

TLR5配体作为新型抗肿瘤靶点的研究进展

张琳喆^{1#} 范丽菲^{1#} 刘亚萍^{2*}

¹内蒙古大学生命科学学院, 内蒙古自治区细胞分子调控重点实验室, 呼和浩特 010000;

²内蒙古医科大学附属医院妇产科, 呼和浩特 010050)

摘要 利用宿主机体本身的免疫反应和炎症反应治疗肿瘤是一种很有前景的治疗策略。越来越多的证据表明, Toll样受体(TLRs)是先天免疫中的关键受体, 在癌症的发生和发展过程中发挥着重要作用, 不同的Toll样受体的抗肿瘤效果可能不同。它们能够通过启动先天免疫反应和适应性T细胞免疫来刺激抗肿瘤免疫的发生, 也可以通过激活炎症反应达到影响肿瘤发展的目的, 因此Toll样受体作为潜在的治疗靶点受到越来越多的关注, 其激动剂因其抗肿瘤潜力而成为了研究热点。在此背景下, 鼠伤寒沙门氏菌的鞭毛蛋白已经被确定为一种潜在的肿瘤治疗药物, 能够诱导肿瘤消退, 这种治疗效果被认为是由TLR家族模式识别受体TLR5介导的细菌抗原性和宿主先天免疫反应的激活所介导的, 但其确切的作用机制目前并不完全清楚。目前的研究结果表明, TLR5能够特异性地识别鞭毛蛋白, 激活体内相关通路, 诱导机体内的免疫反应和炎症反应, 募集趋化因子和促炎因子, 进而影响肿瘤进程。该综述旨在讨论TLR5的配体——细菌鞭毛蛋白的抗肿瘤作用以及作为新型抗肿瘤靶点的可能性。

关键词 TLR5; 鞭毛蛋白; 肿瘤; 乳腺癌

Research Progress of TLR5 Ligand as a Novel Antitumor Target

ZHANG Linzhe^{1#}, FAN Lifei^{1#}, LIU Yaping^{2*}

¹Inner Mongolia Key Laboratory for Molecular Regulation of the Cell, College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010000, China; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China)

Abstract It is a promising therapeutic strategy to treat tumors by using the host organism's own immune response and inflammatory response. More and more evidence shows that TLRs (Toll-like receptors) are the key receptors in innate immunity and play an important role in the occurrence and development of cancer. Different Toll-like receptors may have different anti-tumor effects, and they can stimulate the occurrence of anti-tumor immunity by initiating innate immune response and adaptive T cell immunity. It can also affect the development of tumor by activating inflammatory reaction, so TLR as a potential therapeutic target has attracted more and more attention, and its agonist has been actively studied for its anti-tumor potential. In this context, the flagellin of *Salmonella typhimurium* has been identified as a potential tumor therapeutic agent capable of inducing tumor regression, and this therapeutic effect is thought to be mediated by the TLR family pattern recognition receptor TLR5-mediated bacterial antigenicity and mediated by the activation of the host innate immune response, but its exact mechanism of action is not fully understood. The current research results show that TLR5 can specifically recognize flagellin,

收稿日期: 2022-02-22 接受日期: 2022-04-17

国家自然科学基金(批准号: 31960162)资助的课题

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel: 0471-3451427, E-mail: wuyun19820221@163.com

Received: February 20, 2022 Accepted: April 17, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31960162)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-471-3451427, E-mail: wuyun19820221@163.com

activate related pathways *in vivo*, induce immune and inflammatory responses in the body, recruit chemokines and pro-inflammatory factors, and then affect tumor progression. This review aims to discuss the antitumor effects of bacterial flagellin, a ligand of TLR5, and its potential as a novel antitumor target.

Keywords TLR5; flagellin; tumor; breast cancer

癌症的发展是一个多因素作用的过程,从上世纪开始,许多研究结果说明人体内的微生物群可以导致宿主发生炎症反应,进而直接影响肿瘤的发生、发展和治疗。有研究表明,以小鼠为宿主的微生物群的平衡被破坏会影响肿瘤对免疫治疗和化疗的反应^[1-3]。基于上述发现,研究人员对作用机制作进一步研究后发现,当病原体侵入人体时,人体的先天免疫系统会产生多个与促炎和抗病毒相关的信号反应,如果病原体还不能被清除,它们就会引起机体的慢性炎症,进而可能导致局部损伤和内源性分子释放,这种物质被称为损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)^[4-5]。其中病原体表面的分子结构被称为病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)。

病原体相关分子模式(PAMPs)是由Toll样模式识别受体(Toll-like receptors, TLRs)识别的。TLRs是免疫系统中的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs),能够通过保守的分子结构感应病原体,启动相关的免疫反应。TLRs主要在宿主抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APCs)中表达,在致病性感染中起着至关重要的作用^[6-7]。迄今为止,

人类已经鉴定出11种功能不同的TLRs,分为两类,即跨膜的TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6、TLR11以及细胞内的TLR3、TLR7~10^[8-9]。其中跨膜TLRs是由细胞外富含亮氨酸的LRR结构域和细胞内Toll/IL-1受体的TIR结构域组成的^[10]。LRR结构域能够识别不同的PAMPs,如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、未甲基化的双链DNA、CpG岛(CpG island, CpG)、单链RNA和鞭毛蛋白等^[11](图1)。而TIR结构域可以在细胞中转导信号,进而激活下游信号通路,从而诱导炎症反应的发生^[12](图1)。目前的研究发现,几乎所有的跨膜TLR的TIR结构域都能和接头蛋白MyD88结合,除了MyD88外,还有其他的接头蛋白,能够激活下游通路^[13]。根据接头蛋白的性质可分为不同的蛋白激酶(IRAK4、IRAK1、IRAK2、TBK1和IKK1)和泛素连接酶(TRAF6和Pellino 1),它们被招募和激活,进而激活核转录因子NF- κ B、I型干扰素(interferons, IFNs)和p38/JNK MAPK通路^[14](图1)。目前,靶向TLRs用于人类癌症免疫治疗过程的相关研究已在进行中,我们选择TLR5的配体鞭毛蛋白在肿瘤治疗中的作用作为本文的重点阐述对象。

