

Toll 样受体 7 信号通路的研究进展

韩 宇 周 虎^(通讯作者)

郑州大学附属肿瘤医院 (河南省肿瘤医院), 河南 郑州 450008

摘要: Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是一类模式识别受体, 多表达于抗原提呈细胞, 在固有免疫和获得性免疫中发挥重要的作用。TLR 与配体结合后, TIR 结构域就会募集下游信号分子启动下游免疫反应。目前 TLR7 信号通路传导及其在抗病毒、抗肿瘤及自身免疫性疾病的研究非常广泛, 本文对 TLR7 信号传导通路及其作用进行总结。

关键词: TLR7; 信号通路; 血小板减少

Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是一类模式识别受体, 多表达于抗原提呈细胞, 在固有免疫和获得性免疫中发挥重要的作用。^[1]研究发现, TLR 是一类广泛存在于免疫细胞表面的I型跨膜糖蛋白, 胞外区富含亮氨酸重复序列 (LRR), 是识别和结合配体的区域; 胞内区称为 Toll/白细胞介素 1 受体结构域 (TIR)。TLR 与配体结合后, TIR 结构域就会募集下游信号分子启动下游免疫反应。在人类细胞中, 可检测到 11 个 TLRs 家族成员。^[2]TLR7 存在于 X 染色体上, 定位于巨噬细胞、B 淋巴细胞、浆细胞样树突状细胞、呼吸道神经细胞的内体表面, 在大脑、脾、肺等组织中广泛表达。TLR7 位于内质网膜内, 并能识别内体中富含肌/尿苷的单链 RNA (ssRNA), 触发下游信号通路。^[3]目前 TLR7 信号通路传导及其在抗病毒、抗肿瘤及自身免疫性疾病的研究非常广泛, 本文对 TLR7 信号传导通路及其作用进行总结。

1 MyD88 依赖途径

MyD88 是含有 296 个氨基酸的蛋白质, 含有 3 个结构域。C 端的 TIR 结构域能够和其他含 TIR 结构域的蛋白质相互作用; N 端的死亡结构域 (DD) 识别结合白介素-1 受体 (IL-1R) 相关激酶 (IRAK) 成员的 DD 结构域。而 IL-1R 的区域结构和 TLR7 的 TIR 区域家族高度同源。细胞在静息状态下, TLR7 位于内质网膜内, 当“外来物”入侵细胞时, TLR7 的 LRR 区域识别配体, 结合配体后, TIR 结构域发生改变。通过其 TIR 结构域招募 MyD88, MyD88 进一步激活 IRAK, 随后激活 TNF 受体相关因子 6 (TRAF6), 最终导致 NF- κ B 和 MAPK (如 JNK 和 p38) 的激活, 从而诱导炎症因子和 I 型干扰素的产生。^[4]

MyD88 是 TLR7 信号传导的关键适配蛋白, 通过其 TIR 结构域与 TLR7 结合, 启动下游信号传导。N4BP1 是一种泛素结合核糖核酸内切酶, 可以调节通过 MyD88 依赖途径信号传导的 TLR 受体如 TLR7 信号通路, 抑制炎症因子的产生, 限制 TLR7 激活后 NF- κ B 信号通路的过度激活。^[5]

在浆细胞样树突状细胞 (pDC) 内除了存在上述信号通路外, 还存在一条稳定诱导产生 I 型干扰素 α (IFN- α) 的信号通路, 该信号通路依赖 TLR7 激活后产生的 MyD88 和 IRF7 分子的调控。在肠道微生物调节免疫细胞和信号通路研究中, 发现 TLR7 激活后 pDC 分泌的 IL-12 能够驱动 1 型辅助 T (Th1) 细胞免疫反应, 分泌大量 IFN- γ , 激活吞噬细胞、抗原特异性细胞毒性 T 细胞等释放多种细胞因子, 启动抗病毒反应。^[6]因此, TLR7 在机体免疫反应、抗病毒、细胞信号调节的过程中也发挥着重要作用。

