

Toll-样受体在调节 T-和 B-淋巴细胞功能中的作用

张宗梁

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031

E-mail: chang_zong_liang@sibs.ac.cn

2007-11-02 收稿, 2008-01-22 接受

摘要 尽管病原体能通过它们本身的方式入侵机体的许多部分, 然而宿主对病原体的感应器——Toll-样受体(Toll-like receptors, TLRs)也能以广泛的、显著的方式在免疫细胞表达, 以防御和应对病原体的入侵。目前的研究表明, TLRs 不仅在天然免疫系统的效应细胞表达, 以介导即刻的抗病原体反应, 并且也在适应性免疫系统的 T-、B-淋巴细胞表达, 提示 TLRs 直接调节了适应性免疫反应。鉴于 TLRs 多种效应研究的快速进展, 本文将论及 TLRs 的一些主要性质及它们对 T-、B-淋巴细胞的直接作用, 并对最近的发现和潜在的治疗应用进行了讨论。总之, 不断增多的证据支持这样一种概念, 即 TLR 的激活不仅属于天然免疫, 而且也属于包括直接调节 T-、B-淋巴细胞功能在内的适应性免疫。

关键词

TLRs

T-细胞

B-细胞

潜在的治疗应用

100年前, 俄国科学家伊里亚·梅契尼柯夫(Elie Metchnikoff)首先发现机体的细胞免疫防御系统以及这一系统具有的善于识别和应对外源物质的能力。他观察到“吞噬细胞”(巨噬细胞)能够攻击外源物质, 如低等生物海星幼体或水蚤对胭脂红颗粒、玫瑰刺和真菌孢子的吞噬效应。他指出, 类似的细胞防御系统(也就是白血球)在人类也同样存在^[1]。因在吞噬细胞工作上的巨大贡献, 伊里亚·梅契尼柯夫在1908年获诺贝尔医学和生理学奖。其后的一百多年里, 在天然免疫研究领域, 有两个关键的发现促进了免疫学的发展^[2]: ()发现果蝇转膜蛋白Toll, 此蛋白介导果蝇的抗菌反应和胚胎背腹轴的形成^[3,4]; ()证明小鼠的Toll-样受体4 (Toll-like receptor 4, TLR4)是革兰氏阴性细菌脂多糖(Lipopoly-saccharides, LPS)的受体^[5]。这两大发现说明了昆虫和哺乳动物对病原体的感应器是密切相关的。

哺乳动物的免疫系统由天然免疫和适应免疫所组成。早期的天然免疫系统是抗击入侵病原体(如病毒、细菌、真菌和寄生虫)的宿主防御前沿。近年来, 许多研究指出, Toll-样受体(Toll-like receptors, TLRs)信号促进了抗原递呈细胞, 如树突细胞和巨噬细胞的激活和成熟、介导抗原特异 T-细胞和 B-细胞克隆

扩增和分化等。这清楚显示, TLRs在天然免疫和适应免疫中起了重要作用。尽管TLRs在天然免疫细胞(如嗜中性粒细胞、单核细胞(monocyte)/巨噬细胞、树突细胞、NK细胞, $\gamma\delta$ T-细胞, B-1细胞)和适应性免疫细胞(T-、B-淋巴细胞)的表达已有许多报道, 但以往报道多数来自于天然免疫细胞^[6,7]。

近来的研究指出, TLRs 不仅表达在天然免疫细胞, 而且也同样地在适应性免疫的 T-和 B-淋巴细胞表达。

1 Toll 和 Toll-样受体

Toll蛋白在果蝇胚胎发育中具有决定背腹轴的奇妙作用(德语Toll是奇妙之意), 因此冠以此名。不久, 研究者进一步发现, Toll受体能对真菌反应, 并通过Toll信号通路介导了果蝇抗感染多肽的产生, 其中有一个具有很强抗真菌能力的蛋白, 称作果蝇霉素(drosomycin)。而果蝇另一个“18-轮卡车”受体, 能对革兰氏阴性细菌进行反应, 诱导果蝇抗革兰氏阴性细菌蛋白的产生, 称作天蚕抗菌肽(attacin)。由于“18-轮卡车”受体以及在植物、哺乳动物和人类发现的Toll受体都与果蝇Toll受体很类似^[8], 因此它们都被称作Toll-样受体。Toll-样受体的配体是病原体上稳定表达的特殊分子结构, 称作病原体相关分子模式

