

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.05.041

## Toll 样受体及其与莱姆关节炎发病关系的研究进展\*

王艳红<sup>1,2</sup>,冯 时<sup>1#</sup>,梁 张<sup>3</sup>,崔宇晖<sup>1</sup>综述,宝福凯<sup>1△</sup>,柳爱华<sup>4▲</sup>审校

(1. 昆明医科大学病原生物学与免疫学系/热带医学研究所,昆明 650500;2. 承德市中心医院体检科,河北承德 067000;3. 昆明医科大学科学技术处,昆明 650500;4. 昆明医科大学生物化学与分子生物学系,昆明 650500)

[关键词] 莱姆病;莱姆关节炎;Toll 样受体

[中图分类号] R514

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)05-0694-03

莱姆病(lyme disease)是一种人兽共患传染病,由伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)引起,通过蜱叮咬感染。莱姆关节炎在中晚期莱姆病中发生率最高,危害较大。莱姆病广泛分布于 70 多个国家和地区,每年约有 30 万人感染及发病<sup>[1-4]</sup>。莱姆病高发于美国东北部、中西部偏北地区,北欧及东亚部分地区同属高危地区<sup>[5]</sup>。1986 年由艾承绪等<sup>[6]</sup>首次报道我国黑龙江省海林县人群中存在莱姆病的发生。2003 年由贾月萍等<sup>[7]</sup>首次在黑龙江小兴安岭林区的全沟硬蜱肠道中分离出伯氏疏螺旋体,说明小兴安岭林区为莱姆病的自然疫源地,近来一项针对小兴安岭地区人群的血清流行病学调查证明该地区存在莱姆病感染<sup>[8]</sup>。目前,中国各省(除台湾外)均有莱姆病病例存在。由于对人身健康危害较严重,莱姆病已成为全球性卫生问题。因此,开展对莱姆病的研究及防治,有着重要的现实意义<sup>[9]</sup>。

Toll 样受体(toll-like receptor,TLR)是一种连接固有免疫与获得性免疫的重要模式识别受体(pattern recognition receptor,PRR)。TLR 是对病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns,PAMPs)和损伤相关分子模式(danger associated molecular patterns,DAMPs)具有识别功能的,进化上保守的 I 型跨膜糖蛋白,不仅在固有免疫中发挥重要作用,而且参与特异性免疫的启动和调控<sup>[10]</sup>。因此 TLR 在炎症性疾病的发生发展中具有重要的作用。本文就 Toll 样受体最新研究进展,及其与莱姆关节炎的发病关系进行综述。

## 1 莱姆关节炎

莱姆病临床表现分为早、中、晚三期。早期症状为皮肤出现慢性游走性红斑(erythema chronicum migrans,ECM);神经系统损害和心脏损害在中期出现,晚期以莱姆关节炎(Lyme arthritis)为主。莱姆关节炎在莱姆病晚期发生率最高,关节炎症状可见于 60% 的感染者<sup>[11]</sup>。莱姆关节炎在膝、肘、髌部位的大关节多发,表现为间断性单关节受累。一个或多个大关节疼痛、肿胀,症状反复发生并伴有软骨和骨组织的破坏,可进一步发展为慢性关节炎,关节滑液可用于血清学检查或聚合酶链反应以确诊莱姆关节炎<sup>[12]</sup>。与其他关节炎相比,腮腺淋巴结病和腮腺肌炎较常见于莱姆关节炎,关节囊周围软组织水肿则较少见<sup>[13]</sup>。