系统性红斑狼疮 (SLE) 一种好发于年轻女性, 以免疫耐受性下降、过度炎症反应和组织损伤为特征的自身免疫病。有研究发现, TLR7 的过度激活与 SLE 的发病密切相关。研究表明, TLR7 的功能获得性突变 (如 Y264H) 可增强其信号传导, 导致自身免疫反应的加剧。此外, MyD88 的缺失可以挽救 TLR7 介导的自身免疫表型。^[7] I 型干扰素 (IFNs) 是高效的细胞因子, 是机体自我保护免受肿瘤和感染的重要因素。研究发现一种小分子物质 IT1t, CXCR4 配体, 是 TLR7 介导的炎症的高效抑制剂。在 TLR7 依赖性狼疮样模型中, 用 IT1t 对小鼠进行体内治疗可显着减少全身炎症和抗双链 DNA 自身抗体, 并预防肾小球肾炎。^[8]

血细胞减少常见原因为免疫性疾病、血液系统肿瘤或者炎症性疾病等等。研究发现,慢性 TLR7 和 TLR9 信号激活可促使单核细胞分化为一种特殊的炎症性吞噬细胞 (iHPCs, inflammatory hematophagocytes)。这些细胞与脾红髓巨噬细胞相似,但是却能够特异地吞噬红细胞,导致贫血的发生。此外,这些细胞还参与血小板的吞噬,从而引发血小板减少症。该研究揭示了 TLR7 和 TLR9 信号通路在炎症诱导的贫血中的关键作用,如自身免疫性溶血性贫血等等。^[9]

Notch 信号通路在调控细胞进程、调节细胞命运方面起至关重要的作用,该通路高度依赖于上下游分子的调控,在不同的细胞环境中功能大相径庭。Notch 信号是造血、免疫细胞分化的关键调节因子之一,与多种自身免疫性疾病、肿瘤的发生和肿瘤诱导的免疫抑制有关。^[10]在骨髓细胞中,NOTCH 信号传导在巨噬细胞、树突细胞及粒细胞的发育中具有重要意义。^[11]单核细胞是免疫系统的重要组成部分,由单核细胞和巨噬细胞谱系以及相关的组织细胞组成。该系统的一个关键成分是经典单核细胞亚型的单核细胞,在小鼠中称为 Ly6C^{hi} 单核细胞。研究发现,Notch2 和 TLR7-MyD88 信号通路独立且协同地促进 Ly6C^{hi} 单核细胞向 Ly6C^{lo} 单核细胞的分化,TLR 信号激活导致全身促炎变化和血管炎症。^[12]

2 BCR 途径

TLR 信号促进了 B 细胞介导自身免疫性疾病的三个关键机制:抗体的产生、向 T 细胞递呈抗原、及细胞因子的产生。自身抗原通过中性粒细胞细胞内质网、坏死细胞和凋亡细胞释放出来。^[13]这些自身抗原可以在 B 细胞表面被 B 细胞受体 (BCR) 识别,从而启动它们的细胞内化。一旦进入内皮体,自身抗原就可以在 B 细胞中触发 TLR7。^[14]与 BCR 和 TLR7 结合的抗原可以诱导抗原特异性 B 细胞分化为 CD138^{hi} 抗体分泌细胞。^[13]

生发中心通路产生双阴性 B 细胞 DN1 亚群(DN1B 细胞;即 IgD⁻CD27⁻CXCR5⁺),生发中心产生的记忆 B 细胞可以重新进入生发中心分化为分泌抗体细胞,产生同型转换 anti-Smith 和 anti-RNP,生发中心的自发产生取决于 TLR7。^[14]TLR7 还驱动滤泡外途径,其中静息初始 B 细胞成为激活初始 B 细胞(CD11c⁺IgD⁺CD27⁻CD21⁻MTG⁺CD23⁻),随后产生 IgD⁻CD27⁻双阴性 B 细胞亚群 DN2B (IgD⁻CD27⁻CD11c⁺ Tbet⁺ CD69⁺ CD21⁻CD24⁻CD38⁻CXCR5⁻FCRL4⁻FCRL5⁺)。^[15]