(pathogen, associated molecule patterns, PAMPs). 迄今为止, 11个人和13个小鼠的TLRs已被发现. 它们的重要作用表现在TLRs能区分自身和非自身之间的差别. TLR1, 2, 4, 5, 6, 10, 和12位于细胞表面, 而TLR3, 7, 8和9则位于细胞质的内体(endosome)膜上[7,9~11]. 目前, 人们已认识到, 从果蝇到人, 不但Toll和Toll-样受体结构和功能是相似的, 而且信号分子的结构和功能大多也是类似的.

2 TLRs的信号通路

TLRs属于一类转膜受体. 这些受体是由富集亮氨酸重复顺序的细胞外结构域、转膜结构成分以及细胞质Toll/IL-1(TIR)结构域三部分组成. 当TLR受体在细胞外和病原体分子作用时, TIR就和一个接头蛋白MyD88亲合, 形成TLR-MyD88复合物, 动员胞质内一些信号分子, 包括IL-1受体相关激酶(interleukin-1 receptor associated kinase, IRAK)、TNF受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF6)、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)、转化生长因子 β -激活性激酶(TAKs)的激活. 受体-接头蛋白-蛋白激酶引起的一系列级联反应, 诱导IKK α /IKK β /NEMO复合物的激活和抑制蛋白I κ B的磷酸化, 致使磷酸化的抑制蛋白I κ B从三聚体解离, 并经泛素化作用和蛋白酶体的降解使转录因子NF- κ B从I κ B的抑制中释放, 并从胞质中转移到细胞核, 诱导启动基因转录和翻译.

TAK介导JNK和P38MAPK的活化, 导致下游转录因子AP-1, c-Jun和c-fos的激活, 启动细胞因子基因和其他相关基因的转录[12]. 接头蛋白MyD88已为TLR1, 2, 4, 5, 6, 10和12介导的信号通路所应用. 有趣的是, TLR3使用MyD88-不依赖的信号通路介导它的激活.

TLR4应用接头蛋白MyD88和MyD88接头样蛋白(Mal)以及Tril-相关的接头分子(Tril relation adaptor molecule, TRAM)介导LPS触发的信号通路, 包括激活转录因子NF- κ B和干扰素调节因子(IRF)3/5, 以启动干扰素、其他细胞因子和免疫活性分子基因的表达. TLR4受体是由3种分子(TIR4, MD-2和CD14)构成的复合物, TLR4受体引起的下游TRAM激活是PKC- ϵ 依赖的[9].

TLR4也运用和TLR3独有的MyD88-不依赖的信号通路, 诱导NF- κ B和IRF-3, -6, -7的激活和共刺激

分子(如CD40, CD80和CD86)的产生[7,9].

研究哺乳动物TLR识别病原体的相关分子模式的结果显示, TLR1和TLR2组合能识别细菌三酰基脂肽(triacylated lipopeptides); TLR2和TLR6组合可以检测二酰基脂肽(diacylated lipopeptides); TLR3识别病毒双链RNA, 而TLR5能对细菌鞭毛蛋白产生识别反应; TLR7和TLR8构成异质二聚体可识别病毒单链RNA[9]. 人的TLR7也可以识别合成的氧化鸟嘌呤核苷和咪唑喹啉衍生物[12]. TLR9能辨别细菌、病毒的未甲基化CpG二核苷酸, 并能和合成的含未甲基化CpG二核苷酸DNA产生反应. 鉴于TLR7, 8和9的高度同源性, 它们分别能识别病原体RNA和DNA的分子结构[10,13]. 总之, TLRs利用它们对病原体分子相关模式的特异识别与感觉, 应用NF- κ B和干扰素调节因子(IRF)激活的信号通路, 介导免疫防御反应.

3 人白细胞的TLRs表达

近年来的研究表明, TLRs是在所有的白细胞膜和细胞内体(endosome)上表达的, 其中包括在CD4⁺和CD8⁺T-淋巴细胞、B-淋巴细胞亚群以及外周淋巴器官脾脏的显著表达[6,14,15]. 这些重要线索提示, TLRs可能在适应性免疫细胞中起重要的调节作用. 此外, 根据这些初始的发现也清楚地表明, 了解和研究TLRs在T-和B-细胞中的作用是十分重要的.