## 2 TLRs 研究概况

### 2.1 TLRs 的分类、分布与信号转导

哺乳动物天然免疫分子 TLR 的发现是源于对果蝇 Toll(dToll)蛋白的研究,Nomura

等<sup>[14]</sup>于 1994 年首次发现有一种与果蝇 Toll 蛋白相似的蛋白存在于哺乳动物中。TLRs 是 dToll 的同源蛋白,均属于 PRR,在识别和抵御各种病原微生物及其产物中发挥重要作用。目前已发现人 TLRs 有 10 种,分别命名为 TLR1~TLR10,而鼠有 12 种,分别命名为 TLR1~TLR9 和 TLR11~TLR13<sup>[15]</sup>。TLR 普遍表达于单核/巨噬细胞、B 细胞、T 细胞及树突状细胞,其中单核/巨噬细胞可表达除 TLR3 外的大部分 TLR<sup>[16]</sup>。人外周血 DC 包括髓样树突状细胞(myeloid dendritic cell,MDC)和浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell,PDC)两类。MDC 表达 TLR1、TLR2、TLR4、TLR5 和 TLR8,PDC 专职表达 TLR7 和 TLR9。在 DC 不同成熟阶段,表达不同的 TLR,其中 TLR1、TLR2、TLR4 和 TLR5 在未成熟的 DC 上表达,但在成熟 DC 上表达减少;而 TLR3 只在成熟 DC 上表达<sup>[17]</sup>。Toll/IL-1 受体同源区域(Toll/IL-1-receptor homologous region,TIR)是指 TLR 胞内区(羧基端),因其与白细胞介素-1 受体(interleukin-1 receptor,IL-1R)的胞内区结构相似而得名。TLR 的信号转导途径主要有 MyD88 依赖型途径和 MyD88 非依赖型途径两种<sup>[18]</sup>。MyD88 依赖型途径:活化的 TLR 胞内结构域与 MyD88 羧基端作用使髓样分化蛋白 88(myeloid differentiation factor 88,MyD88)活化;活化的 MyD88 诱导 IL-1 受体相关蛋白激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase,IRAK)磷酸化,从而使肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6,TRAF6)激活;活化的 TRAF6 激活 NF- $\kappa$ B,最终激活多种炎症细胞因子的转录。MyD88 非依赖型途径是指通过具有 TIR 结构域的转接蛋白(TIR domain containing adapter protein,TIRAP)或 MyD88 转接蛋白(MyD88-adaptor-like,Mal)激活 NF- $\kappa$ B 及有丝分裂原,进而激活蛋白激酶级联反应,最终启动相关基因表达<sup>[18-19]</sup>。

### 2.2 Toll 样受体的生物学功能

美国免疫学家 Ruslan 等<sup>[20]</sup>首次提出模式识别理论,病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern,PAMP)是固有免疫针对的主要靶分子信号,相对应的识别受体称为 PRR。PRR 家族主要分为 3 类:分泌型受体(包括补体和甘露糖结合凝集素等);内陷型受体(包括清道夫受体和巨噬细胞甘露糖受体等);第三类受体可介导复杂的细胞内信号通路,包括 TLR、NLRs(NOD-like receptor)、RLR(RIG-like receptor)等<sup>[21]</sup>。TLR 胞外区(氨基端)也称为外功能区,主要组成部分是 18~31 个富含亮氨酸的重复

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81060134,81371835);云南省自然基金资助项目(2010CD221,2011FB244,2012FB011,2013FZ057,2014FA011,2014FB001)。 作者简介:王艳红(1988-),在读硕士研究生,主要从事热带传染病和结核病的研究。 # 共同第一作者:冯时(1989-),在读硕士研究生,主要从事热带传染病的防治研究。 △ 通讯作者,Tel:13888369882;E-mail:baofukai@126.com。 ▲ 通讯作者,Tel:13529279792;E-mail:lunaliul23@yahoo.com.cn。

序列(leucine-rich repeat, LRR)<sup>[22]</sup>。不同的 TLR 的胞外区氨基酸组成的差异较大,决定了其所识别的配体具有特异性<sup>[15]</sup>。TLR 识别 PAMP 及是机体启动和扩大固有免疫的重要机制。TLR 是连接固有免疫和适应性免疫的主要桥梁,通过多种途径影响适应性免疫应答,具有对适应性免疫的识别和调控作用<sup>[19]</sup>。TLR 是微生物成分引起 DC 活化的桥梁;多数 TLR 活化后可以诱导抗微生物防御系统,产生炎性细胞因子和趋化因子,从而调节机体 Th1、Th2 细胞的分化和功能平衡;TLR 诱导调节性 T 细胞活化是其调控适应性免疫的另一重要途径<sup>[15]</sup>。

