Toll 样受体与树突状细胞介导的天然免疫和获得性免疫

叶 燕 夏大静 *

(浙江大学医学院免疫学研究所, 杭州 310058)

摘要 树突状细胞(dendritic cells, DCs)作为迄今所发现的抗原提呈功能最强的一类抗原提呈细胞, 是联结天然免疫和获得性免疫的桥梁。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是一类进化保守的胚系编码的模式识别受体, 在 DCs 的抗原识别、递呈及激活 T 细胞等方面具有重要作用, 是机体受外来抗原入侵后作出适当免疫反应的调控点。现就 TLRs 在不同 DCs 亚群中的分布、与 DCs 介导的天然免疫和获得性免疫的关系及 DCs 功能可塑性的分子基础作一综述。

关键词 树突状细胞; Toll 样受体; 抗原识别; Th 平衡

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是体内功能最强的抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC), 也是唯一能活化幼稚 T 细胞(naïve T cell)的 APC。DCs 除了单纯的抗原捕获、递呈和对 T 细胞的协同刺激作用, 在特异性激活幼稚 T 细胞、联结天然免疫和获得性免疫反应中起着独一无二的作用。以 DCs 为基础的抗感染免疫治疗、抗移植排斥及肿瘤免疫治疗等研究方兴未艾。

DCs 主要通过模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRR)识别众多微生物中共有的、保守的致病原相关分子模式。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是其中一类重要的 PRR, 目前已在哺乳类动物细胞发现了 14 个家族成员(其中在人类 11 个, 在鼠类 13 个)[1], 主要表达于巨噬细胞和 DCs 上。DCs 可通过不同的 TLRs 分子识别从细菌和病毒成分到真菌和原生动物分子等范围广泛的病原体及其代谢产物, 激活获得性免疫应答并在其间发挥重要的调节作用。

1 TLRs 在不同 DCs 中的分布

在人类, DCs 可分为骨髓样 DCs(myeloid DCs, mDCs)和浆细胞样 DCs(plasmacytoid DCs, pDCs)。不同的 DCs 亚群具有不同的 TLRs 表达谱: pDCs 高表达 TLR7 和 TLR9, 低表达 TLR1、TLR6 和 TLR10; 而 mDCs 主要表达 TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6 和 TLR8(选择性表达 TLR3)[2]。

通过配体实验已证实不同的 TLRs 可识别不同的致病原相关分子模式或内源性物质。其中, TLR2 和TLR4分别识别革兰阳性菌的肽聚糖和革兰阴性菌的脂多糖; TLR3 参与识别病毒合成的双链 RNA; TLR5 和 TLR6 能分别识别细菌鞭毛蛋白和支原体的双酰基脂肽; TLR9 主要介导包括未甲基化的 CpG 模体在内的细菌 DNA 的信号转导; 近年来利用基因缺陷小鼠研究发现除了一些鸟嘌呤类似物如洛索立宾(loxoribine)及来源于如HIV等病毒的单链RNA外, 一些具抗病毒活性的合成复合物也是 TLR7 的配体, 如咪喹莫特(imiquimod)及其派生物等[3]。

因此, 不同 TLRs 在 DCs 亚群中的分布决定了后续免疫应答的类型: pDCs 主要识别 CpG 寡核苷酸(CpG-oligonucleotide, CpG-ODN)而非肽聚糖或脂多糖, 从而迅速分泌 IFN-α/IFN-β 并发育为成熟DCs, 在抗病毒免疫反应中起重要作用; mDCs 主要针对肽聚糖或脂多糖起反应而非 CpG-ODN, 产生一系列包括 TNF-α、IL-6 或 IL-12 在内的炎性细胞因子。

2 TLRs 与 DCs 天然免疫

DCs 在机体抗病毒、抗细菌等病原微生物入侵的天然免疫应答中发挥重要作用。未成熟 DCs 如朗格汉斯细胞、黏膜 DCs 等分布于皮肤、呼吸道或胃肠道黏膜等病原体易入侵部位, 高表达与吞噬有关的受体(如 Fc 受体、补体受体、甘露糖受体等), 而低表达 CD54、CD40、CD80 等共刺激分子和黏附分子, 使其具有较强的抗原摄取和加工处理能力。未成熟 DCs 在受抗原刺激后分化为高表达主要组织相

