

. 综 述 .

Toll 样受体 4 与脑出血的研究进展

谢 敏 周小炫 综述 吴成翰 审校

【关键词】脑出血; Toll 样受体 4; 炎症反应

【文章编号】1009-153X(2015)01-0055-04 【文献标志码】B 【中国图书资料分类号】R 743.34

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)具有高发率、高死亡率和高致残率的特点,是临床上常见的急性危重病^[1]。ICH 常导致血肿部位及其周围组织水肿、缺氧,发生细胞凋亡、炎症反应等一系列继发性损伤^[2],而炎症反应又可加重脑水肿,使病情进一步恶化。Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)作为一种模式识别受体,能启动和放大炎症反应,与 ICH 后血肿周围组织的继发性损伤关系密切^[3]。现就目前 TLR4 与 ICH 的研究现状综述如下。

1 TLR4 概述

1.1 生物学特点 TLR4 是人类发现的第一个 Toll 样受体家族的相关蛋白^[4],其结构主要由胞外区、跨膜区和胞内区 3 部分组成。胞外区主要识别病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs);跨膜区是含半胱氨酸的结构域,可与髓样分化蛋白(myeloid differentiation protein, MyD)-88 的同源结构域相结合;胞内区与白介素 1 受体(interleukin-1 receptor, IL-1R)胞内区同源,为 Toll/IL-1R 区的跨膜受体,其确定了 TLR 在细胞内的定位,主要接受胞外转导的刺激信号并进一步激活下游的信号转导。TLR4 主要分布在血管内皮细胞、巨噬细胞和胶质细胞等,在组织细胞的炎症反应和免疫应答过程中起着重要作用。研究表明 TLR4 不仅在感染性疾病的炎症反应中发挥重要作用,而且与 ICH 等非感染性疾病的炎症损伤关系密切^[5]。

1.2 TLR4 识别的配体 TLR4 主要通过识别两类配体引起信号通路转导刺激信号,即 PAMPs 和损伤相关

分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)^[6]。其中 PAMPs 是一类特定病原菌及其产物共有的分子结构,包括革兰阴性菌的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),革兰阳性菌的脂磷酸壁酸,分枝杆菌的脂阿拉伯甘露聚糖、肽聚糖等;DAMPs 是组织自身细胞释放的内源性分子,主要有热休克蛋白、高迁移率组蛋白 B1、尿酸结晶、透明质烷,也包括机体在损伤时产生的抗菌肽/防御素、氧自由基和胞外基质降解产物等^[7]。

1.3 TLR4 信号通路 TLR4 作为膜受体“门户”蛋白,主要介导两条信号通路,即 MyD-88 依赖型和 β -干扰素 Toll-白细胞介素 1 受体结构域衔接蛋白(Toll-IL-1 receptor-domain-containing adaptor-inducing IFN- β , TRIF)依赖型。TLR4 在细胞膜上和 MyD-2 紧密结合形成 TLR4-MyD-2 复合物,细菌 LPS 与 LPS 结合蛋白(LPS binding protein, LBP)结合形成 LPS-LBP 复合体, LBP 再与细胞表面的 LPS 受体 CD14 相互作用,将 LPS 从 LPS-LBP 复合体转运到 TLR4-MyD-2 复合物上,从而激活 MyD-88 依赖型途径。活化的 TLR4 和细胞内 Toll/IL-1 的衔接蛋白相互作用招募 MyD-88,活化的 MyD-88 招募下游的白介素受体相关激酶(IL-1R-associated kinase, IRAK)-1 和 IRAK-4, IRAK 募集并活化下游的肿瘤坏死因子受体相关因子-6(Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6),活化的 TRAF-6 再与下游的转化生长因子激活激酶-1(transforming growth factor activated kinase-1, TAK-1)、TAK-1 结合蛋白(TAK binding proteins, TAB)-2 及 TAB-3 形成复合体激活 TAK-1, TAK-1 活化下游的 c-jun 氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinases, JNK)/p38 MAPK 和核转录因子- κ B(nuclear factor of kappa B, NF- κ B)信号通路,从而调节各种炎症细胞因子的转录。而在 TRIF 依赖型信号途径中,活化的 TLR4 募集 TRIF 相关适配蛋白分子(trif-related adaptor molecule,

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.01.019

作者单位:350122 福州,福建中医药大学第二临床学院(谢 敏、周小炫);350003 福州,福建中医药大学附属第二人民医院神经内科(吴成翰)

通讯作者:吴成翰, E-mail:prwch@163.com

TRAM)分子,细胞膜上的LPS-MD-2-TLR4复合体在TRAM分子的辅助下发生内化,和TRAM一起转移到内体膜,TRAM募集下游TRIF分子诱导TRAM-TRIF信号途径激活并募集TRAF-3、TRAF-6和受体相互作用蛋白-1,再分别通过TBK-1和TAK-1诱导干扰素调节因子-3的磷酸化及NF- κ B的晚期活化,继而调控I型干扰素和炎性细胞因子的产生。