### 3 Toll 样受体与莱姆关节炎

固有免疫应答和特异性免疫应答均参与有关莱姆关节炎的发生过程。针对伯氏疏螺旋体基因组的生物信息学分析未发现其有明显的毒力因子,如内毒素、外毒素及致病性酶类等。进一步研究发现,伯氏疏螺旋体的主要致病物质为作用类似于脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的外膜表面脂蛋白(outer surface protein, Osp)<sup>[23-24]</sup>。TLR 在莱姆病固有免疫中发挥关键作用。研究表明,当机体感染伯氏疏螺旋体后,螺旋体的脂蛋白可激活 TLR2,引起巨噬细胞活化和白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等促炎细胞因子(pro-inflammatory cytokines)的释放。促炎细胞因子诱导中性粒细胞启动炎症过程。巨噬细胞具有对螺旋体抗原的加工、处理和提呈作用,可活化 CD4<sup>+</sup> T 细胞,使其发挥细胞免疫反应,进一步释放细胞因子,加重关节炎,并使其慢性化<sup>[24-25]</sup>。Dennis 等<sup>[26]</sup>用活的伯氏疏螺旋体体外刺激人单核细胞 THP-1 诱导产生炎性介质,用 RNAi 技术分别使 MyD88、TLR1 和 TLR2 基因表达减少,均可使炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-8 和 IL-6 减少,研究结果表明,伯氏疏螺旋体脂蛋白主要通过 TLR 信号通路刺激细胞产生炎性细胞因子。Liu 等<sup>[27]</sup>通过研究显示 MyD88 依赖型信号通路虽然不是伯氏疏螺旋体诱导炎性因子产生所必需的途径,但是吞噬细胞有效控制病原体所必需的途径。Oosting 等<sup>[28]</sup>通过在 TLR1 和 TLR6 基因缺陷小鼠腹腔巨噬细胞及分别使用特异 TLR1 和 TLR6 抗体封闭的人外周血单个核细胞接种伯氏疏螺旋体,检测由螺旋体诱导细胞产生的细胞因子。研究显示在伯氏疏螺旋体的刺激下 TLR1 和 TLR6 基因缺陷小鼠腹腔巨噬细胞均表现 Th1/Th2 细胞因子表达的失衡,使用特异 TLR1 抗体封闭的人外周血单个核细胞在螺旋体刺激下细胞因子的产生减少,而使用特异 TLR6 抗体封闭的人外周血单个核细胞细胞因子产生未受抑制,说明 TLR1/TLR2 异二聚体在对伯氏疏螺旋体的早期炎症反应中起重要作用。使用 TLR1/TLR2 异二聚体的合成配体和伯氏疏螺旋体,作为 TLR1/TLR2 受体的激活剂,Tanja 等<sup>[29]</sup>发现 TIR 基域接头分子(TRIF)可介导针对伯氏疏螺旋体的 TLR2 依赖的炎症反应。TLR2 利用 TRIF 的方式与其他 TLR 不同,而依赖于 MyD88 的存在。在小鼠感染伯氏疏螺旋体的模型上,TRIF 的缺失并不像 MyD88 的缺失会导致机体对感染控制的减弱,这可能与清道夫受体(scavenger receptor)(如 MARCO)参与 MyD88 介导吞噬作用有关。Tschorren 等<sup>[30]</sup>首次发现 TLR2 的多样性与野生啮齿动物种群螺旋体感染有关,携带有一个特异簇的 TLR2 单体型(TLR2c2)比其他单体型更易患病。近来研究表明,在单核细胞和巨噬细胞的胞内噬菌小室(phagosomal compartment)中,伯氏疏螺旋体被内化和降解,释放脂蛋白和包括 RNA 和肽聚糖等其他微生物产物<sup>[31]</sup>。这可能会在固有免疫细胞表面引发更广泛和复杂的炎症反应,TLR 家族中具有识别核酸功能的 TLR7、TLR8、TLR9 可能通过识别螺

旋体的 DNA 和 RNA,引发 I 型干扰素(Type I IFNs)的产生<sup>[32]</sup>。

### 4 展 望

固有免疫应答和特异性免疫应答均参与莱姆关节炎的发生。TLR 可有效识别“非己”成分而发挥重要作用,是机体抵抗感染性疾病的第一道屏障,不仅在固有免疫中发挥关键作用,而且还是连接固有免疫和适应性免疫的主要桥梁,通过多种途径影响适应性免疫应答,具有对适应性免疫的识别和调控作用<sup>[31-32]</sup>。TLR 在莱姆病的产生和慢性化过程中起到重要作用。目前,对伯氏疏螺旋体致莱姆关节炎的机制还有待进一步研究和探索。