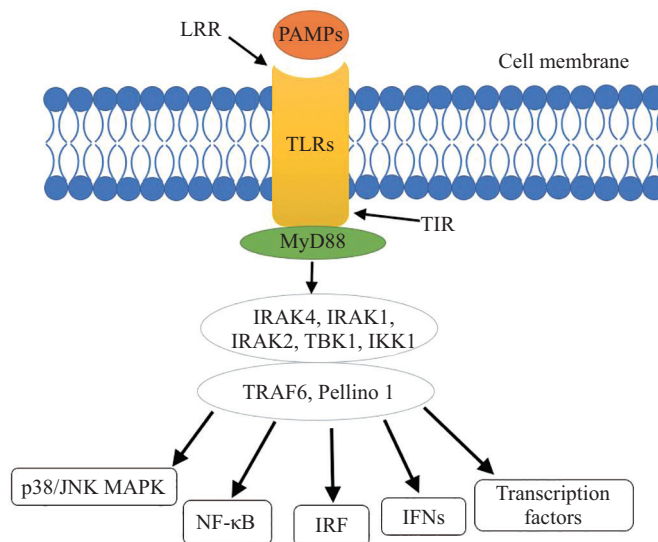


图1 跨膜TLRs通路概况(根据参考文献[11-12,14]修改)

Fig.1 Overview of the pathways of transmembrane TLRs (modified from references [11-12,14])

1 TLR5概况

SEBASTIANI等^[15]通过对小鼠和人的 $TLR5$ 进行基因序列比对分析后,发现 $TLR5$ 编码859个氨基酸,其中包含1个N-端信号序列、1个富含亮氨酸重复序列的胞外区、1个典型的I型跨膜蛋白的结构域以及Toll/IL-1R结构域; $TLR5$ 定位于1号染色体远端,同时他们还在mRNA上发现了33个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs),其中17个SNPs在 $TLR5$ 的非翻译区,16个SNPs在 $TLR5$ 的编码区。 $TLR5$ 在小鼠巨噬细胞和常规树突状细胞中不表达,但在肠上皮细胞和固有层树突状细胞中高表达,并在宿主抵御肠道细菌感染中发挥关键作用^[16]。在普通人群中,大约23%的人携带具有对免疫系统产生影响的功能性 $TLRs$ 基因多态性,而这种多态性可能与多种疾病的发生和发展有关,包括尿路感染和癌症等^[17-18]。已有研究证明 $TLR5$ 基因中的SNPs $rs5744168$ T等位基因在第392个密码子处编码终止密码子($TLR5r392x$),导致 $TLR5$ 跨膜结构域断裂,且这一SNP与散发性乳腺癌的发生有关^[19]。

2 鞭毛蛋白与TLR5相关免疫作用

目前的研究结果已知,不同的PAMP可以作为不同Toll样受体的配体,对肿瘤的发生、发展过程起不同的作用。例如脂多糖(LPS)能够激活TLR4信号

通路以保护肿瘤细胞免受免疫攻击,从而促进肿瘤生长^[20];TLR9的激活已被证明可以保护肿瘤细胞免受肿瘤坏死因子TRAIL诱导的凋亡,并促进肿瘤细胞的增殖^[21];相反,TLR3的激活在人类乳腺癌和黑色素瘤中可以激活抗增殖的信号通路^[22-23]。人类TLRs的唯一蛋白质配体是细菌鞭毛蛋白,它被TLR5识别,且与肿瘤发生发展也有重要关系^[24](图2)。

TLR5对来自 β -变形杆菌和 γ -变形杆菌的鞭毛蛋白单体形式作出反应,与鞭毛蛋白结合的TLR5诱导MyD88依赖性信号转导,并可以激活上皮细胞、单核细胞和树突细胞中的核转录因子NF- κ B,从而激活机体针对鞭毛细菌的先天免疫反应^[8,24-25]。

鞭毛位于有鞭毛结构的细菌表面,在沙门氏菌中,鼠伤寒沙门氏菌鞭毛蛋白由 $FliC$ 和 $FliB$ 两个基因编码,其中 $FliC$ 是起主要作用的编码基因^[26]。鞭毛蛋白能够引起机体的强烈免疫反应作用,归因于其具有D0结构域和D1结构域的保守结构,前者可以被能够识别炎症小体的NAIP5/6识别,参与炎症小体多蛋白复合体的组装和激活^[27]。TLR5主要利用其细胞胞外的LRR结构域与鞭毛蛋白D1结构域的3个螺旋相互作用,两个TLR5- $FliC$ 作为异源二聚体组装成2:2尾对尾的复合体,该复合体通过鞭毛蛋白的D1结构域与TLR5凸面接触而形成稳定的结构^[28]。已经

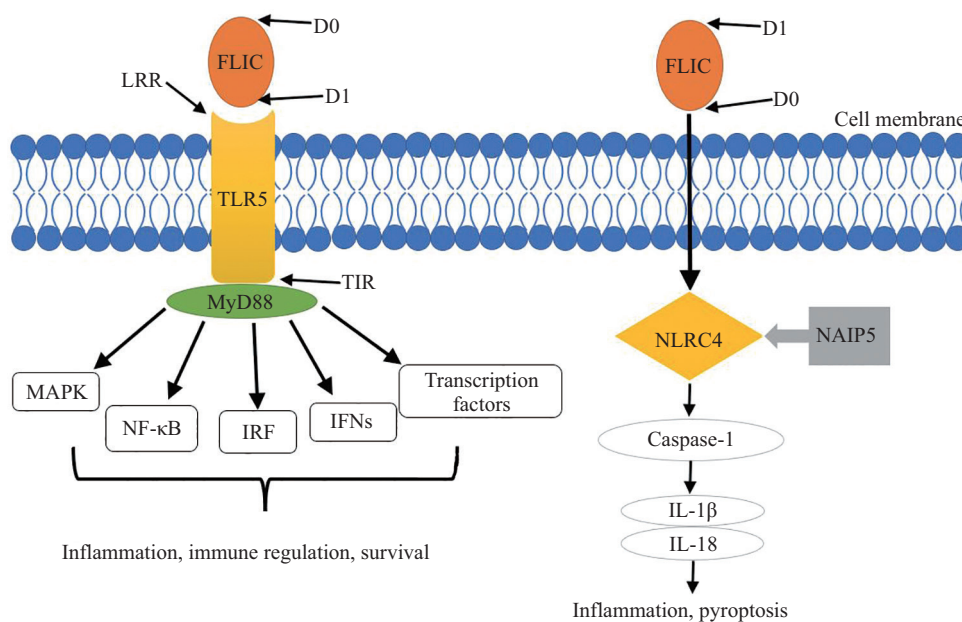


图2 TLR5鞭毛蛋白的免疫作用和炎症作用通路(根据参考文献[55]修改)