收稿日期: 2006-11-21 接受日期: 2007-05-29

* 通讯作者。Tel: 0571-88208282, Fax: 0571-88208285, E-mail: dxia@zju.edu.cn

适用于生命科学各研究领域的宝尔超纯水系统, 使实验数据更逼真 Tel: 021-64040161 www.baolor.com

容性复合体(MHC)及共刺激分子的成熟DCs, 通过分泌细胞因子和趋化因子招募中性粒细胞、巨噬细胞等天然效应细胞至感染部位, 后者发挥抗微生物活性, 阻杀病原体。

显然在宿主对感染源的抵御过程中, DCs对其识别是至关重要的一个环节。TLRs参与了这一环节, 使DCs最终获得激发幼稚T细胞的能力。根据TLRs对不同配体识别的相对特异性, 虽然单个类型的DCs所识别的抗原谱有限, 但整套DCs可识别涵盖广泛的病原体及其代谢物。在此基础上, 特定TLRs的异二聚化进一步增加DCs可识别病原体的范围[4]。如TLR1、TLR2、TLR4和TLR10能识别脂质, 而TLR2与TLR1或TLR6联合后可分别识别脂蛋白三脂和脂蛋白二脂。研究还发现用TLRs和共刺激分子B7-DCs交联刺激可以恢复成熟DCs的抗原摄取能力, 并增强其对T细胞的共刺激能力[5]。

此外, 每种TLRs在DCs细胞结构中的分布也与它所识别的致病原相关分子模式相关联。如TLR1、TLR2、TLR4、TLR5和TLR6通常表达在细胞表面, 能识别暴露于细菌表面或是隐蔽于内环境中的肽聚糖、脂多糖、鞭毛蛋白等分子; 而TLR3、TLR7、TLR9等与抗病毒相关的TLRs则位于核内体, 识别病毒和细菌DNA; TLR8主要位于胞内, 仅一小部分表达在细胞表面[6,7]。TLRs在DCs细胞结构中的不同定位不仅是为了使其更有利地识别并结合病原体, 且与其形成具有自身调节作用的TLRs信号相关。Nishiya等[8]用一种由TLR9的胞外结构域和TLR4的跨膜和胞内结构域组成的TLRs嵌合体(TLR9N4C)进行研究, 发现该嵌合体TLRs最终定位于胞膜上, 尽管该嵌合体受体对CpG的反应与TLR9相当, 但它对病毒颗粒DNA不敏感, 且该嵌合体TLRs能识别自身DNA(正常TLR9不能被自身DNA激活), 故推断DCs细胞的TLRs的跨膜区域与其在细胞中的正确定位相关, 而正确的定位能使TLR9易于识别存在于病毒颗粒中的核酸, 并防止它识别自身DNA。

DCs对抗原的提呈除了经典的MHCI类分子及II类分子提呈途径外, 近年还发现交叉提呈途径(cross-presentation), 即DCs能将外源性抗原经MHCI类分子途径递呈给CD8$^+$T细胞, 主要针对感染APC以外的病毒, 是对经典抗原提呈途径的又一重要补充。Datta等[9]发现, 部分TLRs参与了mDCs对相应配体的交叉提呈途径, 这些配体主要为TLR3的配体和TLR9的配体。与由未成熟DCs介导的将抗原提呈给CD4$^+$ T细胞的MHCII类分子途径不同, TLR4诱导的交叉提呈由成熟DCs介导, 无需内体酸化, 即能通过MHCI类分子提呈途径激活CD8$^+$T细胞, 是个依赖于胞质抗原加工的过程。

3 TLRs与DCs诱导的获得性免疫

3.1 TLRs与Th平衡

DCs经抗原刺激后通过分泌不同的细胞因子驱使T细胞分化为Th1或Th2, 从而决定了T细胞免疫应答的类型。其中, Th1细胞主要介导与胞内感染菌、病毒及局部炎症相关的免疫应答, 参与细胞免疫, 在机体抗胞内病原体感染中发挥重要作用; Th2细胞辅助B细胞增殖并产生抗体, 主要针对寄生虫感染等, 与体液免疫相关。T细胞分化适当与否决定随后的反应是对机体保护性的还是不利的。Th1/Th2细胞间的平衡失调可引起机体的组织损伤和功能紊乱, 如胰岛素依赖型糖尿病、多发性硬化症为Th1/Th2平衡向Th1细胞反应偏移所致; 而哮喘和系统性红斑狼疮等则通常由于Th2细胞反应过强所致。

