

## Toll 样受体在肺癌中的作用研究进展\*

吴叶丹 综述, 安昌善 审核  
(延边大学附属医院, 吉林延吉 133000)

**[摘要]** Toll 样受体(TLR)是一组跨膜受体家族,其通过激活核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)识别各种病原体损伤相关的分子模式,在炎症中起重要作用。TLR 主要由先天免疫细胞表达,并参与诱导和调节适应性免疫应答。然而,在许多肺癌中也观察到 TLR 的表达,TLR 的刺激可导致肺癌进展或消退,这取决于 TLR 的类型。抗肿瘤作用可以直接诱导肿瘤细胞凋亡或通过有效的抗肿瘤免疫应答的激活产生。促肿瘤效应可能是由于诱导肿瘤细胞存活和增殖或通过作用于肿瘤微环境中炎性免疫细胞产生。

**[关键词]** Toll 样受体;肺肿瘤;佐剂

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2019)04-0668-03

肺癌是全世界最恶性的肿瘤之一,有研究<sup>[1]</sup>报道 2012 年肺癌为男性癌症相关死亡的主要原因,也是导致女性癌症相关死亡的第二大原因。但是,肺癌目前仍然缺乏有效的治疗方法。肺癌有许多亚型,约 80% 属于非小细胞肺癌(NSCLC)。据报道,70% 的患者在中晚期才被诊断为肺癌,这使得治疗更加困难。如果在早期发现肺癌,可以获得较好的预后。肺癌的主要危险因素包括高龄、空气污染和吸烟<sup>[2]</sup>。国际癌症研究机构 2012 年的 Globocan 癌症研究报告发现,2012 年全球有 180 万新发肺癌病例和 160 万肺癌死亡病例,约占所有癌症相关病死率的 19%<sup>[3]</sup>。除了高发病率和病死率之外,肺癌也存在预后不良,总的 5 年生存率低于 17%<sup>[4]</sup>。需要更有效的预防和治疗肺癌的策略。Toll 样受体(TLR)在免疫细胞上广泛表达,在先天免疫系统中发挥重要作用。免疫逃逸是癌症发展的重要标志。慢性炎症与癌症之间已确定存在关联,而 TLR 在肿瘤细胞的免疫应答中起重要作用。在肿瘤细胞中,TLR 的激活可能调节下游信号通路,这些信号通路在肿瘤发生和肿瘤进展中发挥关键作用。

## 1 TLR

TLR 是一种 I 型跨膜受体,最初被认为参与胚胎发育。目前,已发现 10 种人类 Toll 样受体家族(TLR1~10)。TLR 表达于各种免疫细胞,主要为抗原递呈细胞如巨噬细胞、树突状细胞和 B 细胞,在其他免疫细胞中,如肥大细胞、自然杀伤(NK)细胞、调节性 T 细胞、单核细胞、中性粒细胞和嗜碱性粒细胞亦有少量表达<sup>[5]</sup>。其中,TLR1、TLR2、TLR4、TLR5、TLR6 位于细胞表面,TLR3、TLR7、TLR8、TLR9 位于细胞内囊泡中。每个 TLR 都含有跨膜结构域,胞外结构域和胞浆 TIR 结构域。TLR 识别的配体具有特异性,分为来自细菌、真菌、病毒及原生动物的病原相关分子模式(PAMP)和通过受损组织和癌症治疗中死亡细胞释放的内源性配体,即危险相关分子模式(DAMP)。DAMP 可以是细胞组分或应激诱导的基因产物,包括细胞外基质组分、细胞外蛋白、细胞内蛋

白和核酸,可通过触发 TLR 的活化向免疫系统提供预警信号<sup>[6-7]</sup>。

近年的研究表明,TLR 兼有促肿瘤及抗肿瘤作用,抗肿瘤作用可以直接引起肿瘤细胞凋亡或激活有效的抗肿瘤免疫反应。已发现的 TLR 激动剂是通过间接激活耐受宿主免疫系统破坏癌细胞而诱导强烈的抗肿瘤活性。因此,TLR 受体激动剂或拮抗剂可能成为一种对抗癌症的新策略。