Fig.2 The immune and inflammatory pathways of TLR5 flagellin (modified from reference [55])

有多个研究结果证明,天然免疫系统能够识别*FliC*,并且引起细胞因子的产生和树突状细胞(dendritic cells, DCs)的激活^[29-30]。TLR5识别鞭毛蛋白后,通过接头蛋白MyD88诱导信号转导,同时TLR5激活树突状细胞后可以上调主要组织相容性抗原复合体II(major histocompatibility complex II, MHCII)类分子、CD80和CD86的表达,并分泌白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)、IL-6和趋化因子CXCL1等细胞因子^[30-32]。此外,SANDERS等^[31]和ATIF等^[33]研究证明,TLR5还可以反过来促进鞭毛蛋白的摄取和表达,这也是激活T细胞免疫所必需的途径。NGUYEN等^[34]发现鞭毛蛋白可以通过增强依赖多肽特异性的CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞活性和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)的产生,从而抑制肿瘤生长,延长生存期;此外,鞭毛蛋白作为佐剂的多肽抗癌疫苗在小鼠模型中可以预防肿瘤的肺转移,这种抗肿瘤活性在*TLR5*和*MyD88*基因敲除小鼠中消失,也在耗尽CD8⁺T细胞的野生型小鼠体内消失;这些研究表明鞭毛蛋白可以基于机体免疫反应来作为抗肿瘤疫苗的有效佐剂。

3 鞭毛蛋白引起炎症反应作用

NBD-LRR蛋白被称为胞质免疫传感器家族(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat containing receptors, NLRs)。例如NAIP5和NLRC4,它们包含1个富含亮氨酸重复序列(leucine rich repeat, LRR)和1个核苷酸结合域(nucleotide binding domain, NBD),可以参与炎症小体的多蛋白复合体的组装和激活^[27]。炎症小体的主要功能是激活半胱氨酸蛋白酶caspase-1。Caspase-1最初是作为一种无活性的前体蛋白,需要被重新募集到炎症小体才能够被激活^[35](图2)。一旦被激活,caspase-1是促炎症细胞因子IL-1 β 和IL-18的水解和分泌所必需的。此外,活化的caspase-1还可以快速诱导细胞坏死反应,该过程也被称为细胞焦亡^[36]。

含有NLRC4的炎症小体是宿主体内最具特征性的炎症小体之一,它能够识别沙门氏菌的鞭毛蛋白中的一个保守结构域,进而特异性地激活caspase-1^[37-38]。在有一些情况下,含有NLRC4炎症小体的激活需要NAIP5的存在^[39]。NAIP5对于caspase-1的激活是必需的,并且能够诱导NLRC4寡聚化,以响应一些依赖于NLRC4的刺激。LIGHTFIELD等^[40]证明含有鞭毛的嗜肺链球菌对NAIP5/NLRC4/cas-

pase-1的激活依赖于鞭毛蛋白C末端的氨基酸。之后他们进一步证明NLRC4可能是一个相对较差的激活因子,而NAIP5的存在可以稳定鞭毛蛋白的C-端,从而提高鞭毛蛋白刺激NLRC4的能力。NAIP5也可能通过识别鞭毛蛋白后的下游反应来增强NLRC4的反应作用,并且可能会在弱刺激下放大依赖于NLRC4产生的caspase-1的激活作用^[41]。

TLR5对鞭毛蛋白的识别诱导了多种下游信号转导途径,在没有NLRC4炎症小体的情况下,TLR5是鞭毛蛋白免疫原性所必需的^[42]。参与TLR5和NLRC4炎症小体的主要细胞因子IL-1 β 和IL-18都需要MyD88信号通路^[43]。尽管存在这种共性,但MyD88缺陷小鼠对鞭毛蛋白的抗体反应仍保持不变^[44]。LOPEZ等^[45]证明鞭毛蛋白对内源性和外源性抗原的作用在动物模型中至少可以归因于三种途径:TLR5、NAIP5/NLRC4/caspase-1炎症小体和一种新的独立于MyD88的途径。目前这种新的途径未见报道。

HU等^[46]发现与野生型小鼠相比,NLRC4和caspase-1敲除小鼠在早期阶段能够促进肿瘤形成,并且提出NLRC4炎症小体调节上皮细胞对损伤的反应,对结肠炎症诱导的肿瘤形成至关重要。目前NLRC4在肿瘤发生中的具体作用机制未见报道。

4 TLR5与肿瘤发生

上文已经介绍过TLR5是一种可以识别细菌衍生物鞭毛蛋白的模式识别受体。它可以通过对全身炎症反应和肿瘤相关的免疫反应的调节作用极大地影响肿瘤的发生发展进程,而TLR5功能丧失的突变在人类中也很常见^[17],因此进行深入的研究可能会对临床肿瘤的治疗提供新的思路。

4.1 TLR5与肠道肿瘤的发生

幽门螺杆菌是一种附着在人胃黏膜上的嗜氧、带有鞭毛的革兰氏阴性细菌^[47]。幽门螺杆菌慢性感染约占全球范围内非贲门胃癌新发病例的90%,是胃癌发生的最危险致病因素^[48]。SMITH等^[49]证明胃上皮细胞通过TLR5识别并应答幽门螺杆菌感染,进而诱导上皮细胞NF- κ B信号通路活化和其他趋化因子表达。TREJO等^[50]证明,具有*TLR5*基因多态性患者的胃组织中IL-1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和IL-10表达水平显著降低。基于这些研究结果,XU等^[51]通过对比国内的病例系统地评估了*TLR5*基因变异及其与幽门螺杆菌感染

在胃癌发生中的相互作用。他们发现, *rs5744174*、*rs1640827*和*rs17163737*等位基因与患胃癌的风险增加具有显著相关性, *rs1640827*和*rs17163737*与幽门螺杆菌感染之间存在显著的相互作用。

