

Toll 样受体 4 与心血管疾病的研究进展

吴亚希 综述 杨丽霞 审校

(成都军区昆明总医院心内科, 云南 昆明 650032)

【摘要】 Toll 样受体是一类表达于细胞膜上的受体家族,在先天性免疫和获得性免疫系统中,起到识别微生物的作用。Toll 样受体 4 是最早发现的 Toll 样受体,在调节免疫应答、促进免疫细胞成熟分化和参与促炎因子反应中,都起到了重要作用。越来越多的研究证实,Toll 样受体 4 作为先天性免疫的一个重要介质参与了心血管疾病的发生、发展。现主要对 Toll 样受体 4 在心血管疾病中的研究进展做一综述。

【关键词】 Toll 样受体 4;心血管疾病;炎症反应

【中图分类号】 R54

【文献标志码】 A

【DOI】 10. 16806/j. cnki. issn. 1004-3934. 2016. 01. 015

Research Progress of Relationship Between Toll-like Receptor 4 and Cardiovascular Disease

WU Yaxi, YANG Lixia

(*Department of Cardiology, Kunming General Hospital of Chengdu Military Area, Kunming 650032, Yunnan, China*)

【Abstract】 Toll-like receptors (TLRs), a receptor family that express on the cell membrane, relates to the immune system that recognizes microorganisms and plays a highly important role in the activation of the innate and acquired immune system. As the first discovered TLRs, TLR4 participate in pro-inflammatory response, promote the immune cells maturity and regulate the immune response. A growing body of research suggests that TLR4 is an important medium of the innate immune is involved in the occurrence and development of cardiovascular disease. This article reviews the current research on the relationship between TLR4 and cardiovascular disease.

【Key words】 Toll-like receptors; Toll-like receptor 4; Cardiovascular disease

作者简介:吴亚希(1990—),在读硕士,主要从事动脉粥样硬化研究。Email: wuyaxi015@163.com

通信作者:杨丽霞, Email: doctorlixia@aliyun.com

近年来,心血管疾病已成为威胁人类健康的主要疾病之一,其发病率及病死率呈现不断上升的趋势。越来越多的研究表明,炎症反应在心血管疾病的发生发展中起重要作用^[1]。而 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)能促进细胞因子的合成与释放,引发炎症反应^[2]。Toll 样受体 4 (TLR4)是 TLRs 家族的一员,其在识别脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)及介导的炎症反应信号转导中起到了重要作用。TLR4 在部分心血管疾病发生发展过程中起到的作用也成为了当前的研究热点。

1 TLRs 家族

TLRs 是一类病原分子识别受体,最早于 1996 年在研究果蝇胚胎发育过程中发现,称为 dToll。至今,在人体中已至少有 11 种 TLRs 被发现,统称为 TLRs 家族,并分别命名为 TLR1 ~ 10、14^[3]。

1.1 TLRs 的结构、分布及其配体

TLRs 为 I 型跨膜蛋白受体,其组成为三个区,分别为胞内区、胞外区和跨膜区。胞外区结构由 19 ~ 25 个富含亮氨酸的重复序列(leucine-rich repeat, LRR)XLXXLXX(X 代表任何氨基酸, L 为亮氨酸)组成,每个 LRR 含 24 ~ 29 个氨基酸,为 β 折叠-环- α 螺旋的结构,形成一个马蹄形的结构,其作用是识别不同的病原分子^[4];胞内区与白介素-1(interleukin-1, IL-1)受体相似,故称之为 Toll/IL-1 同源受体区(Toll/IL-1 receptor homologous region, TIR),约为 200 个氨基酸大小,含 3 个保守盒,在信号传导中起到重要作用^[5]。

TLRs 分布十分广泛,但具有细胞分布特异性,如 TLR1 普遍表达于各类免疫细胞;TLR2、4、5 的分布则是除 B、T 和 NK 细胞以外的免疫细胞;TLR3 只特异分布于树突细胞^[6]。而对于分布位置,TLR1、2、4、5、6 均分布于细胞表面,而 TLR3、7、8、9 则位于细胞内。

