

# Toll 样受体与心肌缺血再灌注损伤及其保护作用研究进展

张馨月 涂荣会

(广西医科大学第一附属医院心内科, 广西 南宁 530021)

**【摘要】**早期及时的再灌注是治疗心肌缺血的关键,然而随之带来的心律失常及心脏功能障碍等,直接影响患者的预后。缺血预处理和缺血后处理是目前最强的两种心肌内源性保护方法,在缺血性心肌保护中受到广泛关注。研究显示 Toll 样受体信号通路在心肌缺血再灌注损伤缺血预处理和缺血后处理心脏保护方面起着重要调控作用。现就 Toll 样受体与心脏缺血再灌注损伤及其保护作用的研究进展予以综述。

**【关键词】**Toll 样受体;心肌缺血再灌注损伤;缺血预处理;缺血后处理

**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.02.018

## Protective Effects of Toll-like Receptors on Myocardial Ischemia-reperfusion Injury

ZHANG Xinyue, TU Ronghui

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

**【Abstract】**Early and timely reperfusion is the key to the treatment of myocardial ischemia, but the following arrhythmia and cardiac dysfunction, directly affect the prognosis of patients. Ischemic preconditioning and ischemic postconditioning are currently the two strongest methods of endogenous protection of the myocardium, which have drawn extensive attention. Researches showed that the Toll-like receptor signaling pathway played an important regulatory role in myocardial ischemia-reperfusion injury as well as ischemic preconditioning and postconditioning. This article reviews current researches on the protective effects of Toll-like receptors on myocardial ischemia-reperfusion injury.

**【Key words】**Toll-like receptor; Myocardial ischemia-reperfusion injury; Ischemic preconditioning; Ischemic postconditioning

急性心肌梗死是全世界死亡及致残的主要原因之一。冠状动脉再灌注,即闭塞血管的迅速开放和冠状动脉血流的快速恢复,仍然是缺血损伤后挽救心肌的主要治疗方法。然而,突然恢复冠状动脉血流将会导致更为严重和致命的缺血再灌注损伤。如今,心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)及其保护作用仍然是十分热门的研究主题。随着近年来研究的深入,人们发现 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)信号转导通路介导的先天免疫和炎症反应在加重心肌缺血的损伤中起关键作用<sup>[1-2]</sup>。现就 TLRs 与 MIRI 及其保护作用的关系综述如下。

### 1 TLRs 概述

#### 1.1 TLRs 结构、分布、配体及功能

TLRs 是参与天然免疫反应的一类重要蛋白质分子,为微生物感染宿主的第一道防线。目前已经证实

TLRs 可在多种类型的细胞中表达,包括免疫细胞如单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞,以及非免疫细胞如血管内皮细胞、上皮细胞、平滑肌细胞和心肌细胞。TLRs 属于 I 型跨膜信号转导受体,是由胞外区、跨膜区以及胞浆区构成,细胞外区域富含亮氨酸的重复结构,能够识别并结合病原微生物及其产物;胞浆区结构域与白介素(IL)-1 受体家族高度同源,称为 Toll/IL-1 受体(TIR)结构域,其与信号转导通路的活化相关。

TLRs 属于模式识别受体家族,可识别外源性病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)和内源性损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)。TLRs 与外源性配体 PAMPs 或内源性配体 DAMPs 结合后,通过一系列信号转导机制,诱导炎症因子如 IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) $\alpha$  和细胞间黏附分

子-1 等表达,介导机体免疫应答与组织损伤<sup>[3]</sup>。

## 1.2 TLRs 的信号转导机制

根据接头蛋白的不同,TLRs 结合的配体信号通过髓样分化初级应答蛋白 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性和 MyD88 非依赖性两种不同途径进行信号转导。

除 TLR3 外,其余所有 TLRs 均可被 MyD88 蛋白启动并依赖 MyD88 途径进行信号转导<sup>[4]</sup>,而 TIR 结构域含适配器蛋白是连接 TLR1、TLR2、TLR4、TLR6 与 MyD88 蛋白的桥梁。TLRs 活化后,其胞浆区 TIR 与 MyD88 蛋白羧基端结合,后者氨基端再与 IL-1 受体相关激酶(IL-1 receptor associated kinase, IRAK)4 结合,同时激活 IRAK1; IRAK1 磷酸化后结合 TNF 受体相关因子 6 并介导后者发生磷酸化;之后从受体解离并与转化生长因子激酶 1 形成复合物,进而激活丝裂原活化蛋白激酶和核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号级联途径,促进下游 IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的释放,引起组织损伤<sup>[5]</sup>。

