·综述·

Toll样受体4与动脉粥样硬化

刘 兰 范建高

摘要:近年来慢性炎性反应与动脉粥样硬化之间的联系逐渐受到重视,而复杂的炎性反应也对动脉粥样硬化定向有效的治疗提出了挑战。目前体内外研究认为,Toll样受体(TLR)途径介导的免疫反应参与动脉粥样硬化的发生和发展,TLR4途径的激动剂和拮抗剂的使用可能成为未来动脉粥样硬化治疗的新靶点。

关键词:Toll样受体;动脉粥样硬化;代谢性疾病

动脉粥样硬化(AS)的形成与脂质浸润和血管内皮受损以及血管持续慢性炎性反应有关。各种致病因子如低密度脂蛋白(LDL)、炎性因子等可导致血管内皮损伤并加重血管炎。越来越多的证据提示Toll样受体介导的免疫反应参与血管复杂的炎性反应过程,炎性细胞如T细胞和巨噬细胞在疾病中起重要作用。

1 Toll样受体4概述

Toll样受体(TLR)最早发现于果蝇,哺乳动物中存在同源性。TLR是一类Ⅰ型跨膜蛋白,包括细胞外的氨基末端、细胞内的羧基末端结构域。细胞外结构域包含丰富的亮氨酸重复序列,可能参与配体的结合;细胞内结构域类似于白细胞介素1(IL-1)受体的胞内结构域,该保守区域称为Toll/IL-1受体结构域。TLR4通过髓样分化蛋白2(myeloid differentiation protein-2,MD2;伴随TLR4合成并分泌在细胞表面的小分子蛋白)的物理作用锚定在细胞膜上。目前哺乳动物中已分离出12个TLR家族成员,不同成员识别不同的病原相关分子特征,TLR4主要识别革兰阴性菌的脂多糖(LPS,外源性配体)、热休克蛋白家族(HSP,内源性配体)以及细胞纤维连接蛋白的胞外域A(EDA)。

TLR4通常在宿主参与一线先天免疫反应的细胞中表达,如中性粒细胞、巨噬细胞等。此外,TLR4也在B细胞和T细胞等其他类型细胞中表达,参与更复杂的获得性免疫。与AS有关的TLR4的表达如下。

内皮细胞:TLR4在正常血管壁内皮细胞表达甚微。Edfeldt等[1]发现TLR4在人类AS疾病的内皮细胞中表达显著增高。此外,内皮细胞中TLR4尚可通过CD14和MD2识别轻度修饰型低密度脂蛋白(MM-LDL)并诱导IL-8的分泌,从而在血管炎的发生发展中起作用[2]。

血管平滑肌细胞(VSMC):VSMC存在于人类动脉中膜,调节血管厚度。在细胞因子的影响下,VSMC迁移至内膜下,表型发生改变,从而参与新内膜的形成,对于动脉重建起重要作用。多个研究证实在AS血管壁的中膜平滑肌中TLR4的表达上调,参与AS时平滑肌的增殖[3-4]。

外膜的成纤维细胞:目前在动物实验中证实外膜成纤维细胞参与内膜疾病的形成且与TLR4的表达有关。Vink等[5]发现在人类冠状动脉外膜中成纤维细胞TLR4的表达,且在小鼠模型中证实,LPS刺激外膜成纤维细胞后TLR4表达上调,并诱导多种细胞因子的表达。

树突状细胞(DC):正常动脉中很少见DC,而在AS疾病中大量聚集。Spirig等[6]认为TLR4途径可诱导DC细胞表型和功能的成熟。

巨噬细胞:巨噬细胞的凋亡对动脉粥样斑块坏死核心的形成十分重要,体内外试验均显示AS时TLR4表达增高,巨噬细胞的凋亡可能与TLR4途径的活化有关[7]。

2 TLR4在动脉粥样硬化中的作用

近年来大量临床和流行病学研究显示先天免疫防卫机制可能介导了促炎途径并导致动脉粥样斑块的进展,而TLR4途径在AS和对抗外源性致病原及内源性炎性配体的防卫反应之间的作用得到肯定。