TLRs 配体根据其来源可分为:外源性配体和内源性配体^[7]。外源性配体的来源主要是病原微生物,而内源性配体的来源则是宿主细胞,当机体应激时或组织损伤时释放。

1.2 TLRs 的信号转导通路

TLRs 识别配体后,可通过一系列的跨膜信号传导,传递至胞内的接头分子——髓样分化因子 88(MyD88)、MyD88 接头样蛋白(Mal)、TLRs 相关的干

扰素活化因子(TRIF)和 TLRs 相关的分子。TLRs 信号传导通路依据是否包含 MyD88,可分为 MyD88 依赖性和非 MyD88 依赖性两种信号传导途径^[5]。其中,TLR1、2、6、7 和 9 介导的信号传导途径为前者,而 TLR3 介导的信号传导途径只有非 MyD88 依赖性通路,TLR4 则两者均有^[8]。

2 TLR4

TLR4 是人类发现的第一个 TLRs^[9],是介导 LPS 应答的最主要受体,因其作为先天性免疫的一个重要介质参与了炎症反应、自身免疫、心血管疾病、肿瘤的发生和发展,获得了越来越多的关注。

2.1 TLR4 的结构、分布和配体

作为 TLRs 家族中的一员,TLR4 也同样分为三个部分:胞外区由 24 个 LRR 组成,能够特异识别病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs);胞内区存在一段序列保守区,称为 TIR 区,与 IL-1 受体的胞内区具有同源性^[9],这一序列保守区是 TLR4 与下游信号调节分子相互作用的关键部位,在信号转导通路中发挥了重要作用。

TLR4 广泛分布于各类与免疫相关的各类细胞,如单核巨噬细胞、粒细胞、树突细胞、淋巴细胞等,以骨髓单核细胞的表达尤其多。此外,还分布与人体内其他组织细胞,如肝脏的 Kupffer 细胞、肝细胞、肝星状细胞,胰腺的巨噬细胞、腺泡细胞核胰腺形状细胞等^[10]。

TLR4 结合的配体依据来源分为外源性配体和内源性配体。TLR4 的主要外源性配体为 LPS,其与 LPS 结合蛋白结合后,两者继续与 CD14 相互作用,由 CD14 将 LPS 转运并锁定在由 TLR4 和髓样分化蛋白-2 构成的受体复合物^[11]。研究表明,LPS 与髓样分化蛋白-2 结合后,TLR4 细胞外 LRR 介导了 TLR4 的聚合,进一步诱导 TLR4 的信号传导^[5]。这一过程又被称为 TLR4 信号传导通路细胞外传递。除 LPS 等外源性配体外,TLR4 还可识别多种内源性配体,如透明质酸、纤维蛋白素原、热休克蛋白等^[12]。

2.2 TLR4 的信号转导

TLR4 识别配体后,可以通过 MyD88 依赖性信号转导通路和 MyD88 非依赖性信号转导通路,介导核因子- κ B(nuclear factor-kappaB, NF- κ B)活化和致炎细胞因子产生。

2.2.1 MyD88 依赖性信号转导通路

在此信号通路中, MyD88 起到关键作用, 其 C 端有一个 TIR 结构域, 而 N 端具有一个与肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)胞内区相关的死亡结构域(DD)^[13]。MyD88 分别通过 TIR 结构域与 TLR4、DD 结构域与 IL-1 受体相关激酶(IL-1R-associated kinases, IRAKs)发生关联, 除此之外, TLR4 招募 MyD88 后, 两者通过 DD 结构域和 TIR 形成同源二聚体。由此可知, MyD88 的功能是连接 TLR4 及其下游信号分子的转接蛋白^[14]。活化的 MyD88 可被 IRAKs 磷酸化, 进一步激活 TNFR 相关因子 6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)。活化后的 TRAF6 通过转化生长因子- β 活化激酶(TGF- β activated kinase, TAK1)与 I- κ B 激酶(I- κ B kinase, IKK)信号级联, 使 NF- κ B 的抑制蛋白(inhibitor of NF- κ B, I- κ B)磷酸化而降解, 进一步使转录因子 NF- κ B 迁移至细胞核内, 引起炎症相关基因如肿瘤坏死因子- α 及 IL-1、6、8、12 等的转录^[15]。

