

Toll-NF- κ B 信号途径及其介导的功能

杨玉荣* 余锐萍¹ 梁宏德(河南农业大学牧医工程学院, 郑州 450002; ¹ 中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘要 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)家族是宿主细胞识别各种微生物致病成份的主要受体, NF- κ B 位于 TLR 下游信号通路的枢纽位置, 当细胞受到生物应激刺激后激活 NF- κ B, 活化的 NF- κ B 进入细胞核调节炎症细胞因子的表达, 启动针对病原微生物的固有免疫和获得性免疫。因此, 对 Toll-NF- κ B 信号途径的研究将有助于对免疫反应、炎症病理的理解。

关键词 Toll 样受体; 病原相关分子模式; NF- κ B; 免疫; 炎症

Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)最早由 Medzhitov 等^[1]于 1997 年在果蝇体内发现, Toll 德文的意思为“疯狂的”或“极好的、令人兴奋的”, 因为作者发现该基因突变后果蝇的“背-腹”发育不正常, 由此以德文“Toll”命名。后来从低等到高等动物体内都发现 TLR 的存在, 现已在人和小鼠体内发现 12 种 TLR, 分别命名为 TLR1~TLR12, 是宿主细胞识别各种微生物致病源的受体。TLRs 能特异性地识别病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 通过跨膜结构将病原相关分子刺激信号转导入细胞内, 产生复杂的级联信号反应, 导致 NF- κ B、IFN 诱导因子等转录因子活化, 介导 IL-1、IL-6、IL-8, IFN- β 以及 TNF- α 等炎症介质基因的表达, 引起相应炎症介质的合成和释放, 趋化和激活嗜中性白细胞, 活化淋巴细胞, 启动针对病原微生物的固有和获得性免疫^[2,3]。最近研究发现 TLR 还能识别体内的“危险信号”(danger-associated molecular patterns, DAMPs), 如低钾(少于 70 mmol/L)、尿酸结晶或死亡细胞释放的蛋白质成分等^[4,5]。Toll-NF- κ B 信号途径参与细胞免疫应答、炎症反应和抗凋亡相关基因的转录, 是细胞免疫学领域的研究热点。

1 TLR 的结构和分布

1.1 结构

TLR 属于 I 型跨膜蛋白, 胞外区由富含亮氨酸的序列组成, 不同 TLR 之间的胞外区同源性较小, 各个 TLR 的配体结构不同。TLR 胞内区结构与白介素 1 受体 1 (IL-1R1)的胞内区相似, 称为 TLR/IL-R1 相似区(TLR/IL-R1 homologous region, TIR)。

1.2 分布

目前对 TLR2、TLR4、TLR5 及 TLR9 研究较多, 其他 TLR 资料较少。TLR 分布广泛, 主要表达在参与宿主防御功能的细胞上, 如单核巨噬细胞、粒细胞、树突状细胞、淋巴细胞、内皮细胞和上皮细胞等^[6], 其中树突状细胞表达了大量的 TLR。TLR1 表达较为广泛, 分布于各类免疫细胞。TLR2 主要表达于肺、心、脑、肌肉、淋巴组织中, 外周血白细胞、CD14 阳性单核巨噬细胞及内皮细胞表达较高。TLR3 只特异的分布于树突状细胞。TLR4 主要存在于心肌细胞、外周血白细胞、内皮细胞、上皮细胞及脾脏中。TLR5 表达于外周血白细胞及卵巢中。TLR6 主要分布于脾、胸腺、卵巢及肺的细胞中。TLR9 可表达在树突状细胞和 B 细胞, 另外还表达在细胞质的小囊泡^[7,8]。TLR10 多分布于淋巴样组织, 在 B 细胞表面大量表达。TLR11 表达于巨噬细胞、肝脏、肾脏及膀胱上皮细胞表面。

2 TLR 的配体

TLR 通过识别病原微生物均具有的一类脂结构来介导固有免疫反应, 这一类特殊结构称为病原相关分子模式(PAMPs)。TLR2、TLR6 及 TLR_x 的配体有脂蛋白、双链 RNA(病毒或损伤组织)^[9]、脂化阿拉伯甘露糖、脂多糖(LPS)、肽聚糖、酵母聚糖、脂磷壁酸; TLR4 的配体有 LPS、紫杉醇、F 蛋白、热休克蛋白 60、防御素、纤维蛋白^[10]; TLR5 的配体