TLR5识别鞭毛蛋白后, 激活接头蛋白MyD88, 再与激活的核转录因子NF- κ B、蛋白激酶p38、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)共同调节一些免疫反应。在结直肠癌荷瘤模型中, SWANNS等^[52]实验证明MyD88基因缺失降低了结直肠癌的发病率, 另一研究团队证明MyD88或TLR5的缺失促进了肿瘤的生长^[53]。尽管存在一定的矛盾性, 但是这表明TLR5依赖的信号的确可以影响结直肠癌的进展。之后又有学者研究了鞭毛蛋白受体TLR5与下游效应分子MyD88的单核苷酸多态性与结肠癌患者的相关性, 研究发现在TLR5基因中, *rs5744174/F616*等位基因与结直肠癌生存率增加相关, 而*rs2072493/N592S*与生存率减少相关, 并且结果表明*rs2072493/N592S*和*rs5744174/F616L*都可以对TLR5下游信号进行调控, 以响应鞭毛蛋白的刺激。此外, 他们发现在携带TLR5的616LL纯合患者体内, 鞭毛蛋白可诱导蛋白激酶p38磷酸化、L-选择素(L-selectin, CD62L)脱落, *IL-6*和*IL-1 β* 的mRNA的表达量增加, 这一发现表明IL-6等细胞因子在结直肠癌发生中的作用可能是由鞭毛蛋白识别TLR5介导的^[54]。

KASURINEN等^[55]通过调查了313例接受胃腺癌手术的患者组织样本, 发现TLR5高表达的患者5年生存率为53.4%, 而TLR5低表达的患者5年生存率为37.6%。TLR5高表达作为预后较好的标志, 可以识别预后效果较好的胃癌患者, 特别是那些II期疾病或肠型癌患者。BEILMANN等^[56]发表的最新数据也首次证明, 在结直肠癌患者中TLR5阴性患者的5年生存率为55.9%, 而TLR5阳性患者的5年生存率为61.9%, TLR5高表达也可能可以作为结直肠癌预后较好的标志。

通过这些研究结果, 我们认为肠道组织中的细菌鞭毛蛋白可以通过识别TLR5基因, 募集接头蛋白MyD88, 进而通过NF- κ B和MAPK等信号通路影响肠道肿瘤的发展进程。

4.2 TLR5与乳腺癌肿瘤的发生

乳腺癌现在已经是最常见的癌症形式, 也是全

球女性人口中发病率和死亡率最高的疾病。在女性中, 仅乳腺癌确诊病例就占有癌症确诊病例的30%左右^[57]。2021年2月2日, 世界卫生组织癌症专家安德烈伊尔巴维在联合国简报会上表示, 乳腺癌病例已经超过肺癌, 首次成为全球最常见的癌症, 在新增癌症病例中占11.7%。性激素失调目前被认为是乳腺癌的主要危险因素之一, 雌激素失调在临床和分子上表现为不同的亚型: 三阴性(TN)、HER2阳性(HER2⁺)和ER阳性(ER⁺)^[58]。

CAI等^[59]发现TLR5在正常乳腺组织的导管上皮中特异性表达, 且很多人类乳腺癌样本都表达TLR5, 在某些亚型乳腺癌中TLR5的表达水平较高。之后, 使用鞭毛蛋白激活乳腺癌中的TLR5信号通路, 可以诱导促炎细胞因子和趋化因子的分泌。此外他们发现在晚期乳腺癌中, 鞭毛蛋白可以诱导信号转导与转录激活因子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)和STAT3的磷酸化, 进一步表明鞭毛蛋白处理乳腺癌细胞后激活了细胞因子诱导的信号通路, 鞭毛蛋白还可以诱导分泌内源性细胞因子和趋化因子, 例如CCL20(macrophage inflammatory protein-3 α , MIP-3 α)、CXCL5(epithelial neutrophil activating peptide-78, ENA-78)、CXCL1(growth-regulated oncogene- α GRO- α)和CCL22(macrophage-derived chemokine, MDC), 进而募集单核细胞、中性粒细胞和淋巴细胞到肿瘤部位, 抑制肿瘤生长。BRACKETT等^[60]使用TLR5激动剂Entolimod刺激荷瘤小鼠模型后, 发现肝脏中表现出明显的TLR5激活反应, 诱导NF- κ B、激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)和STAT-3等细胞因子产生, 同时Entolimod通过不依赖干扰素IFN- γ 的机制, 迅速诱导趋化因子CXCL-9和CXCL-10的产生, 之后CXCL-10经过血液循环到达NK细胞, 并且识别NK细胞上的受体CXCR3, 使杀伤细胞(natural killer cell, NK)归巢到肝脏。NK细胞依赖性的树突状细胞(DCs)被激活后, 刺激CD8⁺ T细胞反应, 启动抗肿瘤免疫并且建立特异性和持久的免疫记忆。

已经有很多研究表明, TLR5表达水平影响癌症的进展和发展, 例如上述的TLR5 SNP *rs5744168*与散发性乳腺癌的发生有关^[19]。SHI等^[61]通过建立TLR5低表达模型, 证明了三阴性乳腺癌中TLR5的下调增加了肿瘤的侵袭性, 并且肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor associated factor 6, TRAF6)

和转录因子SOX2信号通路通过上皮细胞-间质转化调节这种影响, 而JIANG等^[62]最近发表的结果显示, 他们也通过构建TLR5正常表达和低表达的小鼠三阴性乳腺癌细胞4T1模型, 证明在三阴性乳腺癌4T1细胞中TLR5的下调促进了血管内皮生长因子的受体VEGFR的表达, 而肿瘤细胞的表面存在着独特的自分泌信号环。乳腺癌细胞可以通过激活VEGFR促进血管生成, 为肿瘤生长提供进一步的营养, 进而导致细胞的增殖。这些结果证明TLR5可以作为TLR5阳性乳腺癌的预后和监测指标。

4.3 TLR5与其他肠道外肿瘤的发生

上文提到TLR5在乳腺癌和肠道肿瘤中的作用。然而, 目前对于微生物诱导的TLR5依赖信号和对肠道外的恶性肿瘤发生机制的相关研究较少。

根据WHO对头颈部肿瘤的最新分类, 口咽鳞状细胞癌(oropharyngeal carcinoma/oropharyngeal squamous cell carcinoma, OPSCC)可分为与人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)相关的和与HPV无关的两个不同的种类^[63]。KYLMA等^[64]研究了143例未筛选的口咽鳞状细胞癌患者的癌细胞中TLR5的表达情况以及其与患者预后的关系, 通过用鞭毛蛋白刺激肿瘤细胞的TLR5, 分析NF- κ B通路中抑制因子I κ B和其磷酸化的活性。他们发现, 在HPV阳性的OPSCC患者中, 通常TLR5免疫表达水平较低, 而在HPV阴性的OPSCC患者中TLR5高免疫表达更常见。在体外, 他们在HPV阳性的OPSCC细胞中检测到了NF- κ B级联反应的激活, 但在HPV阴性的OPSCC细胞中没有检测到NF- κ B级联反应的激活, 在HPV阴性的OPSCC中, TLR5免疫表达水平的升高可能与NF- κ B活性的降低有关, 这也与HPV阴性的OPSCC患者一般有较差的预后效果有关。而HAEGGBLOM等^[65]在HPV阳性、TLR5免疫表达低的OPSCC细胞中检测到高表达水平的CD8⁺ T肿瘤浸润淋巴细胞。