4 T、B-淋巴细胞的TLR表达和功能

4.1 TLR2直接触发Th1细胞的效应功能

T-淋巴细胞在胸腺分化, 经历阳性和阴性中枢性选择后, 产生具有不同潜能的CD4⁺和CD8⁺T-淋巴细胞. 尚未接触抗原或病原体的CD4⁺T-淋巴细胞在不同的细胞条件和细胞因子环境下, 能成功地进一步分化为具有不同潜能的CD4⁺T协助(Th)细胞和CD4⁺调节T-细胞(Treg). Th细胞可分为Th1, Th2和Th17三类. Th1细胞分泌IL-2, IFN- γ 和TNF- α , 介导延缓性超敏反应/细胞介导的免疫反应, 包括Th1激活巨噬细胞, 杀死细胞内被吞噬的病原体. Th2细胞产生IL-4, IL-5, IL-6, IL-10和IL-13, 刺激B-细胞产生和介导过敏反应(过敏免疫/体液免疫). Th17是一种新的Th细胞, 产生IL-17和IL-21, 执行新的宿主防御和自身免疫反应[16,17].

近来, Imanishi等人[18]对TLR在Th1和Th2细胞中的表达进行了研究. 他们发现在缺少T-细胞受体

(TCR)刺激条件下, TLR2 激动剂能够直接介导Th1 细胞的激活, IFN- γ 的产生, 上调CD69 和CD70 的表达, 并促进Th1 细胞的增殖与存活. IL-2 或IL-12 能通过活化MAPK信号通路协同增强这一效应. 但这一反应并不能在Th2 细胞上产生, 这提示TLR2 介导的效应是Th1 所特有的. 虽然目前尚未见有文献报道是否Th17 细胞膜和细胞内体上有TLR的表达, 我们估计这方面的报道会很快问世.

4.2 人 T-细胞表达 TLR1, TLR2, TLR4 和 TLR9

为了探索TLRs是否在人T-淋巴细胞表达以及它们可能的功能意义, Babu等人^[15]从人外周血PBMC中分离了T-淋巴细胞, 发现TLR1, 2, 4 和 9 是分别在CD4⁺和CD8⁺ T-淋巴细胞表达的. 但未观察到TLRs在未接触过抗原的T-细胞(CD45RA⁺)和CD4⁺CD25⁺调节性/抑制性T-淋巴细胞表达. 他们指出, 丝虫感染病人T-淋巴细胞(CD3⁺CD56⁻)的TLR1, TLR2 和TLR4 表达是显著降低的. 此外, 这些病人的T-细胞淋巴对TLR2 配体(Pam3Cys)上调CD69 和CD25 (T-淋巴细胞激活的标志蛋白)的功能以及Th1 细胞产生IFN- γ 和TNF- α 的能力都是显著降低的, 提示丝虫感染病人的TLR2 表达与功能损害及抗原特异的Th1 反应低下密切相关^[15].

4.3 TLRs 调节不同类别的调节性/抑制性 T-淋巴细胞(Tregs)

Tregs一般可分为两类. 第一类是天然发生的CD4⁺CD25⁺ Tregs (简称为nTregs). 它们在胸腺发育, 其介导的抑制作用是细胞接触依赖的. nTregs的发育与增殖直接受FOXP3 基因的控制与调节^[19,20]. 第二类是诱导性或适应性CD4⁺ Tregs (简称iTregs或aTregs), 其介导的抑制效应很大程度上依赖于可溶性抑制性因子IL-10 和TGF- β . 在人与小鼠, iTregs或aTregs由外周末接触过抗原的T-细胞或CD4⁺ 静息T-淋巴细胞发育而来.