### 参考文献

- [1] Steere AC. Lyme disease[J]. *New Engl J Med*, 2001, 345(2): 115-125.
- [2] Steere AC, Coburn J, Glickstein L. The emergence of Lyme disease[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(8): 1093-1101.
- [3] Feder Jr HM, Johnson BJ, O'Connell S, et al. A critical appraisal of "chronic Lyme disease"[J]. *New Engl J Med*, 2007, 357(14): 1422-1430.
- [4] Wormser GP. Early Lyme disease[J]. *New Engl J Med*, 2006, 354(26): 2794-801.
- [5] Gerstenblith TA, Stern TA. Lyme Disease: a review of its epidemiology, evaluation, and treatment[J]. *Psychosomatics*, 2014, 55(5): 421-429.
- [6] 艾承绪, 温玉欣, 张永国. 莱姆病在我国的首次报告[J]. *山东医科大学学报*, 1987, 25(2): 1-4.
- [7] 贾月萍, 周国萍, 张晓芳, 等. 黑河地区小兴安岭林场首次分离培养出伯氏疏螺旋体[J]. *中国预防医学杂志*, 2003, 4(1): 54-55.
- [8] 谷存国, 曹兴平, 贾月萍, 等. 小兴安岭部分林区莱姆病血清流行病学调查[J]. *现代预防医学*, 2014, 14(6): 1125-1129.
- [9] 李静, 梁张, 宝福凯, 等. 莱姆病流行病学研究进展[J]. *中国热带医学*, 2013, 13(8): 1035-1042.
- [10] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 805-820.
- [11] 李静, 宝福凯, 柳爱华. 莱姆病临床表现研究进展[J]. *现代预防医学*, 2014, 41(22): 4181-4183.
- [12] Stanek G, Wormser GP, Gray J, et al. Lyme Borreliosis [J]. *Lancet*, 2012, 379(9814): 461-473.
- [13] Flemming DJ, Hash II TW, Bernard SA, et al. MR imaging assessment of arthritis of the knee[J]. *Magn Reson Imaging Clin N Am*, 2014, 22(4): 703-724.
- [14] Nomura N, Miyajima N, Sazuka T, et al. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. I. The coding sequences of 40 new genes (KIAA0001-KIAA0040) deduced by analysis of randomly sampled cDNA clones from human immature myeloid cell line KG-1[J]. *DNA Res*, 1994, 1(1): 27-35.
- [15] Wang X, Smith C, Yin H. Targeting Toll-like receptor with small molecule agents[J]. *Chem Soc Rev*, 2013, 42(12): 4859-4866.
- [16] Smith SA, Jann OC, Haig D, et al. Adaptive evolution of Toll-like receptor 5 in domesticated mammals[J]. *BMC Evol Biol*, 2012, 12(1): 122.

- [17] Liang J, Fu J, Kang H, et al. The Stimulatory effect of TLRs ligands on maturation of chicken bone marrow-derived dendritic cells [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2013, 155(3):205-210.
- [18] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling [J]. *Nature Rev Immunol*, 2004, 4(7):499-511.
- [19] Roach JM, Racioppi L, Jones CD, et al. Phylogeny of toll-like receptor signaling: adapting the innate response [J]. *PLoS One*, 2013, 1(8):e54156.
- [20] Ruslan M, Jr JC. Innate immune recognition: mechanisms and pathways [J]. *Immunol Rev*, 2000, 173(1):89-97.
- [21] Falgarone G, Jaen O, Boissier MC. Role for innate immunity in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2005, 72(1):17-25.
- [22] Blasius AL, Beutler B. Intracellular toll-like receptors [J]. *Immunity*, 2010, 32(3):305-315.
- [23] 李静, 宝福凯, 柳爱华, 等. 莱姆病致病机制研究进展 [J]. *生命科学研究*, 2014, 18(2):173-178.
- [24] 汪玉娇, 宝福凯, 柳爱华. Toll 样受体和趋化因子与莱姆关节炎发病的相关性 [J]. *中国热带医学*, 2012, 12(11):1412-1415.
- [25] Bao FK, Fikerig E. The joint-specific expression profile of *Borrelia burgdorferi* in the murine hosts [J]. *Bull Sci Technol*, 2008, 24(6):832-838, 846.
- [26] Dennis VA, Dixit S, O'Brien SM, et al. Live *Borrelia burgdorferi* • 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.05.042
- feri spirochetes elicit inflammatory mediators from human monocytes via the Toll-like receptor signaling pathway [J]. *Infect Immun*, 2009, 77(3):1238-1245.
- [27] 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.
- [28] Oosting M, Hofstede HT, Sturm P, et al. TLR1/TLR2 Heterodimers Play an Important Role in the Recognition of *Borrelia Spirochetes* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e25998.
- [29] Tanja PO, Erin C, Acosta DI, et al. TRIF mediates Toll-like receptor 2-dependent inflammatory responses to *Borrelia burgdorferi* [J]. *Infect Immun*, 2013, 81(2):402-410.
- [30] Tschirren B, Andersson M, Scherman K, et al. Polymorphisms at the innate immune receptor TLR2 are associated with *Borrelia* infection in a wild rodent population [J]. *Proc R Soc B*, 2013, 280(1759):364.
- [31] Cervantes JL, Hawley KL, Benjamin SJ, et al. Phagosomal TLR signaling upon *Borrelia burgdorferi* infection [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014(4):55.
- [32] Oosting M, Buffen K, van der Meer JW, et al. Innate immunity networks during infection with *Borrelia burgdorferi* [J]. *Crit Rev Microbiol*, 2014, 25(1):1-12.