RUTKOWSKI等^[18]通过建立肉瘤和卵巢肿瘤小鼠模型, 发现TLR5可以识别共生的微生物群, 并且可以促进炎症反应, 从而调节肿瘤发展和恶性发展进程。实验表明在一些肿瘤中, TLR5信号可以驱动白细胞介素IL-6的上调, IL-6又能促进髓系抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)动员及作用, 诱导T细胞产生免疫抑制性分子半乳糖凝集素Gal-1, 从而加速肿瘤生长。相比之下, 白细胞介素

IL-17在TLR5缺陷型的荷瘤小鼠中呈现上调趋势, 并且只在肿瘤细胞对IL-6反应比较差的系统中可以加速肿瘤生长。然而, 实验中IL-6和IL-17又都可以受到共生微生物群的影响, 并最终影响免疫环境和促进肿瘤发展进程。据报道, Gal-1可以与细胞膜表面的糖基缀合物交联, 选择性地减弱辅助性T细胞Th1、Th17和CD8⁺ T细胞反应作用^[66], 而Gal-1已经被证实可成为多种肿瘤免疫抑制的关键性驱动因素^[67]。

我们不难发现, 机体内的微生物群可能通过依赖TLR5的信号通路, 募集机体内免疫细胞, 产生免疫反应, 进而影响肠道的外肿瘤的发展进程。目前关于微生物群与肠道外肿瘤的研究报道较多, 但关于TLR5的相关研究较少。

5 TLR5与转化医学研究

5.1 TLR5激动剂CBLB502临床治疗的可能性

高剂量的电离辐射(ionizing radiation, IR)的毒性涉及造血系统和胃肠道, 而造血系统和胃肠道细胞对基因毒性应激极端的敏感性在很大程度上决定了放疗和化疗的副作用^[68](图3)。先前有研究表明NF- κ B信号遗传缺陷小鼠的胃肠道辐射敏感性增强^[69], NF- κ B激活可诱导产生有助于细胞保护和促进组织再生的多种因子, 包括凋亡抑制剂和活性氧清除剂等。NF- κ B的激活是影响p53抑癌通路功能的机制之一^[70]。p53抑癌通路是放射敏感性的主要决定因素之一。BURDELYA等^[71]研究在不引起急性炎症反应的情况下激活胃肠道细胞中的NF- κ B, 可降低鞭毛蛋白的免疫原性和毒性, 他们找到了一种工程鞭毛蛋白衍生物对NF- κ B激活最有效, 并将其命名为CBLB502, 它包括鞭毛蛋白的完整N-末端和C-末端结构域, 由连接分子隔开, 并且在大肠杆菌中产生的CBLB502可作为一种重组蛋白。其完全保留了鞭毛蛋白的NF- κ B诱导活性和特殊的稳定性, 但免疫原性和毒性都显著降低, 并且能够有效地减轻辐射诱导的损伤。最后他们通过小鼠和灵长类动物评估CBLB502作为抗癌放射治疗佐剂的潜力。

上文中提到的TLR5激动剂Entolimod指的就是CBLB502, LAI等^[72]研究证明经CBLB502处理后, 在TLR5结构域I213A处突变能够显著降低NF- κ B的活性和辐射防护活性, 而NLRC4结合域L292A处突变则没有显著效果, 但总体来说两者都降低了小鼠体内的NF- κ B活性, 消除了辐射防护作用。相比之下,

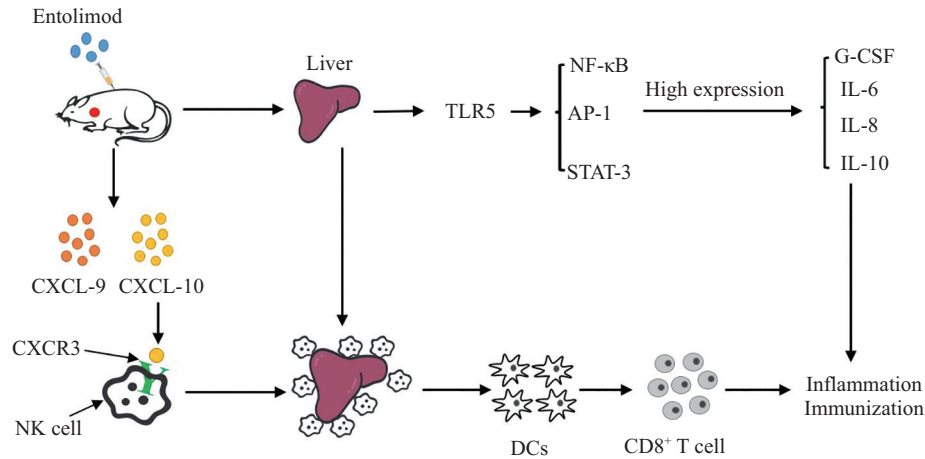


图3 TLR5激动剂Entolimod刺激乳腺癌荷瘤小鼠模型(根据参考文献[68]修改)

Fig.3 TLR5 agonist Entolimod stimulates breast cancer tumor-bearing mouse model (modified from reference [68])

NLRC4结合域突变减少了炎性白细胞介素IL-1 β 和IL-18的分泌。这个结果证明, CBLB502通过TLR5和NLRC4途径发挥辐射防护作用, 并且可以通过NLRC4降低炎症反应敏感性。

在最近的研究中, PORTILLO等^[73]在CAR-T细胞治疗肿瘤方法的基础上, 提出利用经过基因改造的NK细胞替代T细胞, 来区别癌细胞和健康细胞并且定位和杀死恶性肿瘤。而最新的另一研究发现, CAR-T/NK细胞用于治疗结直肠癌的效果甚微, 因此在这一治疗方法的基础上, 他们成功在肿瘤部位诱导分泌CBLB502的CAR133-NK92细胞, 并且证明CAR133-I502-NK92细胞能以CAR133依赖的方式直接杀伤CD133阳性的结直肠癌细胞, 而且还能通过CBLB502诱导的内源性免疫激活间接杀伤CD133阴性的异质结直肠癌细胞^[74]。

