中间区共同被表达时,才能激活 NF- κ B;其他的组合皆不能激活 NF- κ B^[17]。MyD88 有一个调节蛋白,为 Toll 相关蛋白(Toll interacting protein, Tollip),其在静息状态时与接头分子——MyD88 下游的激酶——IRAK 结合,而一旦受体与配体结合,招募接头分子,再招募 IRAK 时, Tollip 就脱落下来, IRAK 就能自动磷酸化,完成信号转导^[18]。

5.2 IRAK IRAK^[19]是丝氨酸/苏氨酸先天免疫激酶(serine/threonine innate immunity kinase, SIK)中的一种,目前已发现人类至少具有四种亚型^[20]。IRAK-1 和 IRAK-4 对信号传递起正性调节作用; IRAK-2 和 IRAK-3 起负性调节作用^[21,22]。目前研究发现 IRAK-4 通过改变 IRAK-1 功能或者作为其他信号转换的转接蛋白,在调节经 TLR/IL-1R 受体传递的对抗外来病原体的免疫反应中具有重要的作用^[23,24]。

5.3 肿瘤坏死因子受体相关因子 6 与 IRAK 结合的接头分子是肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TNFR associated factor 6, TRAF6)^[25], TRAF 家族现在发现有 6 个成员, TRAF1~5 是 TNF 受体信号转导途径上介导细胞保护通路的一类重要分子,受受体作用蛋白(receptor interacting protein, RIP)招募,而 TRAF6 既参与 IL-1R、TLRs 的信号转导,还参与 CD40 的信号转导,但所介导的结果均是激活 NF- κ B^[26,27]。

6 TLRs 的功能

不同的 TLRs 亚型分别行使着不同的生理、病理功能。TLR1 与 TLR2 协同识别天然微生物性脂肽^[28]。TLR2 主要介导 G⁺ 菌成分脂蛋白、脂多肽、真菌、酵母、分枝杆菌、支原体脂肽等的信号转导^[29],而 TLR4 主要介导 G⁻ 菌 LPS 的信号转导。TLR2 和 TLR4 都最终导致 NF- κ B 的核转位及相应免疫细胞的激活而发生转录,释放前炎症细胞因子及协同刺激分子,或经过另外的途径,导致细胞凋亡^[30]。TLR3 在识别病毒颗粒中的 ds-RNA 后,通过激活 NF- κ B 及诱导细胞合成 IFN- α ^[31]。TLR5 识别细菌鞭毛蛋白,具有鞭毛蛋白的 L 型细胞、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌和鼠伤寒沙门氏菌等可刺激 TLR5。细胞鞭毛蛋白是 TLR5 识别的 PAMP,具有佐剂作用,可刺激昆虫和哺乳动物针对其的固有性免疫应答,因此,鞭毛蛋白的这一特性可用于制备预防性疫苗。TLR9 可介导对细菌 CpG DNA 的细胞内反应, TLR9

缺陷鼠不能产生对 CpG DNA 的任何反应, 包括脾细胞增殖、炎症细胞因子自巨噬细胞中产生及 DC 的分化成熟。

7 展望

在机体抵抗病原微生物感染过程中, 先天性免疫系统成分也参与识别病原微生物。TLRs 是存在于细胞上介导炎性介质产生的重要受体, 病原微生物的脂多糖(LPS)、微生物脂蛋白、脂磷壁酸(LTAs)、细菌 DNA(CpG-DNA) 和饱和脂肪酸 SFAs 等可以通过 TLRs 介导机体产生抗病原微生物性反应, 激活细胞, 释放炎性介质。

近二十年来, 在认识病原体中 TLR 的功能方面取得了很大的进步。TLR1~ TLR7 和 TLR9 的配体已经基本证实, 但是其它的 TLR 配体还没有发现。虽然已经阐明了某些病原微生物成分通过 TLRs 将信号转导到细胞内的过程, 但其结果常被误导, 仍有许多问题有待解决。例如, 在人体内除报道的 10 种 TLRs 外, 是否还存在其他 TLRs? 各种 TLRs 功能有何不同? 不同 TLRs 是如何识别不同病原微生物成分及其受体的? TLRs 激活过程中是否还存在其他的途径等等。随着科学和社会的进步, 先进仪器的研制和应用将会推进 TLRs 深入系统的研究, 这必将进一步推动人类了解和认识 TLRs 与疾病之间关系的历史进程, 为某些疾病防治与新药开发提供科学的思路和方法。

[参考文献]

[1] Ruslan Medzhitov and Charles A, Janeway Jr. Innate Immunity: The Virtues of a Non-clonal System of Recognition [J]. Cell, 1997, 91: 295-298.

[2] Ruslan Medzhitov, Charles Janeway Jr [J]. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. Immunological Reviews, 2000, 173: 89-97.

[3] Means TK, Golenbock DT, Fenton MJ. The biology of Toll-like receptors [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 1: 219-232.

[4] Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of Drosophila, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein [J]. Cell, 1988, 52: 269-279.

[5] Lemalre B, Nicolas E, Michaut L, et al. The drosophila ventral regulatory gene cassette Spatzle/Toll/Cactus controls the protein antifungal response in drosophila adults [J]. Cell, 1996, 86: 973-983.