多种因素可影响Th1/Th2细胞之间的平衡, 其中包括: ①刺激DCs的抗原剂量, 一般高剂量抗原通常与Th1型反应相关; ②T细胞和DCs间的数量之比, 通常低比率倾向于分化为Th1细胞; ③DCs表面共刺激分子的表达水平, 如OX40L或B7.2/B7.1的高表达可促进Th2细胞分化[10,11]; ④更为重要的是, 在T细胞活化初始阶段, DCs所分泌细胞因子的种类和水平, 如高分泌IL-12通常驱使T细胞向Th1细胞方向分化; 反之, IL-4、IL-5、IL-10则诱导T细胞向Th2细胞分化。DCs成熟后释放细胞因子的种类由DCs所属的谱系、刺激物、相应TLRs以及未成熟DCs所处的特异环境等因素所决定。例如TLR7的配体可刺激不同DCs亚群产生不同的细胞因子, 促使pDCs分泌IFN-α而在DCs则为IL-12[12]。在人mDCs, 双链RNA通常诱导Th0细胞向Th1细胞分化, 而来自蠕虫的可溶性虫卵往往促使成熟DCs诱导Th0向Th2分化; 病原体进入机体的不同途径也可影响免疫应答类型, 如将蠕虫*Leishmania major*皮下注射入C57/BL6小鼠时可产生强烈的Th1细胞反应, 然将该其通过鼻内途径时却诱导Th2细胞的产生[13]。

近年来, 有关TLRs信号转导与Th1/Th2平衡间的关系已成为变态反应及自身免疫病等疾病发病机制领域的研究热点。业已证实, TLR9与配体结合产

与世界接轨，用宝尔超纯水系统 · Tel: 021-64040161 www.baolor.com

生Th1型细胞因子如IL-12、IFN-γ等; 而TLR2与配体结合后可诱导Th2型细胞因子IL-4的产生, 后者可促使B淋巴细胞转化为浆细胞并分泌IgE, IgE迅速与肥大细胞及嗜碱性粒细胞结合, 当机体再次受相同的抗原刺激可引起肥大细胞及嗜碱性粒细胞上的IgE交联, 并激活肥大细胞及嗜碱性粒细胞, 使之脱颗粒释放出组胺等生物活性介质。研究发现病原微生物上的肽聚糖可促使机体产生IL-4、IL-5并激活肥大细胞及嗜碱性粒细胞; 而用合成肽Pam3CysSerLys4(一种合成的TLR2配体)作为佐剂与鸡卵蛋白(ovalbumin, OVA)一起免疫小鼠能诱导强烈的Th2型免疫应答[14], 提示TLR2在介导肥大细胞参与的哮喘中发挥重要作用。TLR4与脂多糖结合后诱导的免疫应答类型与其接触脂多糖的持续时间、剂量以及是否依赖髓样分化反应蛋白88(MyD88)有关。已知自身免疫性疾病通常与自身反应性T细胞的过度分化增殖相关联, 在感染情况下TLRs的配体可通过激活递呈自身抗原肽的APC, 诱导自身反应性T细胞活化增殖并转变为效应细胞, 打破免疫耐受, 从而引起自身组织的损伤。Ichikawa等[15]用一种可导致多发性硬化的自身抗原(PLP)制备实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)免疫耐受的SJL鼠模型, 发现CpG ODN在刺激该鼠的淋巴结细胞后, 可通过诱导IL-12的产生使PLP耐受的T细胞发生活化增殖, 分泌IFN-γ; 同时在被动转移实验中, 该激活的PLP特异性T细胞亦可导致正常的SJL鼠产生不同程度的EAE症状。目前, 已开始利用TLRs对Th0分化的调控功能来治疗某些免疫性疾病, 如用合成的具有免疫刺激效应的寡聚核苷酸(ISS-ODNs)作为抗过敏疫苗佐剂治疗过敏性哮喘小鼠, 实验结果表明ISS-ODNs可诱导明显的Th1型免疫应答、预防并逆转Th2型高反应, 从而达到治疗哮喘的效果[16]。