## 2 TLR 信号通路

当 TLR 与配体结合时,信号传导始于两个受体链的二聚化,TLR 二聚体从 MyD88 家族招募衔接蛋白以启动下游信号通路。MyD88 蛋白家族包含 5 个成员:MyD88、TRIF/TICAM-1、TIRAP/Mal、TIRP/TRAM 和 SRAM。除 TLR3 外的所有 TLR 通过 MyD88 依赖性途径发出信号,MyD88/IRAK1/IRAK4/TRAF6 复合物激活 TAK1,导致包括核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)和 AP-1 在内的转录因子的激活。TLR3 和 TLR4 利用非依赖 MyD88 的途径,募集 TRIF 以激活 IRF3/7 和 NF- $\kappa$ B。IRF3/7 激活涉及 TBK1-IKK $\epsilon$ /IKKi 复合物;NF- $\kappa$ B 和 AP-1 活化涉及 TRAF6 和 RIP<sup>[8]</sup>。

## 3 TLR2 与肺癌

在 Lewis 肺癌细胞(LLC)移植的小鼠模型中,注射胰高血糖素样肽(TLR1/2 的合成细菌脂蛋白配体)能显著降低肿瘤进展并改善小鼠存活率。这些效应可能是 TLR1/TLR2 激动剂 BLP 诱导 CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 细胞抑制作用明显减少,并减弱剩余依赖 TLR2 的 Treg 细胞的潜在活性并增强了肿瘤特异性 CTL 的体内外细胞毒性引起<sup>[9-10]</sup>。另一项研究证实,TLR1/2 信号通过依赖 NF- $\kappa$ B 和 P38 通路可直接作用于 CD8<sup>+</sup>T 细胞,显著促进其分泌功能性细胞因子  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )及白细胞介素-2(IL-2)。卡介苗细胞壁骨架(BCG-CWS)是具有有效抗肿瘤作用的 TLR2/4 激动剂,对早期肺癌患者进行 2 年的随访研究表明,实体瘤对 BCG-CWS 有反应,治疗组的患者

与化疗组相比较总体生存率的统计学组间差异无统计学意义。然而,非治愈组患者总体生存率的组间差异有统计学意义。1994 年,日本大阪癌症和心血管疾病大阪医学中心的 TOYOSHIMA 等研究发现,单用 BCG-CWS 治疗转移性肺癌术后 5 年生存率超过 40%,比传统化疗好 15%~20%<sup>[11]</sup>。然而,也有研究表明,Lewis 肺癌细胞通过激活 TLR2/TLR6 复合物触发骨髓细胞肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )产生来间接促进肿瘤转移。这些研究结果表明,TLR2 与其体内共同受体的不同组合,在肺癌中起到不同作用。因此,来源于 TLR2 和共同受体的精确信号通路需要进一步研究。

#### 4 TLR3 与肺癌

TLR3 的激活可刺激癌细胞凋亡并触发炎症细胞因子的分泌。polyI:C 是一种 TLR3 激动剂,可激活免疫细胞并在体内使转移性肺癌消退。在肺癌小鼠模型中,经 polyI:C 刺激的 TLR3 抑制肿瘤进展是通过增加细胞毒性免疫细胞,如: NK 细胞、M1、CD8<sup>+</sup> T 细胞等,降低抑制免疫反应的免疫细胞而实现的,这意味着促进肿瘤细胞转化为具有抗肿瘤作用的 M1 巨噬细胞。LAU 等<sup>[12]</sup>证明 polyI:C 可抑制转移性(NCI-H358 和 NCI-H292)和非转移性(A549)肺癌细胞的增殖和存活。值得注意的是,由 polyI:C 诱导的 A549、NCI-H292 和 NCI-H358 表达低至中等水平的 TLR3 蛋白,但对 polyI:C 处理敏感。相反,表达高水平 TLR3 蛋白的 NCI-H1299 对 polyI:C 不敏感。尽管 A549 和 NCI-H292 释放高水平的 IL-6、IL-8 和 GRO,但 NCI-H358 细胞内分泌较高水平的这些细胞因子,并且不被 polyI:C 进一步诱导。因此,NCI-H358 对细胞因子依赖性转移的抑制具有耐受性。对 polyI:C 无反应的 NCI-H1299 不产生任何促炎细胞因子。综上表明 polyI:C 单独引起表达低至中等水平的功能性 TLR3 蛋白的肺癌细胞凋亡。用 polyI:C 和 IL-6 抗体组合治疗 A549,通过 IL6/JAK2/STAT3 信号传导增强 polyI:C 介导的抗癌活性,并通过 TLR3 介导的胱天蛋白酶 3/8 途径诱导细胞凋亡。这将是 TLR3 对抗癌症的新策略。