MyD88 非依赖途径由 TIR 结构域包含适配器诱导干扰素  $\beta$  (TRIF) 蛋白启动参与信号转导通路。TLR3 可直接募集 TRIF,而 TLR4 则需通过 TRIF 相关适配分子介导才能募集 TRIF。TLR3 和 TLR4 与 TRIF 相互作用后激活 TNF 受体相关因子 3,促进干扰素调节因子 3 磷酸化并诱导 I 型干扰素和炎症因子的产生<sup>[6]</sup>。

## 2 TLRs 与 MIRI

尽早开通闭塞血管进而恢复心脏血供即再灌注疗法是改善心肌缺血的关键,然而随之带来的再灌注心律失常、心肌细胞坏死及心脏功能障碍等心肌损伤较缺血期更为严重与致命,直接影响患者的预后,此即 MIRI。MIRI 涉及多种复杂机制,包括氧化应激、免疫炎症反应及白细胞浸润等。其中,TLRs 激活及其介导的免疫炎症反应在 MIRI 中的重要作用日益受到关注。

实验研究显示心肌缺血再灌注过程中,损伤心肌细胞释放大量 DAMPs,其与心肌细胞表达的 TLRs 结合,诱导心脏局部炎症反应并进一步加重心肌损伤。其中,TLR2 和 TLR4 作为许多 DAMPs 的靶点,与 MIRI 密切相关。Selejan 等<sup>[7]</sup>研究发现早期经皮冠脉介入术的急性心肌梗死患者单核细胞中 TLR2 上调,促炎因子如 IL-6、TNF- $\alpha$  等表达增加,心肌梗死面积增大,证实 TLR2 介导了 MIRI。在再灌注前 5 min 应用新型 TLR2 单克隆抗体,检测出小鼠循环系统和心肌组织中巨噬细胞、T 淋巴细胞及中性粒细胞显著减少, MIRI 明显减轻<sup>[8]</sup>。Han 等<sup>[9]</sup>研究发现心肌梗死大鼠心肌肌钙蛋白 I 表达增加,再灌注后心肌肌钙蛋白 I 诱导 TLR4-NF- $\kappa$ B 通路活化,大鼠血液和心肌中炎症

标志物显著增加,心肌梗死面积明显增大。对缺血再灌注大鼠应用槲皮素,发现 TLR4-NF- $\kappa$ B 通路显著抑制,心肌坏死标志物和各种炎症因子均明显减少,心脏结构和功能的完整性改善, MIRI 减轻<sup>[10]</sup>。同样, TLR4 基因缺陷小鼠心肌缺血再灌注模型显示 TLR4 表达受到抑制,小鼠心肌细胞释放 IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子明显减少,心肌梗死面积显著缩小;同时信号转导机制发现 MyD88 通路介导的 NF- $\kappa$ B 途径活化显著降低,揭示 TLR4-MyD88-NF- $\kappa$ B 信号通路参与了 MIRI<sup>[11]</sup>。近年来发现除 TLR2 和 TLR4 外, TLR3 在 MIRI 中也发挥着重要作用。TLR3 基因缺陷小鼠再灌注后, TLR3-MyD88 非依赖途径明显抑制,心肌细胞凋亡减少,心室重构改善<sup>[12]</sup>。Li 等<sup>[13]</sup>研究还发现小鼠心肌缺血再灌注后, TLR9-MyD88 信号转导途径激活并介导炎症细胞因子和趋化因子增加,进而中性粒细胞等炎症细胞大量迁移至心肌,加重 MIRI。总之, TLRs 信号通路在 MIRI 中发挥重要作用,积极干预 TLRs 信号通路对减轻 MIRI、保护心脏结构与功能具有重要意义。

## 3 TLRs 与心脏缺血再灌注损伤保护机制

### 3.1 TLRs 与心脏缺血预处理

1986 年 Murry 等在狗长时间心脏缺血前对其冠状动脉进行 4 次 5 min 缺血再灌注循环发现狗的心肌梗死面积显著减少,首次提出了缺血预处理。随后,大量研究证实预处理可激活机体的内源性保护机制,产生多种内源性保护物质,有效减轻 MIRI。目前缺血预处理在临床上广泛应用于微创冠状动脉旁路移植术、心脏瓣膜置换术和心脏移植术等。大量动物实验发现 TLRs 信号通路在缺血预处理心脏保护中起重要调控作用。