4.4 TLR4, TLR5, TLR7 和 TLR8 在 C57BL/6 小鼠 Treg 细胞选择性表达

由于Treg细胞可以有效控制肠道和黏膜免疫系统对共生菌和病原体的炎症反应, Caramalho等人^[21]想了解TLR4, TLR5, TLR7 和TLR8 是否是选择性地在CD4⁺ CD25⁺细胞膜和细胞内体上表达的? 正如他们先前所假设的那样, TLR4, TLR5, TLR7 和TLR8 是分别在CD4⁺ CD25⁺细胞表达的. 研究结果表明, LPS

处理可以使CD4⁺ CD25⁺细胞的抑制活性增强 10 倍. 重要的是, 他们应用这些细胞转入同基因的重组激活基因(RAG)敲除的小鼠(C57BL/6 RAG-1^{-/-}), 消除了未接触过抗原的CD4⁺ T-(CD45RB^{high} CD25⁻)细胞介导的衰弱性或消耗性疾病(wasting disease). 这些发现提供了直接证据, 说明促炎症细菌产物LPS调变的CD4⁺ CD25⁺细胞, 有效地控制了体内的炎症反应.

4.5 TLR5 配体(鞭毛蛋白)增强人 Treg 细胞的抑制活性

Crellin等人^[22]研究发现, 人CD4⁺ CD25⁺ T-细胞表达的TLR5 mRNA和蛋白水平要比非抑制性CD4⁺ CD25⁻ T-细胞高. 重要的是, TLR5 的mRNA和蛋白表达水平与单核细胞及树突细胞表达的水平相当. 另外, 在无抗原呈递细胞的条件下, 鞭毛蛋白显著增加了CD4⁺ CD25⁺细胞对CD4⁺ CD25⁻细胞的增殖抑制作用, 甚至在CD4⁺ CD25⁺抑制细胞和效应细胞的比例接近 1:250 的条件下, 其抑制活性仍十分显著. 鞭毛蛋白引起CD4⁺ CD25⁺抑制性细胞抑制活性的增强, 是和转录因子FOXP3 表达的增加相关. 这些发现可能对黏膜免疫或肠相关淋巴细胞免疫系统的抗感染效应机制的了解有重要意义.

4.6 TLR8 逆转人 Tregs 的抑制功能: 通过 TLR8-MyD88 及 IRAK4 信号通路

与Babu等人^[15]的结果所不同, Peng等人^[19]使用人Tregs和人肿瘤衍生的抗原特异的CD4⁺Treg细胞株(Treg102 和Treg164 细胞)证明, TLR8 mRNA (TLR7 mRNA和TLR9 mRNA很少或不能察觉)较高地在上述细胞表达. 他们应用TLR8 的配体poly G10 证明, TLR8 受体经polyG10 作用后可以消除nTregs和Treg102 和 164 细胞株的对未接触过抗原的T-淋巴细胞增殖的抑制作用. 为了进一步了解poly G10 触发TLR8 所起动的信号机制, 他们应用小干扰RNA (siRNA)特异击倒TLR8, MyD88和IRAK4的基因技术, 证明TLR8, MyD88 和IRAK4 基因被击倒后, poly G10 核苷酸再也不能行使其逆转抑制效应; 相反, 将TLR7和TLR9的siRNA转导到Treg细胞株和人天然发生的CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞, 依然保持了它们对poly G10 介导的逆转抑制功能. 这些结果强烈地提示, TLR8-MyD88-IRAK信号通路控制或调节了人CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞和人肿瘤衍生的抗原特异的CD4⁺ Treg细胞株的功能.

4.7 TLR10 在人 Treg 细胞的组成性表达

TLR10 是一个孤儿受体,能和TLR1 或TLR6 构成异质二聚体来识别病原体.近来Bell等人 [23] 研究表明,人Treg细胞上的TLR10 与TLR5, TLR6 和TLR8 一样,在人CD4⁺CD25⁺Treg细胞上组成性地表达.他们应用凝胶电泳迁移率变动实验(EMSA)、染色质免疫沉淀鉴定(ChIP)、荧光素酶报告基因分析等技术证明,FOXP3 特异地介导了TLR10 蛋白在CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞的表达,并通过FOXP3 和NF-AT在TLR10 的启动子上的直接相互作用,从而介导了TLR10 基因的转录和翻译.

4.8 TLR2 增强记忆 T-细胞的增殖和 IFN- γ 产生

TLRs是否参与了对记忆T-淋巴细胞的调节? Xu 等人 [24] 从健康人外周血中分离到未接触过抗原的CD4⁺ CD45RA⁺ T-淋巴细胞和记忆CD4⁺ CD45RO⁺ T-细胞亚群.应用细菌脂肽(BLP)处理这些细胞,在抗CD3 抗体存在条件下,观测到记忆T-淋巴细胞的增殖反应和IFN- γ 的产生显著增加.相反,未接触过抗原的T-淋巴细胞(CD4⁺CD45RA⁺)只有十分低下的反应.另外,在IL-2 和IL-10 存在条件下,BLP同样显著介导了记忆T-淋巴细胞(CD4⁺CD25RO⁺)的增殖和IFN- γ 的分泌.而未接触过抗原的T-淋巴细胞仍不具有相应的效应产生.