总的来说, 新型放射防护剂CBLB502的研制, 不仅是对致死性剂量IR的生物防御, 而且是对临床患者放射治疗副作用的一种保护。

5.2 鞭毛蛋白作为疫苗佐剂开发

由于日益增加的生物安全需要, 使用更受限制、更明确的疫苗成分时, 有必要加入佐剂, 以提高针对疫苗抗原免疫应答的质量和程度。鞭毛蛋白能被TLR5识别, 作为天然的免疫激动剂, 其最显著的特点是能够激活先天免疫, 进而刺激适应性免疫反应^[75]。鞭毛蛋白是一种蛋白质, 可以用于设计开发疫苗, 以保留免疫原性。近年来鞭毛蛋白作为佐剂为肿瘤的免疫治疗提供了新的思路, 利用小鼠模型进行的研究显示, 鞭毛蛋白作为一种TLR5配体, 会降低对自身抗原的免疫耐受性, 并促进肿瘤

抗原的免疫应答。例如, 在治疗性癌症疫苗模型中, 通过TLR5刺激获得了增强的肿瘤特异性CD8⁺ T细胞免疫应答^[34], 在2020年, 首次将来自沙门氏菌的鞭毛蛋白分泌衍生物等研制成疫苗Mobilan, 另外作为前列腺癌患者免疫治疗候选药物的临床研究证明了其安全性和耐受性^[76]。此外鞭毛蛋白也可以作为卵清蛋白的辅助用药^[45]。鞭毛蛋白已被用于肿瘤疫苗和癌症免疫疗法的开发^[77]。

6 结论与展望

Toll样受体作为先天免疫系统中的模式识别受体(PRRs), 这些TLRs的发现极大地提高了人们对机体如何感知病原体入侵、触发先天免疫反应和启动抗原特异性适应性免疫的理解^[11]。其中, TLR5的配体细菌鞭毛蛋白是TLRs配体中唯一的蛋白质, TLR5识别鞭毛蛋白后, 能够激活细胞核因子NF- κ B, 并通过依赖于MyD88的途径刺激肿瘤坏死因子TNF- α 的产生^[16], 同时鞭毛蛋白也可以被NLRs家族的两个受体NAIP5和NLRC4识别, NLRC4能够触发炎症体的形成^[38], NAIP5是细菌鞭毛蛋白的炎症体受体和III型分泌系统组件^[40], 可以激活炎症体^[42]。而本文重点综述了TLR5与鞭毛蛋白的结合对肿瘤发生和发展进程的影响。

自20世纪60年代末以来, 人们一直在努力使用各种策略来利用鞭毛蛋白。他们试图将鞭毛蛋白引入临床癌症治疗和疫苗开发中, 但目前还有很多问题有待解决。例如有研究证明鞭毛蛋白对内源性和外源性抗原的作用除了MyD88和NLRC4途径外, 还有第三条途径, 但具体作用机制目前尚未被发现。

关于将TLR5配体鞭毛蛋白作为新型抗肿瘤配体的作用机制,目前的大多数研究都集中在结肠癌和乳腺癌中,而在其他肿瘤中的作用机制还有待挖掘。TLR5激动剂和鞭毛蛋白作为疫苗佐剂的开发,为临床上应用TLR5配体治疗肿瘤以及其他疾病提供了新的思路和途径。

参考文献 (References)