糖皮质激素目前仍然是使用最广泛的免疫抑制和抗炎药物,但是对糖皮质激素介导的免疫调节理解不甚相同。研究者发起了糖皮质激素对 B 细胞功能的研究,研究结果发现糖皮质激素选择性损害上游 B 细胞受体和 TLR7 信号传导,降低三个免疫球蛋白位点的转录输出,并促进编码免疫调节细胞因子 IL-10 和末端分化因子 BLIMP-1 的基因显着上调,表明糖皮质激素将导致 TLR7 信号传导功能的缺陷。^[16]

3 肿瘤免疫治疗中的应用

癌症的生长和转移依赖于复杂的肿瘤微环境,其中神经系统与肿瘤细胞的相互作用被认为是一个关键因素,然而,感觉神经如何影响乳腺癌的转移一直未被充分研究。研究发现,乳腺癌细胞能够激活感觉神经元,使其分泌神经肽 P 物质 (Substance P, SP)。SP 通过与肿瘤细胞表面的 TACR1 受体结合,诱导肿瘤细胞凋亡。当肿瘤细胞凋亡时,它们会释放单链 RNA。这些 ssRNA 激活肿瘤细胞上的 TLR7,触发非典型信号通路,促进肿瘤细胞的增殖和转移。^[17]这项研究发现感觉神经通过分泌 SP 物质激活 TLR7 信号通路,促进乳腺癌的转移。

免疫检查点阻断 (ICB) 疗法已成为多种癌症的一线治疗手段,但是,仅部分患者对治疗有应答,部分应答时间不理想,部分因免疫相关不良反应中断治疗等。^[18]研究发现,肿瘤中组蛋白赖氨酸去甲基化酶 (KDM5A) 的高表达显著改善了小鼠癌症模型中对程序性细胞死亡蛋白 1 (PD-1) 抗体治疗的疗效。KDM5A 通过抑制 PTEN 基因的表达,激活 PI3K-AKT-S6K1 信号通路,从而增加程序性细胞死亡配体 1 (PD-L1) 的表达。除了 KDM5A 的作用,该研究还发现激活 Toll 样受体 7 和 8 (TLR7/8) 信号通路也能增强 ICB 的疗效。激活 TLR7/8 信号通路,增强 T 细胞的激活和扩增;通过联合使用一种能够增加 KDM5A 表达并激活 TLR7/8 的小分子化合物 D18,研究者三种小鼠癌症模型中观察到 ICB 治疗效果的显著提升。^[19]

肿瘤相关巨噬细胞 (Tumor-Associated Macrophages, TAMs) 在肿瘤微环境中发挥重要作用,它们可以分为抗肿瘤 M1 型和促肿瘤的 M2 型。^[20]M2 型 TAMs 通常与肿瘤进展和免疫抑制相关,因此,将 M2 型 TAMs 重编程为 M1 型是癌症免疫治疗的一个重要策略。^[21]有研究开发了一种基于葡聚糖的 TAM 靶向激活偶联物 (D-TAC) 技术。研究通过低分子量葡聚糖靶向高表达 CD206 的 M2 型巨噬细胞,通过递送 TLR7 激动剂 DSP-0509,激活这些巨噬

细胞并诱导其表型转变为抗肿瘤的 M1 型。实验结果显示,最佳候选药物 5DEX-0509R 的抗肿瘤效果依赖于 TAM 的丰度,且该药物能够快速从体内清除,产生显著的抗肿瘤活性。该研究为靶向 TLR 信号通路的临床适用型免疫疗法提供了新的可能性。^[22]