收稿日期: 2006-12-11 接受日期: 2007-02-14

国家自然科学基金资助项目(No.30471301)

* 通讯作者。Tel/Fax: 0371-63555283, E-mail: yangyu7712@sina.com

是鞭毛蛋白; TLR9 的配体是 DNA 中非甲基化 CpG^[11]。

3 TLR-NF- κ B 信号转导通路

3.1 NF- κ B 蛋白家族

NF- κ B 是一种重要的核转录因子, 是普遍存在于细胞质中的快反应转录因子, 位于 TLR 下游信号通路的枢纽位置, 参与免疫反应及细胞增殖与分化等过程。Sen 等^[12]首先报道, NF- κ B 是小鼠 B 淋巴细胞中免疫球蛋白 κ 轻链增强子上的核转录因子, 随后发现其广泛分布于许多免疫细胞中。NF- κ B 家族由一组转录因子构成, 包括 5 个成员: Rel、RelA(p65)、RelB、p50 和 p52。每个成员均包含一个 Rel 同源区(Rel homology domain, RHD)结构, RHD 之间相互作用使 NF- κ B 形成二聚体, 存在于细胞质中。RHD 的 C 末端包含一个核定位序列, 在静止细胞中 NF- κ B 的 RHD 与其抑制单位 I κ B 的中心区结合, 在细胞质中形成无活性的 NF- κ B-I κ B 复合物。当细胞受到氧化、应激等因素的刺激后, NF- κ B 与 I κ B 解离并进入细胞核, 在细胞核内与 DNA 特定序列结合, 调节炎症性细胞因子、细胞增殖(抗凋亡)等基因的转录, 参与炎症调节、淋巴细胞成熟、体液免疫、固有免疫和免疫器官的发生^[13]。

3.2 TLR-NF- κ B 途径

有关 TLR-NF- κ B 的信号转导过程主要来自对 TLR2 和 TLR4 的研究^[14,15], 激活的 TLR 不仅诱导炎症反应, 而且促进抗原特异性获得性免疫反应的分化和成熟^[16]。目前认为 LPS 激活 TLR4-NF- κ B 有两条途径(图 1): 一条是髓样分化因子 88(Myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖的信号通路; 另一条

MyD88 非依赖的信号通路。MyD88 依赖的信号转导过程^[17,18]: 首先在细胞外, 炎症刺激因子如 LPS、IL-1 及 TNF 等与 TLR4 结合, TLR4 聚合使得信号转导到胞内。TLR4 的胞内 TIR 区与 MyD88 的羧基端结合, 同时 MyD88 通过氨基端的死亡域(death domain)与白介素 1 受体相关激酶(IL-1 receptor-associated kinase, IRAK)氨基端的死亡域结合, 激活 IRAK 自身的磷酸化, 获得游离的 IRAK1、IRAK2 和 IRAK4 继而激活肿瘤坏死因子受体相关因子-6 (TNF- α receptor association factor 6, TRAF-6), TRAF-6 激活 NF- κ B 抑制物的激酶(inhibitor of NF- κ B kinases, IKKs)复合物。I κ B 在 IKKs 复合物的作用下磷酸化, 磷酸化的 I κ B 被泛素连接酶复合物识别发生泛素化而降解。I κ B 的降解使 NF- κ B 从静息状态下受 I κ B 结合处于的抑制状态得以解除, NF- κ B 转入细胞核中诱导特定基因的表达, 启动细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-8、IL-12 等, 辅助共刺激分子 CD80 和 CD86 等基因的转录。另外, LPS 可刺激 MyD88 缺陷的巨噬细胞编码 IFN 诱导基因转录并表达干扰素诱导蛋白-10^[11], 说明存在 MyD88 非依赖的信号通路。表达 IFN 诱导基因依赖 TLR4, 但不依赖 MyD88, 它是通过 IFN 调节因子 3 (IFN regulatory factor 3, IRF3)和 NF- κ B 发生的。关于 LPS 激活 NF- κ B 的 MyD88 非依赖的信号通路目前还不明确, 但认为与 LPS 激活蛋白激酶 K、Src 型酪氨酸激酶及小 G 蛋白等有关, 这些都能活化 NF- κ B。