(收稿日期:2015-07-20 修回日期:2015-10-14)

## 各种宫内发育迟缓动物模型的比较\*

段 畅, 王曜晖, 高 静, 侯拉梅 综述, 李丽娟<sup>△</sup> 审校  
(遵义医学院病理生理教研室, 贵州遵义 563000)

[关键词] 宫内发育迟缓; 动物模型; 代谢性疾病  
[中图分类号] R332 [文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)05-0696-04

宫内发育迟缓 (intrauterine growth retardation, IUGR) 是指新生儿出生体质量在同龄儿正常体质量的第 10 百分位数以下或低于平均值的 2 个标准差<sup>[1]</sup>, 是胚胎在母体的子宫内由于各种不利因素而导致发育不良最终出现低出生体质量的现象。因此, IUGR 都是以新生儿低出生体质量的方式表现出来<sup>[2]</sup>。据统计, IUGR 的发生率会随着气候条件、地理环境、经济发展水平等因素的不同而改变, 世界范围的整体发生率为 2.75%~15.53%, 在中国, IUGR 的平均发生率大约为 6.39%。

1995 年, Barker 首次提出许多成年疾病具有胚胎发育不良的基础, 即成人疾病的胚胎起源假说 (fetal origins of adult disease, FOAD)<sup>[3]</sup>。该假说认为胚胎出现营养不良时, 其代谢及器官的组织结构均可进行相应的调整, 后者可能是成年后某些疾病发生的根源。另有研究进一步表明, IUGR 与其成年后的 2 型糖尿病、肥胖、高血压、非酒精性脂肪肝等密切相关<sup>[4-6]</sup>。可见, 从胚胎起源角度来研究上述疾病的发生和发展是当前医学界的一项重要任务。通常选取与人类病理特征相似的动物来复制 IUGR 模型进行相关研究。目前已有多种动物、多种方

法可复制 IUGR 模型, 本文旨在对各种 IUGR 动物模型进行阐述、比较, 分析在研究时如何选择复制 IUGR 的动物及复制的模型方法。

### 1 IUGR 模型动物的选择

理想的 IUGR 动物模型所选用的动物在生理特征和解剖特点上要与人类尽可能接近; 其次, 复制 IUGR 动物模型要进行多次实验、大量检测。因此, 复制 IUGR 动物模型要求选择的动物经济成本低, 容易复制, 且易于检测。目前, 可用于复制 IUGR 模型的动物主要有大鼠、小鼠、豚鼠、家兔、猪、绵羊、猴、狒狒、鸡、狗等<sup>[7-11]</sup>, 其中大鼠、小鼠、家兔、猪、绵羊等最常用。

鼠由于繁殖快、数量多、适应性强等特点, 其成本低, 是最常用的实验动物, 也是 IUGR 动物模型研究中利用最早、使用最广泛的动物。Reamon-Buettner 等<sup>[7]</sup> 曾经利用鼠成功复制 IUGR 模型。但鼠属于啮齿类动物, 生理结构和胚胎发育过程与人类存在一定程度的差异, 当研究胎盘功能不全等因素引起的 IUGR 时, 用大鼠复制的 IUGR 动物模型便不合适。

羊和猪也是用于复制 IUGR 模型的常见动物。羊和猪的

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81260131); 贵州省优秀科技人才省长专项资金项目 [黔省合字 (2011)58]。 作者简介: 段畅 (1989—), 在读硕士研究生, 主要从事表观遗传学与疾病关系的研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, Tel: (0851)28609547; E-mail: fdhllj@sohu.com。