2.1 TLR4在动脉粥样硬化形成中的作用

Michelsen等[8]发现在高胆固醇血症ApoE(-/-)小鼠动脉粥样斑块大小、脂质含量以及巨噬细胞浸润显著降低,可能与TLR4的遗传缺陷有关。Shinohara等[9]利用Ⅰ型副流感病毒为载体在高胆固醇饮食家兔的颈动脉血管壁转染人TLR4 cDNA,显

作者单位:200080 上海交通大学附属上海市第一人民医院脂肪肝诊治中心(刘兰);200092 上海交通大学附属新华医院消化内科(范建高)

万方数据

示 TLR4 的转染显著促进了 AS，并诱导了血管细胞黏附分子 1、细胞内黏附分子 1、单核细胞趋化蛋白 1(MCP1)的表达，且在体内血管壁及体外血管平滑肌中均激活了 NF-κB。Harrington 等[10]发现 TLR4 的缺失导致了内皮对乙酰胆碱反应的不稳定，强调 TLR4 对维持血管内皮功能稳态也起一定的作用。

血管壁中巨噬细胞分化为泡沫细胞是 AS 形成的早期标志。MM-LDL 的结合可促进巨噬细胞对于氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)的摄取，从而促进泡沫细胞的形成。而在人和小鼠中的研究发现，只有表达 CD14 的单核细胞可结合 MM-LDL，而 CD14 是 TLR 活化的早期信号分子，因此，CD14/TLR4 在泡沫细胞的形成中发挥重要作用[11]。此外，Kazemi 等[12]通过 LPS 刺激小鼠巨噬细胞，发现 TLR4 的活化诱导了其脂肪细胞脂肪酸结合蛋白 2 的表达，并伴随细胞内三酰甘油和胆固醇水平的增加，促进巨噬细胞向泡沫细胞分化。Castrillo 等[13]也证实 TLR4 可通过阻断巨噬细胞和动脉组织中肝 X 受体途径而抑制巨噬细胞中胆固醇的外流，从而促进斑块的发生。

2.2 TLR4 参与动脉粥样硬化中血管重建

血管重建在 AS 中起决定性作用，是 AS 中腔收缩的重要决定因素。重建后的再狭窄进一步阻碍了粥样硬化动脉的收缩。最近证实 TLR4 参与血管重建。在套囊诱导的新内膜形成的小鼠模型中，炎性反应诱导新内膜增厚伴随向外血管重建见于野生型小鼠，而未见于 TLR4 缺失的小鼠；而且，在野生型小鼠结扎颈动脉模型中，发现 TLR4 参与血管向外重建而对侧动脉无新内膜的形成，且与 TLR4 的表达和内源性 EDA 和 HSP60 mRNA 水平有关，而在 TLR4 缺陷的小鼠中结扎颈动脉未见血管向外重建。因此推测，TLR4 参与血管向外重建，可能是通过上调 TLR4 及其配体来实现的[14]。de Kleijn 等[15]通过刺激小鼠胚源性成纤维细胞后增加了细胞迁移，提示 TLR4 在成纤维细胞迁移及其参与新内膜形成中的重要作用。高迁移率族蛋白 1(HMGB1)近来被认为是促炎细胞因子并参与血管形成，而 TLR2 和 TLR4 信号途径可能参与 HMGB1 对血管形成和炎性反应持续的级联放大作用[16]。

此外，基质金属蛋白酶(MMP)诱导了蛋白酶活性，并在动脉重建中起重要作用。体外研究显示，TLR2 和 TLR4 共同诱导了在人类冠状动脉外膜层活化状态的单核细胞和肥大细胞中 MMP9 的分泌[17]。因此，TLR4 结合后 MMP 的生成可能是动脉重建和 TLR4 的另一联系。