#### 5 TLR4 与肺癌

LIU 等<sup>[13]</sup>与 15 例良性病变患者比较,54 例 NSCLC 患者术后标本中 FOXP3 及 TLR4 的表达显著升高,Foxp3 的表达与淋巴结转移密切相关,而 TLR4 的表达与肿瘤分化密切相关。这些结果表明 Foxp3 和 TLR4 作用于肿瘤逃逸和肿瘤进展。YEH 等<sup>[14]</sup>研究发现在肺癌模型中 TLR4 在人肺癌细胞中不断表达和上调,可增加肿瘤细胞的增殖及抗凋亡作用,并增加肿瘤细胞分泌肿瘤坏死因子- $\beta$ (TNF- $\beta$ )、血管内皮生长因子(VEGF)、IL-6、IL-8、单核-巨噬细胞集落刺激因子。也有证据说明 TLR4 激动剂与 TLR4 相互作用后,促进内毒素的毁坏及肺转移前龛影的形成<sup>[15]</sup>。ZHANG 等<sup>[16]</sup>亦发现在 LLC 模型中 TLR4 通过直接激活肌肉分解,介导癌症引起的肌肉萎缩,故 TLR4 是癌症引起肌肉萎缩的治疗靶点。GU

等<sup>[17]</sup>的数据表明在 A549 细胞中沉默 RNA 能下调 TLR4 表达可作为 NSCLC 潜在抗癌靶点。DAJON 等<sup>[18]</sup>建立了功能性 TLR4 及其突变的小鼠模型,结果表明与 TLR4 突变组相比功能 TLR4 组原发肿瘤形成及 AP-1 活性有所降低,NK- $\kappa$ B、DNA 结合力升高。之后这组研究人员又证实 TLR4 可通过抑制 EGFR、炎症反应基因、趋化基因及增殖基因等途径影响肺癌的发生。这一发现提示了 TLR4 在气道炎症和肺癌发展中的潜在作用。在一项研究中,TLR4 的水平与免疫抑制性细胞因子的产生,促血管生成趋化因子的产生以及肺癌细胞对细胞凋亡的抗性显著相关。不报道了 TLR-9 在肺癌进展中的显著性,还报道了 TLR4(但不是 TLR9)与肺癌患者的肿瘤分化呈正相关( $P < 0.05$ )<sup>[18]</sup>。

#### 6 TLR5 与肺癌

TLR5 激动剂 CBLB502 可通过 MyD88 途径诱导嗜中性粒细胞募集细胞因子的分泌,随后促进嗜中性粒细胞的浸润,最终导致体内肿瘤生长的抑制,并表明 CBLB502 抗肿瘤作用不通过抑制血管生成实现<sup>[19]</sup>。随后,ZHOU 等<sup>[20]</sup>从 2005 年 1 月至 2008 年 12 月在湘雅医学院肿瘤医院收集 113 例诊断为非小细胞肺癌患者的肺癌标本。采用免疫组织化学方法检测 TLR5 的表达,采用建立的评分系统对蛋白质表达进行定量分析表明,TLR5 高表达与 NSCLC 患者的较好预后相关。他们进一步通过体外实验证实,鞭毛蛋白在 NSCLC 细胞中激活 TLR5 可抑制体外细胞增殖,迁移和侵袭。