4 TLR-7 在脓毒血症期间介导血小板活化和血小板白细胞聚集体 (PLA) 形成

血小板减少症是败血症的常见并发症,与较高的死亡率有关。众所周知,血小板是凝血功能的多功能效应物,可定位和放大血管损伤部位的凝血反应。然而,越来越清楚的是,血小板也是炎症的关键介质,并表达先天免疫模式识别 Toll 样受体 (TLR),在败血症期间炎症介导的凝血病中发挥关键作用。活化的血小板表达 CD62P,促进血小板白细胞聚集体 (PLA) 的形成,并导致败血症中的血小板减少症。文献报道,小鼠败血症模型中的血小板减少症部分归因于 TLR7 信号传导。^[23]

小鼠循环血小板表达功能性 TLR7,影响败血症中血小板的活化。数据进一步证明了 TLR7 在细菌败血症期间通过介导血小板 CD62P 表达和 PLA 形成在血小板活化中的重要作用。用 TLR7 激动剂治疗以 TLR7 依赖性方式诱导 PLA 形成。此外,还进一步证明了 TLR-7 信号传导对激动治疗后血小板和 PLA 内 CD62P 表达的影响。CD41 或糖蛋白 (GP) IIb 在血小板表面组成性表达,而 CD62P 是一种储存在血小板 α 颗粒内的糖蛋白,只有在血小板活化时才转移到表面。然后,血小板 CD62P 通过 P-选择素糖蛋白配体-1 (PSGL-1) 促进血小板-白细胞的相互作用。它在用 TLR7 激动剂刺激后从 α 颗粒中释放,并进一步证明了它的功能。

越来越多的研究表明,TLR7 是具有强烈临床意义的标志物,可以预测患者的临床特征、预后、免疫治疗反应,不仅在自身免疫相关性疾病、抗病毒,而且在抗肿瘤领域有显著的作用。而关于 TLR7 的激动剂/抑制剂被用于研究治疗病毒感染、肿瘤相关模型,是重要的治疗靶点,其进展值得继续关注 and 期待。

参考文献:

[1]AB S. TLR7 Signaling in Lupus B Cells: New Insights into Synergizing Factors and Downstream Signals [J]. Curr Rheumatol Rep, 2021 Nov 24, 23(11): 80.

[2]Elloumi N F R, Abida O, Hachicha H, Marzouk S, Fourati M, Bahloul Z, Masmoudi H. RNA receptors, TLR3 and TLR7, are potentially associated with SLE clinical features [J].

Int J Immunogenet, 2021 Jun, 48(3).

[3]Wang Y Z S, Li H, et al. Small-Molecule Modulators of Toll-like Receptors. [J]. Acc Chem Res, 2020 May 19, 53(5).

[4]Owen AM L L, Burelbach KR, et al. MyD88-dependent signaling drives toll-like receptor-induced trained immunity in macrophages. [J]. Front Immunol, 2022 Nov 11, 13.

[5]Gitlin AD M A, Kanno Y, et al. N4BP1 coordinates ubiquitin-dependent crosstalk within the I κ B kinase family to limit Toll-like receptor signaling and inflammation [J]. Immunity, 2024 May 14, 57(5): 973–86.

[6]Winkler ES S S, Hykes BL Jr, et al. The Intestinal Microbiome Restricts Alphavirus Infection and Dissemination through a Bile Acid-Type I IFN Signaling Axis [J]. Cell, 2020 Aug 20, 182(4): 901–18.

[7]Brown G J, Cañete, P.F., Wang, H. et al. TLR7 gain-of-function genetic variation causes human lupus. [J]. Nature, 2022.

[8]Smith N R M, Bekaddour N, et al. Control of TLR7-mediated type I IFN signaling in pDCs through CXCR4 engagement—A new target for lupus treatment. [J]. Sci Adv, 2019 Jul 10, 5(7).

[9]Akilesh HM B M, Duggan JM, et al. Chronic TLR7 and TLR9 signaling drives anemia via differentiation of specialized hemophagocytes. [J]. Science, 2019 Jan 11, 363(6423).

[10]周春娥,栾梅.基于 Notch1 信号活化探讨胃癌细胞诱导肿瘤免疫逃逸机制研究[J].消化肿瘤杂志(电子版),2022 年 3 月,14 卷第 1 期.