2 ICH与炎症反应

ICH损伤是典型的非感染性炎症,ICH血肿部位及周围组织常伴随有不同程度的炎症反应,出现脑水肿、缺氧、血脑屏障破坏及细胞凋亡等一系列继发性损伤^[2]。参与ICH后炎症反应的主要有激活的小胶质细胞、白细胞和巨噬细胞等炎症细胞,以及基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、白介素(interleukin, IL)、活性氧等炎症介质,这些炎症细胞和介质可导致血脑屏障破坏和细胞膜损伤,是加重血管性和细胞毒性脑水肿的主要原因。Silva等^[9]研究发现183例12h内的原发半球ICH患者血浆中TNF- α /IL-6、MMP-9以及细胞纤维结合蛋白在ICH早期显著升高。有研究发现测ICH模型大鼠血液中TNF- α 、IL-6等炎症因子的表达在48~72h内达到高峰,脑组织含水量亦显著增加^[9],提示ICH炎症反应可能与出血后脑组织水肿存在关联。

3 ICH与TLR4表达

3.1 表达细胞 TLR4在ICH后表达广泛,主要分布在小胶质细胞、中性粒细胞、星形胶质细胞以及内皮细胞等相关细胞中^[10]。Wang等^[11]研究显示ICH模型大鼠在胶原酶诱导1~2h后,血肿周围小胶质细胞开始激活并在1d后明显增多,第7天时达到高峰。有研究亦表明,中枢神经系统中TLR4在小胶质细胞中表达较高^[12]。Sansing等^[13]通过观察TLR4在缺陷模型大鼠的表达,结果发现ICH后招募的小胶质细胞、中性粒细胞、单核细胞均明显减少,脑组织水肿减轻。

3.2 表达机制 TLR4在ICH后炎症反应过程中的表达机制比较复杂。有关研究表明TLR4可通过识别上游通路转导刺激信号启动出血后炎症反应,其中可能的上游信号通路有:①TLR4协同MyD-2和CD14识别LPS,引发炎症因子转录发生炎症反应^[14];②通过亚铁血红素显著上调TLR4表达,诱导MyD-88/TRIF相关信号通路释放炎症因子^[15]。另外,TLR4重要的下游信号通路NF- κ B能与靶基因上

特定的B序列结合,启动核内基因转录相应的mRNA来合成并释放细胞炎症因子,最终导致炎症反应^[16]。Teng等^[17]发现ICH模型大鼠TLR4基因在出血6h后开始表达,3d后达到高峰,而NF- κ B表达水平与TLR4表达相一致,认为TLR4/NF- κ B信号通路与ICH后炎症反应关系密切。Zhang等^[18]在ICH模型大鼠中发现小胶质细胞TLR4 mRNA表达上调,伴细胞内NF- κ B大量激活,与炎症反应高峰一致。另有研究通过腹腔注射TLR4拮抗剂TAK-242,采用免疫印迹法检测TLR4下游信号通路,结果发现TAK-242的干预可通过TLR4的下游MyD-88/NF- κ B信号通路减轻ICH部位的炎症反应,改善脑水肿和神经功能缺损症状^[19]。

4 药物干预

目前,通过影响TLR4信号通路以介导或干预ICH后炎症反应的相关药物研究较少。有研究发现,在ICH后相关炎症反应过程中,氧化苦参碱(Oxymatrine, OMT)、银杏内酯B(ginkgolide B, GB)及利开灵等药物水平与TLR4的基因表达水平关系密切。

Huang等^[20]为探讨OMT对ICH大鼠TLR4和NF- κ B介导的炎症反应的影响,将ICH模型大鼠分为生理盐水组、假手术组和60 mg/kg、120 mg/kg OMT两个治疗组,结果发现120 mg/kg OMT能显著抑制TLR4/NF- κ B的基因表达。有研究发现在ICH模型大鼠腹腔注射10 mg/kg和20 mg/kg的GB均可明显影响TLR4/NF- κ B的基因表达,且血肿周围组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等炎症因子浓度均出现下降^[21]。上述研究说明一定剂量的OMT和GB均能够通过影响TLR4/NF- κ B途径而减少ICH后组织炎症因子的释放,抑制炎症反应。另外,孟令丽等^[22]研究发现辛伐他汀亦可减轻TLR4介导的ICH后出血周围组织的炎症损伤进而改善神经功能缺损症状,起到神经保护作用。

利开灵是根据中风病理机制特点而研发的中药制剂。傅晨等^[23]发现利开灵可下调ICH大鼠TLR4 mRNA的表达。佟玲等^[24]亦得出类似结论。说明利开灵对ICH后脑组织TLR4蛋白表达具有一定的调控作用,可能是其改善ICH后脑水肿的作用机制之一。