#### 7 TLR7/8 与肺癌

CHERFILS-VICINI 团队<sup>[21]</sup>证明 NSCLC 患者的肿瘤细胞表达 TLR7。TLR7 刺激诱导肿瘤细胞的存活及抗化疗,这似乎与肿瘤细胞表达抗凋亡因子的增加有关,因为他们在表达 TLR7 的肺癌患者中发现 NF- $\kappa$ B 的活化及 bcl-2 的上调。他们通过新鲜肿瘤细胞中得到的数据表明,人肺癌细胞中有类似 TLR7 或 TLR8 刺激细胞的基因表达谱,提示具有慢性肿瘤刺激环境。此外,CHATTERJEE 等<sup>[22]</sup>在肺癌小鼠模型注射 TLR7 激动剂间接促肿瘤。两个独立的 NSCLC 患者人群回顾性研究显示,TLR7 高表达组与低表达相比,高表达组肺癌患者预后不良并对化疗效果差。

#### 8 TLR9 与肺癌

对具有和不具有 TLR9 失活 K-ras(LA1)TLR9(-/-)和 K-ras(LA1)TLR9(+/-)的 K-ras 突变的肺腺癌小鼠模型(K-/+ )的研究表明,仅在 K-ras(LA1)TLR9(+/-)小鼠的单核细胞中功能性表达 TLR9。与 K-ras(LA1)TLR9(-/-)小鼠相比,这些小鼠具有较差的存活和较高的肿瘤负荷。来自 K-ras(LA1)TLR9(+/-)小鼠的肿瘤以血管生成表型为特征,具有比 K-ras(LA1)TLR9(-/-)小鼠更高的血管内皮生长因子(VEGF)水平和更高的微血管密度。在对 61 例早期 NSCLC 患者免疫化学评估显示,TLR9 在浸润肿瘤的单核细胞中表达,并具有较差的生存率<sup>[23]</sup>。SATO 等<sup>[24]</sup>研究了将吸附在聚缩酮微粒

(CpG-MP)上的 CpG ODN 灌注到患有非小细胞肺癌的小鼠的肺中的效果。CpG-MP 的肺内递送改善了肿瘤位点的 ODN 摄取和保留,从而诱导比全身使用或未吸附的 CpG ODN 更强的 Th1 应答。CpG-MP 通过减少免疫抑制性 Treg 和 M2 巨噬细胞的数量,同时增加 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 M1 巨噬细胞的数量,来逆转表征肿瘤微环境的免疫抑制。这些影响促进了肿瘤的消退,并最终导致了致命的 Lewis 肺癌小鼠的 82% 永久存活。这些看似矛盾的结果可能与不同的肿瘤模型相关,不同肿瘤模型中的肿瘤免疫微环境是不一样的。

## 9 展 望

Toll 样受体在肿瘤免疫治疗中具有重要的应用前景。主要由于免疫细胞表达的 TLR 的刺激是用于改善抗肿瘤免疫应答的治疗方法之一。TLR 的许多配体正在临床试验中,或者已经被美国食品和药物管理局批准用于某些癌症。然而,肿瘤细胞也表达 TLR,并且取决于 TLR 和肿瘤类型,它们的活化既可以导致肿瘤细胞死亡,亦可以增加肿瘤细胞存活率及转移扩散或对化疗的耐受。当使用 TLR 激动剂时,应考虑肿瘤细胞的 TLR 表达。此外,TLR 过度表达可能与患者的临床治疗效果不佳有关,亦发现传统癌症治疗如蒽环类化疗药及放疗的效果取决于完整的 TLR 信号传导,这将大大提高联合抗癌治疗的可能性,以及使用 TLR 多态性的遗传筛选指导个体选择治疗。这些均证实了 TLR 在癌症中有促癌和抗癌的双刃剑效应。