4.9 TLRs 在人初始 B-淋巴细胞和记忆 B-淋巴细胞的不同表达

很久以前,免疫学家就已观察到LPS和CpG能诱导B-细胞增殖和分化.这表明TLR可能直接激活B-细胞. Bernasconi等人 [25] 应用抗CD19 磁性微珠从人外周血中分离到 CD19 阳性细胞.随后,用适当的抗 CD14, CD3, CD16 和抗 IgM, IgD, IgG 或 IgA 的组合,制备纯化的初始 B-细胞(CD27⁻), IgM 记忆 B-细胞(CD27⁺, IgG⁻, IgA⁻)和转换记忆 B-细胞(CD27⁺, IgM⁻, IgD⁻),并进一步检查 TLR1-10 的 mRNA 表达.结果表明,初始 B-细胞和记忆 B-细胞的 TLR1, 2 表达较低.然而,在记忆 B-淋巴细胞 TLR6, 7, 9, 10 以及 TLR-样基因 P105 和 TLR4-相关受体 MD-1 和 MD-2 基因的表达显著增加,其中 TLR7 和 TLR9 在 IgM-和转换记忆 B-细胞的表达要比初始 B-细胞高出许多,提示 TLR 基因是偏好在记忆 B-细胞中表达,似乎与它们的发育相关.他们还发现,IL-2 和 IL-10 能协同 CpG 在无 B-细胞受体(BCR)刺激条件下,诱

导 IgM 记忆 B-细胞和免疫球蛋白类别转换记忆 B-细胞的增殖.

5 TLR 激动剂的治疗潜能

5.1 TLR7 在治疗 B-细胞肿瘤中的应用

Shi等人 [12] 研究表明,应用TLR7 配体(咪唑喹啉 S28690)能够使慢性淋巴细胞白血病(B-细胞肿瘤)患者对S28690 接着再刺激产生耐受,但这些耐受态细胞增加了对化疗药物的敏感性.为了了解这一有趣现象的效应机理,他们的研究显示, S28690 引起的 TLR7 激活与TLR7-MyD88-JNK/NF- κ B信号通路活化和TNF- α 分泌增加相关.而S28690 再刺激产生的耐受主要是JNK和NF- κ B活性受抑制所致.这些结果指出,利用TLR7 信号不仅能诱导B-淋巴细胞肿瘤的耐受状态,而且可改善对肿瘤的免疫治疗的效果.

5.2 TLR9 激动剂在非霍奇金淋巴瘤的临床 期治疗

寡脱氧核苷酸含有未甲基化的CpG二核苷酸(CpG ODN),是TLR9 的激动剂,现已用来作为非霍奇金淋巴瘤(NHL)病人的治疗药物. CpG ODN对B-淋巴细胞具有诸多效应,如上调MHC- , MHC- 及 CD20, CD40, CD80 和CD86 表面标志和共刺激分子的表达.研究表明,TLR9 激动剂也能作用于非NHL 瘤细胞.尤其重要的是, CpG二核苷酸能使恶性B-淋巴细胞对抗肿瘤药物更为敏感 [26]. 目前,一种TLR9 的激动剂PF-3512676 已经在临床上用来治疗NHL病人 [26].

5.3 TLR9 激动剂用来增加皮肤 T-细胞淋巴瘤病人的 CD8T-细胞的抗肿瘤活性

皮肤 T-细胞淋巴瘤(CTCL)是源自皮肤的 CD4⁺ T-细胞单克隆恶性增殖所致的疾病.当 CTCL 合并外周血 CD4⁺ CD45RO⁺恶性 T-细胞侵犯则称之为 Sezary 综合征.此时,这些恶性 T-细胞将显著损害 Th1 的细胞免疫反应.例如, Th1 类型的细胞因子 IFN- γ 和 IL-2 的产生降低,而 Th2 类型的细胞因子 IL-4, IL-5 和 IL-10 的产生相对增加.已知 TLR9 激动剂 CpG-A (ODN2216)可显著刺激健康人外周血单核细胞产生 IFN- γ ,可这个效应在 CTCL 的外周血单核细胞上则不能显现.然而,应用 TLR9 激动剂的同时添加 IL-15, IFN- γ 的产生无论在健康人和 CTCL 病人,都能显著增加.由于 IL-15 的加入可以增加记忆 CD8⁺ T-细胞和 NK 细胞的绝对数.研究 CpG-A 和 IL-15 改善免疫

效应的机理,有助于指导病人的治疗 [27].