- [1] SIVAN A, CORRALES L, HUBERT N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy [J]. *Science*, 2015, 350(6264): 1084-9.
- [2] VÉTIZOU M, PITT J M, DAILLÈRE R, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota [J]. *Science*, 2015, 350(6264): 1079-84.
- [3] IIDA N, DZUTSEV A, STEWART C A, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment [J]. *Science*, 2013, 342(6161): 967-70.
- [4] WANG J Q, JEELALL Y S, FERGUSON L L, et al. Toll-like receptors and cancer: MyD88 mutation and inflammation [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 367.
- [5] RAKOFF-NAHOUM S, MEDZHITOV R. Toll-like receptors and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(1): 57-63.
- [6] AKIRA S, UEMATSU S, TAKEUCHI O. Pathogen recognition and innate immunity [J]. *Cell*, 2006, 124: 783-801.
- [7] THAISS C A, LEVY M, ITAV S, et al. Integration of innate immune signaling [J]. *Trends Immunol*, 2016, 37(2): 84-101.
- [8] HAYASHI F, SMITH K D, OZINSKY A, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5 [J]. *Nature*, 2001, 410: 1099-103.
- [9] WERLING D, JANN O, OFFORD V, et al. Variation matters: TLR structure and species-specific pathogen recognition [J]. *Trends Immunol*, 2009, 30(3): 124-30.
- [10] SMITH M, GARCÍA-MARTÍNEZ E, PITTEP M R, et al. Trial watch: Toll-like receptor agonists in cancer immunotherapy [J]. *OncoImmunology*, 2018, 7(12): e1526250.
- [11] KAWAI T, AKIRA S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11: 373-84.
- [12] VIDYA M K, KUMAR V, SEJIAN V, et al. Toll-like receptors: significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals [J]. *Int Rev Immunol*, 2018, 37: 20-36.
- [13] BARTON G M, KAGAN J C. A cell biological view of Toll-like receptor function: regulation through compartmentalization [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 535-42.
- [14] MORRISON D K. MAP kinase pathways [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 11: a011254.
- [15] SEBASTIANI G, LEVEQUE G, LARIVIÈRE L, et al. Cloning and characterization of the murine Toll-like receptor 5 (*TLR5*) gene: sequence and mRNA expression studies in salmonella-susceptible MOLF/Ei mice [J]. *Genomics*, 2000, 64(3): 230-40.
- [16] MIAO E A, ANDERSEN-NISSEN E, WARREN S E, et al. TLR5 and Ipaf: dual sensors of bacterial flagellin in the innate immune system [J]. *Seminars Immunopathol*, 2007, 29: 275-88.
- [17] CASANOVA J L, ABEL L, QUINTANA-MURCI L. Human TLRs and IL-1Rs in host defense: natural insights from evolutionary, epidemiological, and clinical genetics [J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 447-91.
- [18] RUTKOWSKI M R, STEPHEN T L, SVORONOS N, et al. Microbially driven TLR5-dependent signaling governs distal malignant progression through tumor-promoting inflammation [J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(1): 27-40.
- [19] SHUANG C, WEIGUANG Y, ZHENKUN F, et al. Toll-like receptor 5 gene polymorphism is associated with breast cancer susceptibility [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 88622-9.
- [20] SZCZEPBDSKI M J, CZYSTOWSKA M, SZAJNIK M E, et al. Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(7): 3105-13.
- [21] CHIRON D, PELLAT-DECEUNYNCK C, MAILLASSON M, et al. Phosphorothioate-modified TLR9 ligands protect cancer cells against TRAIL-induced apoptosis [J]. *J Immunol*, 2009, 183: 4371-7.
- [22] SALAUN B, COSTE I, RISSOAN M C, et al. TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells [J]. *J Immunol*, 2006, 176: 4894-901.
- [23] SALAUN B, LEBECQUE S J, MATIKAINEN S, et al. Toll-like receptor 3 expressed by melanoma cells as a target for therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 4565-74.
- [24] GEWIRTZ A T, NAVAS T A, LYONS S, et al. Cutting edge: bacterial *Flagellin* activates basolaterally expressed TLR5 to induce epithelial proinflammatory gene expression [J]. *J Immunol*, 2001, 167: 1882-5.
- [25] MEANS T K, HAYASHI F, SMITH K D, et al. The Toll-like receptor 5 stimulus bacterial *Flagellin* induces maturation and chemokine production in human dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2003, 170(10): 5165-75.
- [26] MACNAB R M. How bacteria assemble *Flagella* [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2003, 57: 77-100.
- [27] SCHRODER K, ZHOU R, TSCHOPP J R. The NLRP3 inflammasome: a sensor for metabolic danger [J]? *Science*, 2010, 327: 296-300.
- [28] YOON S I, KURNASOV O V, NATARAJAN V, et al. Structural basis of TLR5-*Flagellin* recognition and signaling [J]. *Science*, 2012, 335: 859-64.
- [29] JONES S C, BRAHMAKSHATRIYA V, HUSTON G E, et al. TLR-activated dendritic cells enhance the response of aged naive CD4⁺T cells via an IL-V dependent mechanism [J]. *J Immunol*, 2010, 185: 6783-94.
- [30] BATES J T, UEMATSU S, AKIRA S, et al. Direct stimulation of TLR5^{+/+} CD11c⁺ cells is necessary for the adjuvant activity of *Flagellin* [J]. *J Immunol*, 2009, 182: 7539-47.
- [31] SANDERS C J, YU Y, MOORE D A, et al. Humoral immune response to *Flagellin* requires T cells and activation of innate immunity [J]. *J Immunol*, 2006, 177: 2810-8.
- [32] CUNNINGHAM A F, KHAN M, BALL J, et al. Responses to the soluble *Flagellar* protein *FliC* are Th2, while those to *FliC* on salmonella are Th1 [J]. *Eur J Immunol*, 2004, 34(11): 2986-95.
- [33] ATIF S M, UEMATSU S, AKIRA S, et al. CD103 CD11b⁺ dendritic cells regulate the sensitivity of CD4⁺ T cell responses to bacterial flagellin [J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7: 68-77.

- [34] NGUYEN C T, HONG S H, SIN J I, et al. *Flagellin* enhances tumor-specific CD8⁺ T cell immune responses through TLR5 stimulation in a therapeutic cancer vaccine model [J]. *Vaccine*, 2013, 31(37): 3879-87.
- [35] MARTINON F, BURNS K, TSCHOPP J R. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta [J]. *Mol Cell*, 2002, 102: 417-26.
- [36] BERGSBAKEN T, FINK S L, COOKSON B T. Pyroptosis: host cell death and inflammation [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7: 99-109.
- [37] FRANCHI L, AMER A O, BODY-MALAPEL M, et al. Cytosolic *Flagellin* requires Ipaf for activation of caspase-1 and interleukin 1 β in salmonella-infected macrophages [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7: 576-82.
- [38] MIAO E A, ALPUCHE-ARANDA C M, DORS M, et al. Cytoplasmic *Flagellin* activates caspase-1 and secretion of interleukin 1 β via Ipaf [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7: 569-75.
- [39] REN T, ZAMBONI D S, ROY C R, et al. *Flagellin*-deficient legionella mutants evade caspase-1- and NAIP5-mediated macrophage immunity [J]. *PLoS Pathogens*, 2006, 2(3): e18.
- [40] LIGHTFIELD K L, PERSSON J L, BRUBAKER S W, et al. Critical function for NAIP5 in inflammasome activation by a conserved carboxy-terminal domain of *Flagellin* [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9: 1171-8.
- [41] LIGHTFIELD K L, PERSSON J L, TRINIDAD N J, et al. Differential requirements for NAIP5 in Activation of the NLRC4 inflammasome [J]. *Infect Immun*, 2011, 79: 1606-14.
- [42] VIJAY-KUMAR M, CARVALHO F A, AITKEN J D, et al. TLR5 or NLRC4 is necessary and sufficient for promotion of humoral immunity by flagellin [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(12): 3528-34.
- [43] ELINAV E, HENAO-MEJIA J, FLAVELL R A. Integrative inflammasome activity in the regulation of intestinal mucosal immune responses [J]. *Mucosal Immunol*, 2013, 6: 4-13.
- [44] SANDERS C J, FRANCHI L, YAROVINSKY F, et al. Induction of adaptive immunity by *Flagellin* does not require robust activation of innate immunity [J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39: 359-71.
- [45] LÓPEZ-YGLESÍAS A H, ZHAO X, QUARLES E, et al. *Flagellin* induces antibody responses through a TLR5- and inflammasome-independent pathway [J]. *J Immunol*, 2014, 192: 1587-96.
- [46] HU B, ELINAV E, HUBER S, et al. Inflammation-induced tumorigenesis in the colon is regulated by caspase-1 and NLRC4 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(50): 21635-40.
- [47] PARSONNET J, FRIEDMAN G D, VANDERSTEEN D P, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 1991, 325(16): 1127-31.
- [48] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [49] SMITH M F, MITCHELL A, LI G, et al. Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR5, but not TLR4, are required for *Helicobacter pylori*-induced NF κ B activation and chemokine expression by epithelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(35): 32552-60.
- [50] TREJO-DE LA O A, TORRES J, SÁNCHEZ-ZAUCO N A, et al. Polymorphisms in TLR9 but not in TLR5 increase the risk for duodenal ulcer and alter cytokine expression in the gastric mucosa [J]. *Innate Immunity*, 2015, 21: 706-13.
- [51] XU T, FU D Q, REN Y, et al. Genetic variations of *TLR5* gene interacted with *Helicobacter pylori* infection among carcinogenesis of gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 31016-22.
- [52] SWANN J B, VESELY M D, SILVA A, et al. Demonstration of inflammation-induced cancer and cancer immunoeediting during primary tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 652-6.
- [53] RHEE S H, IM E, POTHOUKAKIS C. Toll-like receptor 5 engagement modulates tumor development and growth in a mouse xenograft model of human colon cancer [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(2): 518-28.
- [54] KLIMOSCH S N, FÖRSTI A, ECKERT J K, et al. Functional *TLR5* genetic variants affect human colorectal cancer survival [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(24): 7232-42.
- [55] KASURINEN A, HAGSTRÖM J, LAITINEN A, et al. Evaluation of Toll-like receptors as prognostic biomarkers in gastric cancer: high tissue TLR5 predicts a better outcome [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12553.
- [56] BEILMANN-LEHTONEN I, HAGSTRÖM J, MUSTONEN H, et al. High tissue TLR5 expression predicts better outcomes in colorectal cancer patients [J]. *Oncology*, 2021, 99: 589-600.
- [57] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2010 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.
- [58] CANCER GENOME ATLAS N. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours [J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 61-70.
- [59] CAI Z, SANCHEZ A, SHI Z, et al. Activation of Toll-like receptor 5 on breast cancer cells by flagellin suppresses cell proliferation and tumor growth [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(7): 2466-75.
- [60] BRACKETT C M, KOJOUHAROV B, VEITH J M, et al. Toll-like receptor-5 agonist, entolimod, suppresses metastasis and induces immunity by stimulating an NK-dendritic-CD8⁺ T-cell axis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E874-83.
- [61] SHI D, ZHAO S, JIANG W, et al. TLR5: a prognostic and monitoring indicator for triple-negative breast cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12): 954.
- [62] JIANG W, HAN Y, LIANG T, et al. Down-regulation of Toll-like receptor 5 (TLR5) increased VEGFR expression in triple negative breast cancer (TNBC) based on radionuclide imaging [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 708047.
- [63] NICHOLS A C, PALMA D A, DHALIWAL S S, et al. The epidemic of human papillomavirus and oropharyngeal cancer in a Canadian population [J]. *Current Oncol*, 2013, 20(4): 212-9.
- [64] KYLMÄ A K, TOLVANEN T A, CARPÉN T, ET al. Elevated TLR5 expression *in vivo* and loss of NF κ B activation via TLR5 *in vitro* detected in HPV-negative oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 114: 104435.
- [65] HAEGGBLOM L, NÄSMAN A, RAMQVIST T, et al. TLR5 and TLR7 are differentially expressed in human papillomavirus-positive and negative base of tongue squamous cell carcinoma, and TLR7 may have an independent prognostic influence [J]. *Acta Oto-Laryngologica*, 2019, 139: 206-10.
- [66] RUBINSTEIN N, ALVAREZ M J, ZWIRNER N W, et al. Targeted inhibition of *Galectin-1* gene expression in tumor cells results in heightened T cell-mediated rejection; a potential mechanism of tumor-immune privilege [J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(3): 241-51.
- [67] RABINOVICH G A, CROCI D O. Regulatory circuits mediated by lectin-glycan interactions in autoimmunity and cancer [J]. *Im-*