3 TLR4 在动脉粥样硬化相关代谢性疾病中的作用

非酒精性脂肪性肝炎(NASH)：多个临床和实验研究证实 NASH 时不仅伴有肝脏的炎性反应，同时也伴随全身低度炎性反应。其中内毒素作为第二次打击参与了 NASH 的发病。内毒素作为 TLR4 配体，激活库普弗细胞，从而诱导肝脏合成 IL-6、TNF-α 等炎性因子的释放，参与 NASH 肝脏炎性反应的发生，并可能部分诱导了全身低度炎性反应的发生[18-19]。

肥胖：Vitseva 等[20]在 16 例肥胖患者中活检皮下腹部脂肪，发现 TLR4 在各型 TLR(1、2、7、8)中表达最高，且与脂联素表达一致；细胞培养中，LPS 刺激的 TLR4 的表达与 NF-κB p65 核转运体和促炎因子释放有关，提示肥胖时脂肪的堆积可能通过 TLR4/ NF-κB 途径动态调节局部炎性反应和先天免疫反应。这提示肥胖时脂肪组织存在的慢性炎性反应与 AS 间可能的联系。

糖尿病：2 型糖尿病由于其循环指标升高而被认为是一种促炎性反应状态。Reyna 等[21]在 14 例 2 型糖尿病患者肌肉活检时发现其 TLR4 mRNA 及蛋白水平较对照组显著升高，可能参与了人类胰岛素抵抗的发生。而另一项病例对照研究中，TLR4 基因变异可增加 2 型糖尿病的发病风险[22]。

4 结语

目前与 TLR 途径相关的发现使免疫防卫机制与证实的斑块发展和稳定的病原决定物之间的关系引起了重视。TLR4 途径介导的先天免疫反应在内源性炎性物质致 AS 中的作用和机制是当前的研究热点，而对 TLR4 信号途径的调节也可能在未来成为 AS 治疗的“Toll 门户”。但是，TLR4 活化的炎性反应的来源究竟在何处？各种局部炎性反应状态如 NASH，腹型肥胖等是否可作为活化 TLR4 途径的炎性反应大本营而促进 AS 的发展？TLR4 信号途径使慢性炎性状态在代谢性疾病中的角色变得复杂。

参 考 文 献

1 Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, et al. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. Circulation, 2002, 105: 1158-1161.