5.4 HIV Gap 蛋白和 TLR7/8 激动剂的应用

人免疫缺陷病毒(HIV)是一种反转录病毒,它能引起获得性免疫缺陷综合征(AIDS). HIV感染导致体液和细胞免疫的缺失. 然而,迄今为止尚未见有成功的疫苗来预防HIV的感染 [28]. Wille-Reece等人 [28,29]应用HIV Gap基因编码的Gap41 蛋白和TLR7/8 激动剂(3M-012)通过物理方法交联后,形成Gap-TLR7/8复合物,用来免疫灵长类动物(印度恒河短尾猴). 他们发现Gap-TLR7/8 复合物显著增加了Th1 和CD8T-细胞的数量和质量,强化了体内的抗体反应和记忆T-淋巴细胞的功能.

6 讨论与展望

本文所提供的证据不仅支持了这样一种论点,即TLRs是病原体的关键感应器,在调节免疫反应中起重要作用,而且还证明TLRs在CD4⁺和CD8⁺未接触过抗原的T-细胞、调节性/抑制性T-细胞、初始B-淋巴细胞和记忆B-细胞广泛表达. 这些资料显示,病原体或病原体相关分子模式(PAMPs)似乎应用抗原依赖的或抗原不依赖方式去触发宿主的适应性反应 [24]. 根据这些基本现象与原理,我们似乎可以考虑或认为,TLRs在适应性免疫系统的存在和显现,可能是长期自然选择的结果.

我们知道,适应性免疫的最重要结果是免疫记忆功能的建立 [30]. 一旦重新遇到相同的病原体,特异免疫记忆就能快速重新诱导抗原特异抗体和抗原特异效应T-淋巴细胞. 根据TLRs具有快速反应的天然免疫的功能,TLRs在适应性免疫细胞的广泛存在,也许有助于淋巴细胞对感染做出迅速反应. TLRs在记忆T-, B-淋巴细胞的表达,是否代表了一个重要的淋巴细胞记忆装置,用于迅速检测入侵的病原体和用来应对再次病原体感染而产生高效的放大反应?

本文也讨论了Tregs的抑制活性是可以通过TLRs来进行调变. 例如,一方面, LPS和鞭毛蛋白显著增加了CD4⁺ CD25⁺的抑制功能,以减少无控制的有害的炎症效应;另一方面,一些天然的和含有鸟嘌呤等核苷酸的DNA,尤其是poly G10能够显著抑制人Treg细胞的抑制功能. Peng等人 [19]应用过继输转poly G10

处理的Treg细胞到小鼠体内,证明Treg细胞介导的抗肿瘤抑制效应是可以逆转的. 另外, Shi等人 [12,31]的研究证明, CCL细胞上的TLR7 可通过与S28690 的作用,增加B-淋巴细胞肿瘤对化疗药物的敏感性. 这清楚地表明,用TLR受体的配体可以调变Treg细胞的性质与功能,它们表现出来的调变功能在基础研究和临床应用上无疑是十分重要的.

已知TLR的生理功能是对感染产生炎症效应和介导特异抗体与细胞免疫反应 [32]. Bernasconi等人 [25]的研究指出, B-细胞受体和抗原特异结合启动了TLRs的表达(尤其是TLR9 的显著表达),表明B-细胞特异抗原受体和B-细胞的TLR受体表达具有十分密切的、相互通讯的、不可分割的关系. 另外一个研究证实,早期B-淋巴细胞的体细胞高突变和免疫球蛋白种类的转换及抗体的多样性、高亲合性抗体的产生,不仅需要B-细胞受体,也必需有TLR的参与和调节 [33].