[11]Zhou B L W, Long Y, et al. Notch signaling pathway: architecture, disease, and therapeutics. [J]. Signal Transduct Target Ther, 2022 Mar 24, 7(1).

[12]Gamrekelashvili J K T, Sablotny S, et al. Notch and TLR signaling coordinate monocyte cell fate and inflammation [J]. Elife, 2020 Jul 29, 9.

[13]Jenks SA C K, Zumaquero E, Marigorta UM, Patel AV, Wang X, Tomar D, Woodruff MC, Simon Z, Bugrovsky R, Blalock EL, Scharer CD, Tipton CM, Wei C, Lim SS, Petri M, Niewold TB, Anolik JH, Gibson G, Eun-Hyung Lee F, Boss JM, Lund FE, Sanz I. Distinct Effector B Cells Induced by Unregulated Toll-like Receptor 7 Contribute to Pathogenic Responses in Systemic Lupus Erythematosus [J]. Immunity, 2020 Jan 14, 52(1): 203.

- [14]Fillatreau S M B, Dörner T. Toll-like receptor signalling in B cells during systemic lupus erythematosus [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021 Feb, 17(2): 98–108.
- [15]Lino AC DV L V, Welle A, Joedicke J, Pohar J, Simon Q, Thalmensi J, Baures A, Flühler V, Sakwa I, Stervbo U, Ries S, Jouneau L, Boudinot P, Tsubata T, Adachi T, Hutloff A, Dörner T, Zimmer-Strobl U, de Vos AF, Dahlke K, Loh G, Korniotis S, Goosmann C, Weill JC, Reynaud CA, Kaufmann SHE, Walter J, Fillatreau S. LAG-3 Inhibitory Receptor Expression Identifies Immunosuppressive Natural Regulatory Plasma Cells [J]. *Immunity*, 2018 Jul 17, 49(1): 120–33.
- [16]Franco LM G M, Howe KN, et al. Immune regulation by glucocorticoids can be linked to cell type-dependent transcriptional responses. [J]. *J Exp Med*, 2019 Feb 4, 216(2): 384–406.
- [17]Malireddi RKS K T. Sensory nerves unlock the TOLL-7 gate for cancer spread [J]. *Trends Immunol*, 2024 Oct, 45(10): 732–4.
- [18]Topalian SL F P, Emens LA, et al. Neoadjuvant immune checkpoint blockade: A window of opportunity to advance cancer immunotherapy. [J]. *Cancer Cell*, 2023 Sep 11, 41(9): 1551–66.
- [19]Wang L G Y, Zhang G, et al. Enhancing KDM5A and TLR activity improves the response to immune checkpoint blockade. [J]. *Sci Transl Med*, 2020 Sep 9, 12(560).
- [20]刘怡辰向卉楠, 诸君, 等. 肿瘤相关巨噬细胞在肿瘤中作用的研究进展[J]. *肿瘤研究与临床*, 2021(33).
- [21]张丝雨, 周琼. 靶向肿瘤相关巨噬细胞在癌症免疫治疗中的研究进展[J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(11).
- [22]Ota Y I R, Takanashi Y, et al. Targeting Tumor-Associated Macrophages with the Immune-Activating Nanomedicine for Achieving Strong Antitumor Activity with Rapid Clearance from the Body. [J]. *ACS Nano*, 2024 Aug 27, 18(34): 23757–72.
- [23]Williams B Z J, Zou L, Chao W. Innate immune TLR7 signaling mediates platelet activation and platelet-leukocyte aggregate formation in murine bacterial sepsis [J]. *Platelets*, 2022 Nov 17, 33(8): 1251–9.
- 作者简介:** 韩宇 (1989–), 女, 汉族, 河南省开封市, 硕士, 郑州大学附属肿瘤医院 (河南省肿瘤医院), 主治医师, 血液系统疾病。
- 基金项目:** 国家自然科学基金, 项目编号: (82070120, 81370615, 81600097)。