应用 TLR2 激动剂 Pam3CSK4 预处理再灌注小鼠,发现小鼠心肌细胞趋化因子释放及白细胞浸润减少,心肌梗死面积减小,心室重塑改善<sup>[14]</sup>。同样,再灌注前 1 h 应用 TLR2 配体肽聚糖预处理小鼠,小鼠心脏炎症介质释放显著减少,细胞凋亡显著减轻<sup>[15]</sup>。Arslan 等<sup>[16]</sup>在再灌注前 15 min 对猪静脉注射人源化抗 TLR2 抗体 OPN-305,猪心脏功能明显改善,进一步证实 TLR2 与缺血预处理心脏保护密切相关。Tang 等<sup>[17]</sup>在缺血前应用银杏叶提取物 EGB761 预处理大鼠,发现再灌注大鼠心脏氧化应激反应降低, TLR4-NF- $\kappa$ B 信号通路及随后的炎症级联反应抑制, MIRI 减轻。而应用右美托咪定预处理再灌注大鼠,大鼠心肌坏死标志物乳酸脱氢酶和肌酸激酶显著降低,心肌炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等释放减少,心功能明显改善;进一步研究显示该心脏保护作用与 TLR4-NF- $\kappa$ B 信号通路抑制显著相关<sup>[18]</sup>。此外,研究<sup>[19]</sup>还发现用 TLR7 拮抗剂预处理再灌注小鼠,可有效抑制 TLR7-MyD88 信

号转导通路,抑制细胞因子产生和心肌炎症反应,减小心肌梗死面积。近期,Zhou 等<sup>[20]</sup>在缺血前 2h 对小鼠腹腔注射 TLR9 激动剂 CpG-寡脱氧核苷酸,小鼠梗死心肌的血管生成显著增加,左室射血分数改善,心肌细胞凋亡减少。同时,远程缺血预处理也可通过对远离心脏的部位进行短暂缺血来激活心脏的自我保护机制,减轻缺血再灌注损伤。Pilz 等<sup>[21]</sup>远程缺血预处理再灌注大鼠后发现,TLR4 及各种炎症因子抑制激活,从而减轻大鼠不良的心室重塑,并保留绝大多数左心室的功能。总之,TLRs 信号通路与缺血预处理心脏保护密切相关,对 TLRs 信号通路进行积极干预对缺血预处理临床应用具有重要意义。

### 3.2 TLRs 与心脏缺血后处理

由于缺血事件的不可预测性,缺血预处理临床应用相对受限,2003 年 Zhao 在缺血预处理的基础上提出了缺血后处理,即心肌长时间缺血后再灌注前经过短暂、反复的缺血再灌注处理,进而诱导机体产生内源性保护机制,有效减轻 MIRI。由于具有事后性,缺血后处理临床应用前景更广泛,尤其是对急性心肌梗死患者。TLRs 是否介导缺血后处理心脏保护作用目前少有研究报道。中国学者 Zhang 等<sup>[22]</sup>应用益气活血中药联合缺血后处理,发现大鼠心脏 TLR2 和 TLR4 表达下调,炎症因子和心肌坏死标志物释放减少,心肌梗死面积显著减小,心室重塑改善。Zhang 等<sup>[23]</sup>研究显示七氟醚后处理再灌注大鼠,TLR4-MyD88-NF- $\kappa$ B 信号转导通路明显抑制,IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的产生显著减少,心肌细胞凋亡减少,MIRI 减轻。此外,Kim 等<sup>[24]</sup>在小鼠心脏缺血再灌注前 5 min 腹腔注射 TLR9 配体 CpG-寡脱氧核苷酸,小鼠心脏细胞因子释放明显减少,心肌梗死面积显著减小,心功能改善;而应用磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)特异性抑制剂渥曼青霉素则取消了上述作用,显示 TLR9-PI3K 信号通路介导了缺血后处理心脏保护。课题组近期研究也显示缺血后处理显著下调全身及心脏局部 TLR2、TLR4 及下游 NF- $\kappa$ B 信号转导通路的表达,抑制炎症因子 IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  和细胞间黏附分子-1 的产生,有效减轻 MIRI,具体机制有待进一步研究。