[6] Williams MJ, Rodriguez A, Kimbell DA, et al. The 18-wheel mutation reveals complex antibacterial gene regulation in drosophila host defence [J]. EMBO J, 1997, 16: 6120-6130.

[7] Medzhitov R, Preston HP, Fanaway CA. A human homologue of drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity [J]. Nature, 1997, 388: 394-397.

[8] Hornung V, Rothenfusser S, Britsch S, et al. Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides [J]. J Immunol, 2002, 168(9): 4531.

[9] Chuang TH, Ulevitch RJ. Cloning and characterization of a subfamily of human toll-like receptor: h TLR7, Htlr8 and TLR9 [J]. Eur Cytokine Netw, 2000, 11(3): 372.

[10] Means TK, Golenbock DT, Fenton MJ. Structure and function of Toll-like receptor protein [J]. Life Sci, 2000, 68(3): 241.

[11] Arcady Mushegian, Ruslan Medzhitov. Evolutionary perspective on innate immune recognition [J]. J Cell Biokogy, 2001, 155(5): 705.

[12] Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response [J]. Nature, 2000, 406(6797): 782.

[13] Lena A, Agnieszka CH, Ruslan M, et al. Recognition of double-strand RNA and activation of NF-kappa B by Toll-like receptor 3 [J]. Nature, 2001, 413: 732.

[14] Ulevitch RJ, Tobias PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin [J]. Rev Immunol, 1995, 13: 437.

[15] 童善庆. Toll 样受体在抗感染免疫中的作用 [J]. 国外医学-分子生物学分册, 2002, 24(3): 18.

[16] Kawai T, Adachi O, Ogawa T, et al. Unresponsiveness of MyD88-deficient mice to endotoxin [J]. Immunity, 1999, 11(1): 115-122.

[17] Takeuchi O, Takeda K, Hoshino K, et al. Cellular responses to bacterial cell wall components are mediated through MyD88-dependent signaling cascades [J]. Int Immunol, 2000, 12(1): 113-117.

[18] Burns K, Clatworthy J, Martin L, et al. Tollip, a new component of the IL-1RI pathway, links IRAK to the IL-1 receptor [J]. Nat Cell Biol, 2000, 2(6): 346-351.

[19] Bowie A, O'Neill LA. The interleukin 1 receptor/Toll like receptor superfamily: signal generators for proinflammatory interleukins and microbial products [J]. J Leukoc Biol, 2000, 67(4): 508-512.

[20] Currie AJ, Davidson DJ, Reid GS, et al. Primary immunodeficiency to pneumococcal infection due to a defect in Toll-like receptor signaling [J]. J Pediatr, 2004, 144: 512-

- 518.
- [21] Suzuki N, Suzuki S, Duncan GS, et al. Severe impairment of interleukin 1 and Toll-like receptor signaling in mice lacking IRAM-4[J] . Nature, 2002, 416: 750-756.
- [22] Lye E, Mirtsos C, Suzuki N, et al. The role of IRAM-4 kinase activity in IRAK-4-mediated signaling [J] . Biol Chem, 2004, 39: 40653-40658.
- [23] Janssens S, Burns K, Vercammen E, et al. Myd88s, a splice variant of MyD88, differentially modulates NF-Kappa B and AP-1-dependent gene expression[J] . FEBS Lett, 2003, 548: 103-107.
- [24] 刘作金, 刘长安, 龚建平. IRAK-4: TLR/IL-1R 家族共同信号转导系统中的关键因子[J] . 生理科学进展, 2005, 36(3): 276-279.
- [25] Muzio M, Natoli G, Saccani S, et al. The human toll signaling pathway: divergence of nuclear factor κ B and JNK/SAPK activation upstream of tumor necrosis factor receptor associated factor 6 (TRAF6) [J] . Exp Med, 1998, 187(12): 2097-2101.
- [26] Deng L, Wang C, Spencer E, et al. Activation of the I κ B kinase complex by TRAF6 requires a dimeric ubiquitin chain [J] . Cell, 2000, 103: 351.
- [27] Puel A, Picard C, Ku CL, et al. Inherited disorders of NF-kappa B-mediated immunity in man[J] . Curr Opin Immunol, 2004, 16: 34-41.
- [28] Takeuchi O, Sato S, Horuchi T, et al. Cutting edge: role of Toll-like receptor 1 in mediating immune response to microbial lipoproteins[J] . Immunol, 2002, 169(1): 10.
- [29] Komai K, Koma M, Jones L, Ogg GS, et al. TLR-2 is expressed on activated T cells as a costimulatory receptor[J] . Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(9): 3024-3034.
- [30] Ying L, Hyangkyu L, Aders H, et al. The lipopolysaccharide-activated Toll-like receptor-4 induces synthesis of the closely related receptor TLR-2 in adipocytes [J] . Biological Chemistry, 2000, 275(32): 24-55.
- [31] Alexopoulou L, Holt AC, Medzhirov R, et al. Recognition of double stranded RNA and activation of NF- κ B by Toll-like receptor 3[J] . Nature, 2001, 413(6857): 732.