为什么丝虫感染病人T-淋巴细胞(CD3⁺CD56⁻) TLR1, TLR2 和TLR4 的表达受到显著抑制 [15]? 是否是寄生虫逃逸免疫监管的一种策略? T-淋巴细胞 TLR2 和TLR4 表达是否与人单核细胞的TLR2 和TLR4 表达或表达的调节信号有一定的相关性 [34]? 目前还未可知,值得深入研究.

TLR激动剂的CpG序列和它的对T-, B-淋巴细胞的免疫佐剂效应已成为吸引人的研究领域 [25]. 最近,一系列的研究策略用来提高抗肿瘤的免疫原性和特异免疫效果. 譬如,应用TLR激动剂或疫苗治疗肿瘤 [35-37]、预防流感 [38]、AIDS [28,29,39]、过敏性疾病 [40]、肝炎 [41]以及其他感染性疾病 [41]. 同时,临床也采用TLR的拮抗剂来治疗脓毒症和红斑狼疮 [41]. 显然,我们应小心地掌握好TLR作为基础疫苗的良性刺激效应和可能随之带来的有害自身免疫反应之间的一个重要的平衡关系 [42]. 另外,在肿瘤免疫调节中,注意通过激活抗肿瘤细胞、输入抗肿瘤效应T-细胞、保护免疫细胞的存活、维护长效免疫记忆、来校正因抗肿瘤效应细胞的功能紊乱和凋亡引起的机体免疫的失衡 [43]. 我们相信,会有更多的TLR在适应性免疫、肿瘤以及上述其他疾病中的重要研究成果不断出现,直接为基础与临床服务.

致谢 本文为纪念伊里亚·梅契尼柯夫获诺贝尔医学和生理学奖 100 周年而写. 感谢对本文做出贡献的每一位同仁.

参考文献

- 1 Hoebe K, Beutler B. TLRs as bacterial sensors. In: O'Neill L A, Brint E, eds. Toll-like Receptors in Inflammation. Basel, Boston, Berlin: Birkäuser Verlag, 2006. 1—17
- 2 Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signaling. *Nature*, 2004, 430: 257—263[doi]
- 3 Belvin M P, Anderson K V. A conserved signaling pathway: The *Drosophila* Toll-dorsal pathway. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1996, 12: 3343—3416
- 4 Lemaitre B E, Nicolas L, Michaut J M, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 1996, 86: 973—983[doi]
- 5 Poltorak A, He X L, Simirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutation in *Tlr4* gene. *Science*, 1998, 282: 2085—2088[doi]
- 6 Zarembek K A, Godowski P J. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential of Toll-like receptor mRNAs in leukocytes in response to microbes, their products, cytokines. *J Immunol*, 2002, 168: 554—561
- 7 McGettrick A F, O'Neill L A. Toll-like receptors: Key activators of leukocytes and regulator of haematopoiesis. *Brit J Haematology*, 2007, 139: 185—193[doi]
- 8 Ligoxygakis P, Bulet P, Reichhart J M. Critical evaluation of the role of the toll-like receptor 18-wheeler in the host defense of *Drosophila*. *EMBO Rep*, 2002, 3: 666—673[doi]
- 9 Uematsu S, Akira S. Toll-like receptors and type I interferons. *J Biol Chem*, 2007, 282: 15319—15323[doi]
- 10 Akira S. Mammalian Toll-like receptors. *Curr Opin Immun*, 2003, 15: 5—11[doi]
- 11 Hayden M S, Ghosh S. NF- κ B in the innate immune system. In: Ghosh S, ed. *Hand Book of Transcription Factor NF-kappa B*. London: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2007. 107—129
- 12 Shi Y, White D, He L, et al. Toll-like receptor tolerizes malignant B cells and enhances killing by cytotoxic agents. *Cancer Res*, 2007, 67: 1823—1831[doi]
- 13 Wang J, Shao Y, Bennett T A, et al. The functional effects of physical interactions among Toll-like receptors 7, 8, 9. *J Biol Chem*, 2006, 281: 37427—37434[doi]
- 14 Gururajan M, Jacob J, Pulendran B. Toll-like receptor expression and responsiveness of distinct murine splenic and mucosal B-cell subsets. *PLoS ONE*, 2007, 2: e863(1-7) [doi]
- 15 Babu S, Blauvelt C P, Kumaraswami V, et al. Diminished T cell TLR expression and function modulated the immune response in human filarial infection. *J Immunol*, 2006, 176: 3885—3889
- 16 Weaver C T, Hatton R D, Mangan P R, et al. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25: 821—852[doi]
- 17 Wei L, Lurance A, Elias K M, et al. IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT-dependent manner. *J Biol Chem*, 2007, 282: 34605—34610[doi]
- 18 Imanishi T, Hara H, Susuki S, et al. TLR2 directly triggers Th1 effector functions. *J Immunol*, 2007, 178: 6715—6719
- 19 Peng G, Guo Z, Kuniwa Y, et al. Toll-like receptor 8 mediated-reversal of CD4⁺ regulatory T cell function. *Science*, 2005, 309: 1380—1384[doi]
- 20 Jonuleit H, Schmitt E. The regulatory T cell family: Distinct subsets and their interrelations. *J Immunol*, 2003, 171: 6323—6327
- 21 Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, et al. Regulatory T cells selectively express Toll-like receptors and are activated by Lipopolysaccharide. *J Exp Med*, 2003, 197: 403—411[doi]
- 22 Crellin N K, Garcia R V, Hadisfar O, et al. Human CD4⁺ T cell expressivemTLR5 and its ligand flagellin enhances the suppressive capacity and expression of FOXP3 in CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells. *J Immunol*, 2005, 175: 8051—8059
- 23 Bell M P, Svingen P A, Rahman M K, et al. FOXP3 regulates TLR10 expression in human T regulatory cells. *J Immunol*, 2007, 179: 1893—1900
- 24 Xu D, Komai-Koma M, Liew F Y. Expression and function of Toll-like receptor on T cells. *Cell Immunol*, 2005, 233: 85—89[doi]
- 25 Bernasconi N, Nobuyuki O, Lanzavecchia A. A role for Toll-like receptors in acquired immunity: Up-regulation of TLR9 by BCR triggering in naive B cells and constitutive expression in memory B cells. *Blood*, 2003, 101: 4500—4504[doi]
- 26 Leonard J P, Link B K, Emmanouilides C, et al. Phase I trial of Toll-like receptor 9 agonist PF-3512676 with and following Rituximab in patients with recurrent indolent and aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 6168—6174[doi]
- 27 Wysocka M, Benoit B M, Newton S, et al. Enhancement of the host immune responses in cutaneous T-cell lymphoma by CpG oli-