### 4 总结与展望

国内外对 TLRs 的研究已长达数十年,已经证明其在 MIRI 中扮演重要角色,它们通过激活下游 NF- $\kappa$ B、PI3K 等信号通路,促进炎症因子释放,从而介导心肌细胞损伤。通过对缺血预处理及后处理抗 MIRI 的免疫机制的深入研究,探讨针对 TLRs 信号通路可能的作用靶点,对临床上改善急性心肌梗死患者的心肌存活及长期预后具有十分重要的意义。需要指出的是心肌发生缺血再灌注时,适量的 TLRs 及其介导的炎

症因子也参与心肌组织积极的自我修复过程,因此过度抑制 TLRs 也可能影响预后效果。

### 参考文献

- [1] Yuan L, Dai X, Fu H, et al. Vaspin protects rats against myocardial ischemia/reperfusion injury (MIRI) through the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 835: 132-139.
- [2] Guo X, Jiang H, Yang J, et al. Radioprotective 105 kDa protein attenuates ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis and autophagy by inhibiting the activation of the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway in rats[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(3): 885-893.
- [3] Li M, Liu J, Bi Y, et al. Potential medications or compounds acting on Toll-like receptors in cerebral ischemia[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2017, 16(2): 160-175.
- [4] Wang PF, Xiong XY, Chen J, et al. Function and mechanism of Toll-like receptors in cerebral ischemic tolerance: from preconditioning to treatment[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12(1): 80.
- [5] Wada J, Makino H. Innate immunity in diabetes and diabetic nephropathy[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(1): 13-26.
- [6] Cui J, Chen Y, Wang HY, et al. Mechanisms and pathways of innate immune activation and regulation in health and cancer[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, 10(11): 3270-3285.
- [7] Selejan S, Poss J, Walter F, et al. Ischaemia-induced up-regulation of Toll-like receptor 2 in circulating monocytes in cardiogenic shock[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(9): 1085-1094.
- [8] Fatih A, Smeets MB, O'Neill LAJ, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury is mediated by leukocytic Toll-like receptor-2 and reduced by systemic administration of a novel anti-Toll-like receptor-2 antibody[J]. *Circulation*, 2010, 121(1): 80-90.
- [9] Han Y, Liao X, Gao Z, et al. Cardiac troponin I exacerbates myocardial ischemia/reperfusion injury by inducing the adhesion of monocytes to vascular endothelial cells via a TLR4/NF- $\kappa$ B-dependent pathway[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(24): 2279-2293.
- [10] Dong LY, Chen F, Xu M, et al. Quercetin attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury via downregulation of the HMGB1-TLR4-NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(5): 1273-1283.
- [11] Chen H, Zhang RQ, Wei XG, et al. Mechanism of TLR4/NF- $\kappa$ B pathway in myocardial ischemia reperfusion injury of mouse[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(5): 503-507.
- [12] Chen C, Feng Y, Zou L, et al. Role of Extracellular RNA and TLR3-Trif Signaling in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury[J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(1): e000683.
- [13] Li W, Hsiao HM, Higashikubo R, et al. Heart-resident CCR2+ macrophages promote neutrophil extravasation through TLR9/MyD88/CXCL5 signaling[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(12): e87315.
- [14] Mersmann J, Berkels R, Zacharowski P, et al. Preconditioning by Toll-like receptor 2 agonist Pam3CSK4 reduces CXCL1-dependent leukocyte recruitment in murine myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Crit Care Med*, 2010, 38(3): 903-909.
- [15] Ha T, Hu Y, Liu L, et al. TLR2 ligands induce cardioprotection against ischemia/reperfusion injury through a PI3K/Akt-dependent mechanism[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87(4): 694-703.
- [16] Arslan F, Houtgraaf JH, Keogh B, et al. Treatment with OPN-305, a humanized anti-Toll-like receptor-2 antibody, reduces myocardial ischemia/reperfusion injury in pigs[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2012, 5(2): 279-287.
- [17] Tang Y, Zhou G, Yao L, et al. Protective effect of Ginkgo biloba leaves extract, EGB761, on myocardium injury in ischemia reperfusion rats via regulation of TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86671-86680.
- [18] Yang YF, Peng K, Liu H, et al. Dexmedetomidine preconditioning for myocar-