## 参考文献

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Lortet-Tieulent J and jemal a; global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015(65):87-108.
- [2] LEMJABBAR-ALAOUI H, HASSAN O, YANG Y W, et al. Lung cancer; biology and treatment options[J]. BBA, 2015(1856):189-210.
- [3] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide; sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer, 2015(136):359-386.
- [4] HIRSCH F R, SCAGLIOTTI G V, MULSHINE J L, et al. Lung cancer; current therapies and new targeted treatments[J]. Lancet, 2017(389):299-311.
- [5] ŁAGIEDO M, SIKORA J, KACZMAREK M. Damage-associated molecular patterns in the course of lung Cancer-A review[J]. Scand J Immunol, 2015, 82(2):95-101.
- [6] SHI M, CHEN X, YE K, et al. Application potential of toll-like receptors in cancer immunotherapy: Systematic review[J]. Med, 2016, 95(25):e3951.
- [7] SHI M, ZHANG Y F, LIU L Y, et al. MAP1S protein regulates the phagocytosis of bacteria and toll-like receptor (TLR) signaling[J]. J Biol Chem, 2016, 291(3):1243-1250.
- [8] LI K, QU S, CHEN X, et al. Promising targets for cancer immunotherapy: TLRs, RLRs, and STING-mediated innate immune pathways[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2):E404.
- [9] TEMIZOZ B, KURODA E, ISHII K J. Vaccine adjuvants as potential cancer immunotherapeutics[J]. Int Immunol, 2016, 28(7):329-338.
- [10] MISAKO M, MASAHIRO A, TSUKASA S. Adjuvant immunotherapy for cancer; from basic research to clinical bench[J]. Inflamm Immun Cancer, 2015:229-241.
- [11] KODAMA K, HIGASHIYAMA M, TAKAMI K, et al. Innate immune therapy with a Bacillus Calmette-Guérin cell wall skeleton after radical surgery for non-small cell lung cancer: A case-control study[J]. Surg Today, 2009, 39(3):194-200.
- [12] LAU W H, ZHU X G, HO S W. Combinatorial treatment with polyI:C and anti-IL6 enhances apoptosis and suppresses metastasis of lung cancer cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(20):32884-32904.
- [13] LIU X Y, PEI C G, YAN S, et al. NADPH oxidase 1-dependent ROS is crucial for TLR4 signaling to promote tumor metastasis of non-small cell lung cancer [J]. Tumour Biol, 2015, 36(3):1493-1502.
- [14] YE H D W, HUANG L R, CHEN Y W, et al. Interplay between inflammation and stemness in cancer cells; the role of toll-like receptor signaling[J]. J Immunol Res, 2016:4368101.
- [15] LOESA N, BRIDGHAM J T, HARMS M J. Coevolution of the toll-like receptor 4 complex with calgranulins and lipopolysaccharide[J]. Front Immunol, 2018(21):304.
- [16] ZHANG G H, LIU Z L, DING H, et al. Toll-like receptor 4 mediates Lewis lung carcinoma-induced muscle wasting via coordinate activation of protein degradation pathways [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):2273.
- [17] GU J J, LIU Y, XIE B, et al. Roles of toll-like receptors: from inflammation to lung cancer progression[J]. Biomed Rep, 2018, 8(2):126-132.
- [18] DAJON M, IRIBARREN K, CREMER I. Toll-like receptor stimulation in cancer: A pro- and anti-tumor double-edged sword[J]. Immunobiology, 2017, 222(1):89-100.
- [19] LI W, GE C, YANG L, et al. CBLB502, an agonist of Toll-like receptor 5, has antioxidant and scavenging free radicals activities in vitro[J]. Int J Biol Macromol, 2016(82):97-103.
- [20] ZHOU H, CHEN J, HU J, et al. High expression of Toll-like receptor 5 correlates with better prognosis in non-small-cell lung cancer; an anti-tumor effect of TLR5 signaling in non-small cell lung cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(4):633-643.
- [21] CHERFILS-VICINI J, PLATONOVA S, GILLARD M, et al. Triggering of TLR7 and TLR8 expressed by human lung cancer cells induces cell survival and chemoresistance [J]. J Clin Invest, 2010, 120(4):1285-1297.
- [22] CHATTERJEE S, CROZET L, DAMOTTE D, et al. TLR7 promotes tumor progression, chemotherapy resistance, and poor clinical outcomes in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 2014, 74(18):5008-5018.
- [23] 沈崇灵. 法理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1994:51-52.
- [24] SATO T, SHIMOSATO T, UEDA A, et al. Intrapulmonary delivery of CpG micro particles eliminates lung tumors[J]. Mol Cancer Ther, 2015, 14(10):2198-2205.