虽然人们对TLRs参与Th平衡的相关机制已有了初步认识, 如通过对MyD88缺陷小鼠的研究证实, TLRs是Th1型免疫反应所必需的介导分子, 非MyD88接头分子对Th1型免疫反应起辅助作用等, 但许多问题仍有待阐明: TLRs与Th2型免疫反应及其与变态反应性疾病之间的关系究竟怎样？既然TLRs信号是诱导Th1型反应所必需的, 那么是否存在具有某种能诱导Th2型反应的特异TLR配体？是否存在一些能专一诱导Th2型反应的DCs亚群等？

3.2 TLRs与免疫记忆

部分T细胞在初次应答中活化后可分化为长寿记忆性T细胞, 那么记忆性T细胞的产生是初次应答的直接结果抑或尚需要其他的信号？ Pasare等[17]发现以脂多糖刺激MyD88缺陷小鼠后, 尽管可通过暂时性剔除调节性T细胞来恢复T细胞的免疫应答, 但不能形成记忆性T细胞, 该结果表明初次应答并不是产生记忆性T细胞的充分条件, 而是尚需一种由TLRs介导的信号以诱导或维持记忆性T细胞的形成。进一步的实验表明记忆性T细胞一旦形成后, TLRs信号就不再需要, 以不包含脂多糖等任何TLR配体的人血白蛋白同样可以导致记忆性T细胞的明显活化。

4 TLRs与DCs功能可塑性的分子基础

所有的TLRs都是I型跨膜蛋白, 其胞外是富含亮氨酸的重复序列(LRR), 是配体识别部位, 并可能为TLRs的二聚化所必需; 中间是跨膜区; 胞内含负责信号转导的进化高度保守的Toll/IL-1R同源结构域(TIR), 介导TLR同接头蛋白间的相互作用。除MyD88外, 还发现了多种接头分子, 如MyD88样接头蛋白、包含TIR域的IFN-β诱导接头蛋白(TRIF)、TRIF相关接头分子(TRAM)、受体作用蛋白1 (receptor interaction protein 1, RIP1)等[18]。

TLRs配体激活DCs后, 可通过不同的TLRs接头分子使DCs分泌不同的细胞因子。如TLR3可通过MyD88依赖途径诱导炎性细胞因子如IL-1、TNF-α、IL-6和IL-12的表达, 参与非特异性抗病毒反应; 通过MyD88非依赖途径则诱导CD80和CD86的高表达及IFN-β干扰素蛋白-10(IP-10)等抗病毒细胞因子的产生, 参与诱导DCs的分化成熟及抗病毒免疫反应[19]。

MyD88是除TLR3外所有TLRs作用的枢纽接头分子。在经典MyD88依赖途径中, MyD88通过TIR-TIR作用被募集到TLRs。在未活化DCs中, 因IL-1受体相关激酶-1(IRAK-1)与Toll作用蛋白(Tollip)结合而使细胞维持在静息状态。经TLRs配体刺激后, IRAK-1被磷酸化, 其与Tollip的亲和力降低, 转而与MyD88结合, 而再进一步磷酸化后又与MyD88解离, 进入胞浆募集可溶性肿瘤坏死因子受体相关因子-6 (TRAF-6), 最终导致NF-κB抑制物(IκB)的降解, 从而解除对NF-κB的抑制作用, NF-κB转位入核, 与DNA上相应靶序列结合, 启动相关细胞因子的基因转录。Mal被认为是TLR4、TLR1/2和MyD88间的桥梁接头分子。TRIF与TLR3和TLR4相关, 可直接与TLR3作用。活化的TRIF募集TANK结合激酶1(TBK1)和

适用于生命科学各研究领域的宝尔超纯水系统，使实验数据更逼真　Tel: 021-64040161　www.baolor.com

IKKi(inducible IKK), 介导调节IFN基因转录的关键分子IFN调节因子3(IFN regulatory factor 3, IRF3)的磷酸化、二聚化，最终诱导I型IFN基因的表达。TRAM被认为是TRIF和TLR4之间的桥梁。TRIF也与TRAF6和RIP1相互作用, 介导NF-κB活化[20]。

由接头分子介导的胞内信号可受蛋白质磷酸化、降解、与抑制性接头分子作用等的调节。例如, MyD88(S)通过MyD88(S)- MyD88异二聚化抑制IL-1和脂多糖诱导的NF-κB活化。异二聚化后, IRAK-1同样被招募, 但不发生磷酸化[21]。此外, 某些食物、植物化学成分如白藜芦醇等可以调节TLR来源的信号和目的基因的表达, 从而改变机体对微生物感染的易感性[22]。