综上所述,TLR4作为介导天然免疫的模式识别受体之一,能启动炎性因子,激活相关信号通路引起炎症反应,在ICH后血肿周围组织的炎性损伤病理

过程中扮演着重要角色。然而目前对 ICH 后脑组织 TLR4 蛋白表达影响的药物研究仍然较少, ICH 后 TLR4 基因表达的确切机制有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] Ribo M, Grotta JC. Latest advances in intracerebral hemorrhage [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2006, 6(1): 17-22.
- [2] Kang K, Kim YJ, Kim YH, *et al.* Lithium pretreatment reduces brain injury after intracerebral hemorrhage in rats [J]. *Neurol Res*, 2012, 34(5): 447-454.
- [3] Hamanaka J, Hara H. Involvement of Toll-like receptors in ischemia-induced neuronal damage [J]. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2011, 11(2): 107-113.
- [4] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CJ. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity [J]. *Nature*, 1997, 388(6640): 394-397.
- [5] Cao CX, Yang QOW, Lv FL, *et al.* Reduced cerebral ischemia-reperfusion injury in Toll-like receptor 4 deficient mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 353(2): 509-514.
- [6] Beg AA. Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(11): 509-512.
- [7] Chowdhury P, Sacks SH, Sheerin NS. Endogenous ligands for TLR2 and TLR4 are not involved in renal injury following ureteric obstruction [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2010, 115(4): e122-e130.
- [8] Silva Y, Leira R, Tejada J, *et al.* Molecular signatures of vascular injury are associated with early growth of intracerebral hemorrhage [J]. *Stroke*, 2005, 36(1): 86-91.
- [9] Zhang X, Li H, Hu S, *et al.* Brain edema after intracerebral hemorrhage in rats: the role of inflammation [J]. *Neurol India*, 2006, 54(4): 402-407.
- [10] Fang H, Wang PF, Zhou Y, *et al.* Toll-like receptor 4 signaling in intracerebral hemorrhage-induced inflammation and injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2013, 10: 27.
- [11] Wang J, Tsirka SE. Tuftsin fragment 1-3 is beneficial when delivered after the induction of intracerebral hemorrhage [J]. *Stroke*, 2005, 36(3): 613-618.
- [12] Lehnardt S, Massillon L, Follett P, *et al.* Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(14): 8514-8519.
- [13] Sansing LH, Harris TH, Welsh FA, *et al.* Toll-like receptor 4 contributes to poor outcome after intracerebral hemorrhage [J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(4): 646-656.
- [14] Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M, *et al.* Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution [J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(7): 667-672.
- [15] Lin S, Yin Q, Zhong Q, *et al.* Heme activates TLR-mediated inflammatory injury via MyD88/TRIF signaling pathway in intracerebral hemorrhage [J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 46.
- [16] Aronowski J, Hall C E. New horizons for primary intracerebral hemorrhage treatment: experience from preclinical studies [J]. *Neurol Res*, 2005, 27(3): 268-279.
- [17] Teng W, Wang L, Xue W, *et al.* Activation of TLR-mediated NFkappaB signaling in hemorrhagic brain in rats [J]. *Mediators Inflamm*, 2009, 2009: 473276.
- [18] Zhang Q, Sun P, Zhang S, *et al.* Effects of propofol on the mRNA expression of toll-like receptor 4 in BV-2 cells during mimic ischemia-reperfusion injury in vitro [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2008, 28(6): 711-713.
- [19] Wang YC, Wang PF, Fang H, *et al.* Toll-like receptor 4 antagonist attenuates intracerebral hemorrhage-induced brain injury [J]. *Stroke*, 2013, 44(9): 2545-2552.
- [20] Huang M, Hu YY, Dong XQ, *et al.* The protective role of oxymatrine on neuronal cell apoptosis in the hemorrhagic rat brain [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(1): 228-235.
- [21] Hu YY, Huang M, Dong XQ, *et al.* Ginkgolide B reduces neuronal cell apoptosis in the hemorrhagic rat brain: possible involvement of Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(3): 1462-1468.
- [22] 孟令丽,周洪霞,杨莎莎,等. 辛伐他汀对大鼠脑出血后 TLR4 介导的炎症损伤的干预作用[J]. *神经解剖学杂志*, 2013, 29(5): 557-561.
- [23] 傅晨,张允岭,常富业,等. 利开灵对脑出血大鼠脑组织 CD14、TLR4 mRNA 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(5): 930-934.
- [24] 佟玲,常富业,张允岭,等. 利开灵对脑出血脑水肿大鼠 CD14 和 TLR4 蛋白表达的干预作用[J]. *现代中西医结合杂志*, 2012, 21(4): 361-365.

(2014-07-05 收稿, 2014-10-18 修回)