- munity, 2012, 36(3): 322-35.
- [68] WASELENKO J K, MACVITTIE T J, BLAKELY W F, et al. Medical management of the acute radiation syndrome: recommendations of the strategic national stockpile radiation working group [J]. *Ann Int Med*, 2004, 140: 1037-51.
- [69] WANG Y, MENG A, LANG H, et al. Activation of nuclear factor B *in vivo* selectively protects the murine small intestine against ionizing radiation-induced damage [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 6240-6.
- [70] GUROVA K V, HILL J E, GUO C, et al. Small molecules that reactivate p53 in renal cell carcinoma reveal a NF-kappaB-dependent mechanism of p53 suppression in tumors [J]. *Proc Natl Acade Sci USA*, 2005, 102(48): 17448-53.
- [71] BURDELYA L G, KRIVOKRYSENKO V I, TALLANT T C, et al. An agonist of Toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models [J]. *Science*, 2008, 320: 226-30.
- [72] LAI L, YANG G, YAO X, et al. NLRC4 mutation in *Flagellin*-derived peptide CBLB502 ligand-binding domain reduces the inflammatory response but not radioprotective activity [J]. *J Rad Res*, 2019, 60: 780-5.
- [73] PORTILLO A L, HOGG R T, POZNANSKI S M, et al. Expanded human NK cells armed with CAR uncouple potent anti-tumor activity from off-tumor toxicity against solid tumors [J]. *iScience*, 2021, 24(6): 102619.
- [74] XIANG X. Inducible secreting TLR5 agonist CBLB502 enhances antitumor activity of CAR133-NK92 cells for colorectal cancer [J]. *Research Square*, 2022.
- [75] CUI B, LIU X, FANG Y Z, et al. *Flagellin* as a vaccine adjuvant [J]. *Exp Rev Vaccines*, 2018, 17: 335-49.
- [76] METT V, KOMAROVA E A, GREENE K, et al. Mobilan: a recombinant adenovirus carrying Toll-like receptor 5 self-activating cassette for cancer immunotherapy [J]. *Oncogene*, 2018, 37(4): 439-49.
- [77] PANDA A K. Induction of anti-tumor immunity and T-cell responses using nanodelivery systems engrafting TLR-5 ligand [J]. *Exp Rev Vaccines*, 2011, 10: 155-7.

勘误声明

发表在《中国细胞生物学报》2022年第44卷第7期《间充质干细胞移植治疗心肌梗死的研究现状及优化策略》一文中,第1424页中原作者单位序号标注有误,现更正如下。中文单位为:²河北省心脏与代谢重点实验室,石家庄 050030;³河北省结构性心脏病国际联合研究中心,石家庄 050030;⁴河北医科大学第一医院细胞治疗实验室,石家庄 050030。英文单位为:²*Key Laboratory, Hebei Provincial Cardiology and Metabolism, Shijiazhuang 050030, China*;³*International Joint Research Center, Hebei Provincial Structural heart disease, Shijiazhuang 050030, China*;⁴*Cell Therapy Laboratory, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050030, China*。特此更正并诚挚地向读者致歉!