2.2.2 MyD88 非依赖性信号转导通路

TLR4 激活的 MyD88 非依赖性信号通路被称为 TRIF 依赖性信号通路^[16]。不同于 MyD88 依赖性信号通路, TLR4 通过 TRIF 相关的接头分子进行间接招募 TRIF, 后者通过 TNFR 相关因子 3(TNF receptor-associated factor 3, TRAF3)激活干扰素调节因子 3 的磷酸化同时诱导其核异位, 激活后的干扰素调节因子 3 继续诱导 1 型干扰素的表达, 进而促使各型干扰素的基因表达; 在另一方面, TRIF 结合 TRAF6 与受体相互作用蛋白 1(receptor-interacting protein-1, RIP1), 进一步激活 TAK1, 通过与 MyD88 依赖途径类似的途径激活 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶信号通路, 最终同样促使炎症细胞因子的产生和释放, 引起炎症反应^[17]。

3 TLR4 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一类炎症性疾病, 由于血液中高浓度的低密度脂蛋白对血管内膜进行攻击, 导致内皮细胞损伤, 激发一系列的炎症反应, 从而形成粥样斑块, 导致动脉硬化^[18]。炎症反应是影响斑块稳定性的重要机制。越来越多的证据证明, TLR4 在动脉粥样硬化中作为先天性免疫的一个重要介质而参与其中。TLR4 通过激活 NF- κ B 信号通路及相关促炎蛋白, 促进了炎症反应, 最终导致斑块的不稳定性。人类动脉粥样硬化斑块表面高度表达 TLR1、TLR2、TLR4 及激

活的 NF- κ B, TLRs 表达水平的增加引起细胞激活和促炎症级联反应的激活^[19]。在 Michelsen 等^[20]研究中, 发现了 TLRs 的 MyD88 依赖性信号通路在动脉粥样斑块的形成过程中扮演了重要角色, 敲除 MyD88 基因的载脂蛋白 E(apolipoprotein E, apoE)敲除小鼠, 尽管其仍有高胆固醇血症, 但其血管内斑块体积缩小、脂质含量减少, 同时, 趋化因子、前炎症因子和致炎基因的表达均明显减少。除此之外, 他们还证明了敲除 TLR4 基因后, apoE 小鼠体内斑块体积、斑块脂质含量以及斑块中巨噬细胞的浸润也同样减少。Chávez-Sánchez 等^[21]发现在巨噬细胞经氧化性低密度脂蛋白诱导, 分化为泡沫细胞的这一过程中, TLR4 和 CD36 发挥了关键作用, 有助于泡沫细胞分化。Cole 等^[22]在动物模型研究中指出, 轻度修饰的低密度脂蛋白作为可激活 TLR4 信号途径的内源性配体, 是一种强烈诱导剂, 可使趋化因子和促炎因子分泌更加旺盛, 进而促进动脉粥样硬化, 加速病变的发展。Lu 等^[23]研究通过使用 TLR4 拮抗剂球形红杆菌 LPS 作用于糖尿病 apoE 缺陷小鼠和非糖尿病 apoE 缺陷小鼠, 发现 TLR4 拮抗剂可以抑制糖尿病 apoE 缺陷小鼠血管炎症及动脉粥样硬化进展, 同时可降低非糖尿病 apoE 缺陷小鼠血清胆固醇及三酰甘油水平。在 Yonekawa 等^[24]的研究中发现, TLR4 在破裂斑块中的含量远高于外周血, 并且在单核细胞浸润的过程中起到了重要作用。Katsargyris 等^[25]学者对服用了他汀类降脂药物的患者其体内的颈动脉粥样斑块进行检测, 发现未服药患者体内 TLR4 的表达水平明显高于服药患者, 进而得出粥样斑块的稳定性可能与 TLR4 表达量相关的结论。这些都说明了 TLRs 不仅可以调控对动脉粥样硬化斑块发展过程, 而且还可以对其危险因素产生影响。