近年来对胞外富含亮氨酸的重复序列LRR结构特征的研究备受人们关注, 因为此类研究将有助于了解配体与TLRs的相互作用。Choe等[23]揭示了TLR3的胞外晶体结构, 发现它是一个庞大的由23个富含亮氨酸的重复序列组成的马蹄形螺旋管形状。该结构的最重要的特点是外结构域极度糖基化而凸起一面完全没有被糖基化, 目前认为该凸起面即为双链RNA的结合位点。TLRs不同配体的结合位点可能是具选择性的, 从而可影响内部信号复合体的组装。

5 小结与展望

TLRs作为一类主要的PRR, 在DCs介导的免疫功能中发挥重要作用, 目前对该受体的研究主要着眼于其识别配体的方式及其引发的免疫应答间的关系。对TLRs的深入研究将有助于我们进一步了解DCs在固有免疫和获得性免疫反应中的作用机制及其分子基础, 从而更深刻地了解一些疾病如微生物感染、变态反应以及自身免疫病等的发病机制, 最终为相应疾病的治疗及疫苗研制提供新的思路和途径, 具有重要的理论价值和实践意义。

参考文献(References)

[1] Miggin SM *et al. J Leukoc Biol*, 2006, **80**: 220
[2] Kadowaki N *et al. J Exp Med*, 2001, **194**: 863
[3] Hemmi H *et al. Nat Immunol*, 2002, **3**: 196
[4] Kawai T *et al. Cell Death Differ*, 2006, **13**: 816
[5] Radhakrishnan S *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 11438
[6] Takeda K *et al. Annu Rev Immunol*, 2003, **21**: 335
[7] Matsumoto M *et al. J Immunol*, 2003, **171**: 3154
[8] Nishiya T *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 19008
[9] Datta SK *et al. J Immunol*, 2003, **170**: 4102
[10] Kuchroo VK *et al.Cell*, 1995, **80**: 707
[11] Akiba H *et al. J Exp Med*, **2000**, 191: 375
[12] Ito T *et al. J Exp Med*, 2002, **195**: 1507
[13] Constant SL *et al. Eur J Immunol*, 2000, **30**: 840
[14] Redecke V *et al. J Immunol*, 2004, **172**: 2739
[15] Ichikawa HT *et al. J Immunol*, 2002, **169**: 2781
[16] Takabayashi K *et al. J Immunol*, 2003, **170**: 3898
[17] Pasare C *et al. Immunity*, 2004, **21**: 733
[18] O'Neill LA *et al. Trends Immunol*, 2003, **24**: 286
[19] Doyle SE *et al. J Immunol*, 2003, **170**: 3565
[20] Cusson-Hermance N *et al. J Biol Chem*, 2005, **280**: 36560
[21] Janssens S *et al. FEBS Lett*, 2003, **548**: 103
[22] Youn HS *et al. J Immuol*, 2005, **175**: 3339
[23] Choe J *et al. Science*, 2005, **309**: 581

Toll-like Receptors and The Innate Immunity and Adaptive Immunity Mediated by Dendritic Cells

Yan Ye, Da-Jing Xia*
(*Institute of Immunology, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*)

Abstract Dendritic cells (DCs), the most potent antigen-presenting cells (APC) which have been explored so far, play crucial roles in innate and adaptive immune response. Toll-like receptors (TLRs) are a group of conservative pattern-recognition receptors (PRR) in embryogenesis. They play an important role in the antigen recognition and presentation as well as in activation naïve T cells by DCs. Moreover, they are also the check-points in regulating immunity when the host encounters antigens. This review will focus on the distribution of TLRs in different DCs subsets, the interactions with the innate immunity or adaptive immunity mediated by DCs, and the molecular basis of DCs functional plasticity.

Key words dendritic cells; Toll-like receptors; antigen recognition; Th balance

Received: November 21, 2006 Accepted: May 29, 2007
*Corresponding author. Tel: 86-571-88208282, Fax: 86-571-88208285, E-mail: dxia@zju.edu.cn

与世界接轨，用宝尔超纯水系统 Tel: 021-64040161 www.baolor.com