此外, TLR 除能激活 NF- κ B 通路, 也能激活 MAPK 信号通路, 两者的交叉点在 TRAF6: 在 TRAF6 激活 IKKs 的过程中, 转化生长因子- β - 激活激酶 (TGF- β activated kinase 1, TAK1)被活化, 从而磷酸化激活 MKK6(MAP kinase kinase 6), MKK6 磷酸化激活 MAPK 家族、JNK、p38 和 ERK^[19], 最终诱导转录激活因子蛋白-1 (activator protein-1, AP-1)活化, 调节细胞增殖、转化和死亡。

4 由 TLR-NF- κ B 介导的功能

4.1 促进细胞因子合成

促进细胞因子合成与释放是 TLR-NF- κ B 最突出的生物学功能。单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等通过膜表面的 TLR 感受入侵病原体的 PAMPs 刺激后, 经胞内信号转导通路, 活化胞核内 NF- κ B, 启动核内相关基因, 合成 IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、TNF- α 及 IFN- γ 等细胞因子并释放到胞外, 趋化粒细

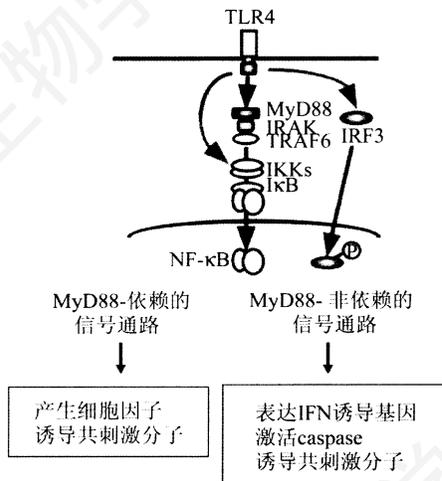


图 1 TLR-NF- κ B 信号转导途径^[14]

胞、巨噬细胞,增加毛细血管通透性,引起淋巴细胞浸润等反应,发挥早期免疫应答的效应。TLR 家族同时也参与炎症反应或炎症病理反应^[20,21],因此抑制TLR作用的药物可能成为抗炎药,也可能成为治疗自体免疫疾病的药物,不断加深对TLR信号系统的理解也是治疗各种疾病的基础。

4.2 调节免疫反应

TLR 感受入侵病原体的 PAMPs 刺激后,活化胞核内NF- κ B,分泌的细胞因子可上调共刺激分子的表达,如LPS可经TLR2促进静止树突状细胞表达CD83、MHC II、CD80、CD86、CD54和CD58等共刺激分子,促进产生成熟的树突状细胞。TLR激活固有免疫,随后激活获得性免疫,是连接固有免疫和获得性免疫的重要蛋白质^[11]。此外,LPS结合蛋白(LBP)可激活TLR2信号途径,产生促凋亡蛋白Fas相关死亡域蛋白(Fas-associated death domain protein, FADD)和caspase-8,导致表达TLR2的细胞发生凋亡,从而降低过度的免疫应答,调控机体对入侵病原体的免疫应答在适度水平^[22]。

4.3 其他功能

通过TLR4-NF- κ B途径促进机体对呼吸道合胞病毒的清除^[23],TLR对肺结核疾病的感染具有保护作用^[24]。结核分支杆菌的脂蛋白可通过刺激小鼠的TLR2-NF- κ B途径,诱发NO依赖性的杀菌活性^[25],但也有认为NO的产生与TLR无关^[26]。TLR对PAMPs的识别有协同或拮抗的作用,TLR6可增强TLR2对肽聚糖和表皮金黄色葡萄球菌来源的酚溶性调节蛋白的反应^[27]。融合的TLR2和TLR6可以抑制TLR2和TLR4配体的激活^[28]。TLR2、TLR4与TLR9对PAMPs的识别也存在着协同作用^[29]。在败血症动物模型中,内毒素、肠毒素B均能引起细胞内多条信号转导途径的活化,其中LPS通过与细胞膜上的TLR结合启动TLR-NF- κ B途径与固有免疫应答关系密切。感染性休克与LPS激活失控的NF- κ B的生物学效应有关^[30]。