4 TLR4 与高血压

有研究显示, 高血压是一种低度炎症性疾病, 而 TLR4 在高血压的发生、发展过程中也发挥了至关重要的作用^[1, 26]。肾素-血管紧张素-醛固酮系统 in 高血压的发病机制中起着重要作用, 而血管紧张素 II(angiotensin, Ang II)是主要的作用因子, Ang II 本身不仅是一种促炎症介质, 还可作为一种内在的氧化剂, 促使氧化应激的发生。Ji 等^[27]发现 Ang II 的促炎症反应作用是通过 TLR4, 经由 AT1/ERK1/2/TLR4/IP-10/PKC/NF- κ B 信号通路介导的。Eissler 等^[26]研究学者

采用 WKY 大鼠,用 NG-硝基-左旋精氨酸甲酯诱导其产生高血压后,发现诱导后的 WKY 大鼠其心脏组织中的 TLR4 表达量明显升高。同样,在 Bomfim 等^[28]的研究中发现,用美国维斯塔尔(Wistar)大鼠和自发性高血压大鼠(SHR)进行对比,发现,SHR 大鼠其血压升高及炎症反应的产生原因均与 TLR4 有关,抑制 TLR4 后,可在一定程度上降低血压,减轻炎症反应。卢文等^[29]研究显示,高血压肾损害和单纯高血压患者外周静脉血中单核细胞和中性粒细胞 TLR4 表达升高,由此推测,在 Ang II 的作用下使 TLR4 高表达,可以加强单核细胞的吞噬功能和中性粒细胞的趋化,促进高血压炎症反应。陈思等^[30]研究结果表明高血压患者 TLR4 阳性率显著高于正常人群,以上都表明了 TLR4 与高血压病的发生发展有关。

5 展望

综上所述,TLR4 作为一个重要的炎性受体,越来越多的证据表明其与心血管疾病的发生发展密切相关。随着对 TLR4 研究的深入,其在心血管疾病的预防、诊断、治疗等临床应用将会有良好的应用前景,其是否可以成为心血管疾病新的治疗靶点,值得研究者们做进一步的探究。