万方数据

2 Walton KA, Hsieh X, Gharavi N, et al. Receptors involved in the oxidized 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine-mediated synthesis of interleukin-8. A role for Toll-like receptor 4 and a glycosylphosphatidylinositol-anchored protein. J Biol Chem, 2003, 278: 29661-29666.
3 Li H, He Y, Zhang J, et al. Lipopolysaccharide regulates Toll-like receptor 4 expression in human aortic smooth muscle cells. Cell Biol Int, 2007, 31: 831-835.
4 Sukkar MB, Xie S, Khorasani NM, et al. Toll-like receptor 2, 3, and 4 expression and function in human airway smooth muscle. J Allergy Clin Immunol, 2006, 118: 641-648.
5 Vink A, Schoneveld AH, van der Meer JJ, et al. In vivo evidence for a role of Toll-like receptor 4 in the development of intimal lesions. Circulation, 2002, 106: 1985-1990.
6 Spirig R, van Kooten C, Obregon C, et al. The complement inhibitor low molecular weight dextran sulfate prevents TLR4-induced phenotypic and functional maturation of human dendritic cells. J Immunol, 2008, 181: 878-890.
7 Lim WS, Timmins JM, Seimon TA, et al. Signal transducer and activator of transcription-1 is critical for apoptosis in macrophages subjected to endoplasmic reticulum stress in vitro and in advanced atherosclerotic lesions in vivo. Circulation, 2008, 117: 940-951.
8 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. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 10679-10684.
9 Shinohara M, Hirata K, Yamashita T, et al. Local overexpression of Toll-like receptors at the vessel wall induces atherosclerotic lesion formation: synergism of TLR2 and TLR4. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27: 2384-2391.
10 Harrington LS, Belcher E, Moreno L, et al. Homeostatic role of Toll-like receptor 4 in the endothelium and heart. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2007, 12: 322-326.
11 Shashkin P, Dragulev B, Ley K. Macrophage differentiation to foam cells. Curr Pharm Des, 2005, 11: 3061-3072.
12 Kazemi MR, McDonald CM, Shigenaga JK, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein expression and lipid accumulation are increased during activation of murine macrophages by Toll-like receptor agonists. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25: 1220-1224.
13 Castrillo A, Joseph SB, Vaidya SA, et al. Crosstalk between LXR and Toll-like receptor signaling mediates bacterial and viral antagonism of cholesterol metabolism. Mol Cell, 2003, 12: 805-816.
14 Hollestelle SC, De Vries MR, Van Keulen JK, et al. Toll-like receptor 4 is involved in outward arterial remodeling. Circulation, 2004, 109: 393-398.
15 de Kleijn DP, Smeets MB, Kemmeren PP, et al. Acute-phase protein haptoglobin is a cell migration factor involved in arterial restructuring. FASEB J, 2002, 16: 1123-1125.
16 van Beijnum JR, Buurman WA, Griffioen AW. Convergence and amplification of Toll-like receptor (TLR) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathways via high mobility group B1 (HMGB1). Angiogenesis, 2008, 11: 91-99.
17 Ikeda T, Funaba M. Altered function of murine mast cells in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan. Immunol Lett, 2003, 88: 21-26.
18 徐正婕, 范建高, 王兴鹏, 等. 非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏内毒素受体表达上调. 中华肝脏病杂志, 2006, 14: 49-52.
19 范建高. 脂肪肝促发代谢紊乱和动脉硬化的机制. 诊断学理论与实践, 2007, 6: 108- 110.
20 Vitseva OI, Tanriverdi K, Tchkonia TT, et al. Inducible Toll-like receptor and NF-κB regulatory pathway expression in human adipose tissue. Obesity (Silver Spring), 2008, 16: 932-937.
21 Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, et al. Elevated TLR4 expression and signaling in muscle from insulin resistant subjects. Diabetes, 2008, 57: 2595-2602.
22 Kolz M, Baumert J, Muller M, et al. Association between variations in the TLR4 gene and incident type 2 diabetes is modified by the ratio of total cholesterol to HDL-cholesterol. BMC Med Genet, 2008, 9:9.

(收稿日期:2008-09-11)
(本文编辑:周骏)

(上接第135页)

13 Noguchi H, Naomoto Y, Kondo H, et al. Evaluation of endoscopic mucosal resection for superficial esophageal carcinoma. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech, 2000, 10: 343-350.
14 Maish MS, DeMeester SR. Endoscopic mucosal resection as a staging technique to determine the depth of invasion of esophageal adenocarcinoma. Ann Thorac Surg, 2004, 78: 1777-1782.
15 Fujishiro M, Yahagi N, Kakushima N, et al. Endoscopic submucosal dissection of esophageal squamous cell neoplasms. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006, 4: 688-694.
16 Kakushima N, Yahagi N, Fujishiro M, et al. Efficacy and safety of endoscopic submucosal dissection for tumors of the esophagogastric junction. Endoscopy, 2006, 38: 170-174.
17 Yahagi N, Fujishiro M, Imagawa A, et al. Endoscopic submucosal dissection for the reliable en bloc resection of colorectal mucosal tumors. Dig Endosc, 2004, 16:S89-S92.
18 Yahagi N, Fujishiro M, Omata M, et al. Endoscopic submucosal dissection of colorectal lesion. Dig Endosc, 2004, 16: S178-S181.
19 Fujishiro M, Yahagi N, Nakamura M, et al. Endoscopic submucosal dissection for rectal epithelial neoplasia. Endoscopy, 2006, 38: 493-497.

(收稿日期:2008-09-19)
(本文编辑:周骏)

万方数据