5 小结与展望

随着对TLR-NF- κ B研究的深入,人们发现从低等到高等生物体内都有TLR的存在,推测这可能是生命机体古老的防御机制。目前关于TLR-NF- κ B的研

究主要集中在TLR对不同PAMPs及机体自身结构的识别机制、NF- κ B激活的调节机制以及对TLR导向的抗感染药物的研究等。虽然大部分TLR-NF- κ B的转导途径及机制还未被人们揭示,但从已知的报道来看,TLR-NF- κ B在介导机体固有免疫应答的早期就开始启动。TLR-NF- κ B途径在促进多种细胞因子合成的同时,还参与针对入侵病原体的获得性免疫应答,为治疗抗生素耐受感染性疾病、自身免疫性疾病以及研究免疫耐受、炎症病理及疫苗免疫提供了新的思路。此外,模式识别受体家族(pattern recognition receptors, PRRs)中除TLR家族被广泛研究以外,关于NLRs(NOD-like receptors)和RLHs(RIG-like helicases)也有报道,它们是存在于细胞浆中的可溶性蛋白,可扩大出现在细胞浆中的入侵信号^[5]。

参考文献(References)

- [1] Medzhitov R *et al. Nature*, 1997, **388**: 394
- [2] Lemaitre B *et al. Cell*, 1996, **86**: 973
- [3] Takeda K *et al. Semin Immunol*, 2004, **16**: 3
- [4] Martinon F *et al. Nature*, 2006, **440**: 237
- [5] Etienne Meylan *et al. Nature*, 2006, **442**: 39
- [6] Applequist SE *et al. Int Immunol*, 2002, **14**: 1065
- [7] Ozato K *et al. Biotechniques*, 2002, **Suppl**: 66
- [8] Pasare C *et al. Microbes and Infection*, 2004, **6**: 1382
- [9] Kariko K *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 12542
- [10] Oppenheim JJ *et al. Ann Rheum Dis*, 2003, **62**: ii17-21
- [11] Akira S *et al. Nat Immunol*, 2001, **2**: 675
- [12] Sen R *et al. Cell*, 1986, **47**: 921
- [13] Akira S *et al. Nat Rev Immunol*, 2004, **4**: 499
- [14] Biragyn A *et al. Science*, 2002, **298**: 1025
- [15] 唐深等. *微生物学免疫学进展*, 2004, **32**: 42
- [16] Takeda K *et al. Annu Rev Immunol*, 2003, **21**: 335
- [17] Zhang G *et al. J Clin Invest*, 2001, **107**: 13
- [18] 陈丹英等. *科学通报*, 2003, **48**: 1893
- [19] Kang YJ *et al. J Biol Chem*, 2006, **281**: 26225
- [20] Zhang D *et al. Science*, 2004, **303**: 1522
- [21] 刘道芳等. *中国药理学通报*, 2005, **21**: 653
- [22] Means TK *et al. J Immunol*, 1999, **163**: 3920
- [23] Kurt Jones EA *et al. Nat Immunol*, 2000, **1**: 398
- [24] Basu S *et al. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, **286**: L887
- [25] Thoma Uszynski S *et al. Science*, 2001, **291**: 1544
- [26] Means TK *et al. J Immunol*, 2001, **166**: 4074
- [27] Hajjar AM *et al. J Immunol*, 2001, **166**: 15
- [28] Bulut Y *et al. J Immunol*, 2001, **167**: 987
- [29] An H *et al. Immunol*, 2002, **106**: 38
- [30] Zhang G *et al. J Endotoxin Res*, 2000, **6**: 453

The Signal Pathway of Toll-NF- κ B and Its Function

Yu-Rong Yang*, Rui-Ping She¹, Hong-De Liang

(College of Animal and Veterinary Engineering, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

¹College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Toll-like receptor (TLR) family is one of the important receptor in cells recognizing of invading pathogens. NF- κ B located at key point of TLR down signal pathway and stress activated NF- κ B. Activated NF- κ B induced the production of inflammatory cytokines and provoked rapid activation of innate immunity and adaptive immunity after entered cell nucleolus. The increasing understanding of Toll-NF- κ B signal pathway could be benefit for the understanding of immune response and inflammation pathology.

Key words Toll-like receptor; pathogen-associated molecular patterns; NF- κ B; immunity; inflammation

Received: December 11, 2006 Accepted: February 14, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30471301)

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-371-63555283, E-mail: yangyu7712@sina.com