【参考文献】

- [1] Badr K, Wainwright CL. Inflammation in the cardiovascular system; here, there and everywhere[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2004, 4(2): 107-109.
- [2] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 783-801.
- [3] Lin Y, Verma A, Hodgkinson CP. Toll-like receptors and human disease; lessons from single nucleotide polymorphisms[J]. *Curr Genomics*, 2012, 13(8): 633-645.
- [4] Wang Y, Ge P, Zhu Y. TLR2 and TLR4 in the brain injury caused by cerebral ischemia and reperfusion[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 124614.
- [5] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(7): 499-511.
- [6] Muzio M, Bosio D, Polentarutti N, et al. Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes; selective expression of TLR3 in dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2000, 164(11): 5998-6004.
- [7] Cole JE, Georgiou E, Monaco C. The expression and functions of toll-like receptors in atherosclerosis[J]. *Mediators Inflamm*, 2010, 2010: 393946.
- [8] Yamamoto M, Akira S. Mechanisms of innate immune responses mediated by Toll-like receptors[J]. *Clin Appl Immunol Rev*, 2005, 5(3): 167-183.
- [9] Park BS, Lee J. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes[J]. *Exp Mol Med*, 2013, 45: e66. doi: 10.1038/emmm.2013.97.
- [10] 朱杰, 朴荣利, 高润平. TLR4 信号传导通路与胰腺炎[J]. *世界华人消化杂志*, 2012, (4): 271-275.
- [11] Pålsson-McDermott EM, O'Neill LA. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4[J]. *Immunology*, 2004, 113(2): 153-162.
- [12] Lucas K, Maes M. Role of the Toll like receptor (TLR) radical cycle in chronic inflammation: possible treatments targeting the TLR4 pathway[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 48(1): 190-204.
- [13] Liu N, Montgomery RR, Barthold SW, et al. Myeloid differentiation antigen 88 deficiency impairs pathogen clearance but does not alter inflammation in *Borrelia burgdorferi*-infected mice[J]. *Infect Immun*, 2004, 72(6): 3195-3203.
- [14] Downes CE, Crack PJ. Neural injury following stroke: are Toll-like receptors the link between the immune system and the CNS? [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(8): 1872-1888.
- [15] Wang Y, Lin S, Yang Q. Toll-like receptors in cerebral ischemic inflammatory injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8(134): 554-561.
- [16] Hoebe K, Du X, Georgel P, et al. Identification of Lps2 as a key transducer of MyD88-independent TIR signalling[J]. *Nature*, 2003, 424(6950): 743-748.
- [17] Wu D, Lee YG, Liu H, et al. Identification of TLR downstream pathways in stroke patients[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(12): 1058-1064.
- [18] Tuttolomondo A, di Raimondo D, Pecoraro R, et al. Atherosclerosis as an inflammatory disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(28): 4266-4288.
- [19] Chang ZL. Important aspects of Toll-like receptors, ligands and their signaling pathways[J]. *Inflamm Res*, 2010, 59(10): 791-808.
- [20] Michelsen KS, Wong MH, Shah PK, et al. Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(29): 10679-10684.
- [21] Chávez-Sánchez L, Garza-Reyes MG, Espinosa-Luna JE, et al. The role of TLR2, TLR4 and CD36 in macrophage activation and foam cell formation in response to oxLDL in humans[J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(4): 322-329.
- [22] Cole JE, Mitra AT, Monaco C. Treating atherosclerosis: the potential of Toll-like receptors as therapeutic targets[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010, 8(11): 1619-1635.
- [23] Lu Z, Zhang X, Li Y, et al. TLR4 antagonist reduces early-stage atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-deficient mice[J]. *J Endocrinol*, 2013, 216(1): 61-71.
- [24] Yonekawa K, Neidhart M, Altmegg LA, et al. Myeloid related proteins activate Toll-like receptor 4 in human acute coronary syndromes[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 218(2): 486-492.
- [25] Katsargyris A, Klonaris C, Tsioudras S, et al. Statin treatment is associated with reduced toll-like receptor 4 immunohistochemical expression on carotid atherosclerotic plaques; a novel effect of statins[J]. *Vascular*, 2011, 19(6): 320-326.
- [26] Eissler R, Schmaderer C, Rusai K, et al. Hypertension augments cardiac Toll-like receptor 4 expression and activity[J]. *Hypertens Res*, 2011, 34(5): 551-558.
- [27] Ji Y, Liu J, Wang Z, et al. Angiotensin II induces inflammatory response partly via toll-like receptor 4-dependent signaling pathway in vascular smooth muscle cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2009, 23(4-6): 265-276.
- [28] Bomfim GF, Dos Santos RA, Oliveira MA, et al. Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2012, 122(11): 535-543.
- [29] 卢文, 刘淑华, 赵志明, 等. 高血压患者 TLR4 和胱抑素 C 的水平变化及作用[J]. *临床肾脏病杂志*, 2013, 13(11): 500-505.
- [30] 陈思, 周忠, 景胜. 高血压病患者外周血 Toll 样受体 4 及细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4 的表达及临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2014, 30(22): 3601-3603.

收稿日期: 2015-07-08 修回日期: 2015-10-27