- dial protection in ischaemia-reperfusion injury in rats by downregulation of the high mobility group box 1-Toll-like receptor 4-nuclear factor  $\kappa$ B signalling pathway[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2017, 44(3): 353-361.
- [19] Feng Y, Chen H, Cai J, et al. Cardiac RNA induces inflammatory responses in cardiomyocytes and immune cells via Toll-like receptor 7 signaling[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(44): 26688-26698.
- [20] Zhou DC, Su YH, Jiang FQ, et al. CpG oligodeoxynucleotide preconditioning improves cardiac function after myocardial infarction via modulation of energy metabolism and angiogenesis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 4245-4257.
- [21] Pilz PM, Hamza O, Gidlöf O, et al. Remote ischemic preconditioning attenuates adverse cardiac remodeling and preserves left ventricular function in a rat model of reperfused myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 285: 72-79.
- [22] Zhang DW, Zhang L, Liu JG, et al. Mechanisms of Chinese herbs combined with ischemic preconditioning in protecting myocardium of rats from ischemia-reperfusion injury[J]. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 2010, 8(5): 465-471.
- [23] Zhang J, Zhang J, Yu P, et al. Remote ischemic preconditioning and sevoflurane preconditioning synergistically protect rats from myocardial injury induced by ischemia and reperfusion partly via inhibition TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(1): 22-32.
- [24] Kim SC, Wu S, Fang X, et al. Postconditioning with a CpG containing Oligodeoxynucleotide ameliorates myocardial infarction in a murine closed-chest model[J]. *Life Sci*, 2014, 119(1-2): 1-8.

收稿日期:2019-07-18

## Nrf2 与心血管系统疾病的相关性研究

王茂<sup>1</sup> 王光英<sup>1</sup> 王迪<sup>1</sup> 魏玲<sup>1,2</sup>

(1. 昆明医科大学研究生部, 云南 昆明 650000; 2. 联勤保障部队第九二〇医院地方干部病房, 云南 昆明 650032)

**【摘要】**核因子 E2 相关因子 2(Nrf2) 属于碱性亮氨酸转录家族成员, 是抵抗细胞氧化应激的重要转录因子。Nrf2 参与众多生理过程, Nrf2 及下游靶基因的激活不仅能调控细胞氧化应激, 还参与炎症反应和细胞自噬的调节。研究显示, Nrf2 在心血管系统疾病的发生发展中发挥着重要作用。现就 Nrf2 与心血管系统疾病的相关性研究做一综述。

**【关键词】**Nrf2; 血管老化; 心血管系统疾病

**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.02.019

## Correlation Between Nrf2 and Cardiovascular Diseases

WANG Mao<sup>1</sup>, WANG Guangying<sup>1</sup>, WANG Di<sup>1</sup>, WEI Ling<sup>1,2</sup>(1. *Kunming Medical University Graduate School, Kunming 650000, Yunnan, China*; 2. *Civil Cadres' Ward, The 920th Hospital of Joint Logistics Support Force, Kunming 650032, Yunnan, China*)

**【Abstract】** Nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) is a member of the basic leucine transcript family and is an important transcription factor against cellular oxidative stress. Nrf2 is involved in many pathophysiological processes. The activation of Nrf2 and downstream target genes can not only regulate cellular oxidative stress, but also participate in the regulation of inflammatory response and autophagy. Studies have shown that Nrf2 plays an important role in the development of cardiovascular diseases. This article reviews the relationship between Nrf2 and cardiovascular diseases.

**【Key words】** Nrf2; Vascular aging; Cardiovascular disease

心血管系统疾病是当今社会死亡率和致残率较高的疾病之一。目前, 心血管病死亡占城乡居民总死亡原因的首位, 农村为 45.50%, 城市为 43.16%<sup>[1]</sup>。城市化、社会老龄化以及居民不健康的生活习惯等因素导致心血管危险因素逐渐增多。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 被认为是机体抵抗氧化应激的关键调控因子,

Nrf2 不仅参与内皮功能障碍、血管钙化、高血压、糖尿病心肌病和动脉粥样硬化等心血管系统疾病的病理生理基础, 也在血管及心脏保护中发挥着重要作用<sup>[2]</sup>。现将近年来 Nrf2 与心血管系统疾病的相关性研究做一综述。

### 1 Nrf2 概述

Nrf2 属于 CNC 转录因子家族成员, 含有亮氨酸拉