- godeoxynucleoides and IL-15. *Blood*, 2004, 104: 4142—4149[doi]
- 28 Wille-Reece U, Flynn B J, Loré K, et al. Toll-like receptor agonists influence the magnitude and quality of memory T cell responses after prime-boost immunization in nonhuman primates. *J Exp Med*, 2006, 203: 1249—1258[doi]
- 29 Wille-Reece U, Flynn B J, Loré K, et al. HIV Gag protein conjugated to a Toll-like receptor 7/8 agonist improves the magnitude and quality of Th1 and CD8⁺ T cell responses in nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 15190—15194[doi]
- 30 Janway C A Jr, Travers P, Walpot M, et al. Adaptive immunity to infection. In: Janway C, Travers P, Walpot M, eds. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 6th ed. London: Garland Publishers, Taylor & Francis Group, 2005. 409—459
- 31 Spaner D E, Masellis A. Toll-like receptor agonists in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 2007, 21: 53—60[doi]
- 32 Janway C A Jr, Travers P, Walpot M, et al. Manipulation of the immune response. In: Janway C, Travers P, Walpot M, eds. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 6th ed. London: Garland Publishers, Taylor & Francis Group, 2005. 613—662
- 33 Han J H, Akira S, Calame K, et al. Class switch recombination and somatic hypermutation in early mouse B cells are mediated by B cell and Toll-like receptor. *Immunity*, 2007, 27: 64—75[doi]
- 34 Li C, Wang Y, Gao L, et al. Expression of toll-like receptor 2 and 4 and CD14 during differentiation of HL-60 cells induced by phorbol 12-myristate 13-acetate and 1 α , 25-dihydroxy-vitamin D₃. *Cell Growth Differ*, 2002, 13: 27—38
- 35 Celis E. Toll-like receptor ligands energize peptide vaccines through multiple paths. *Cancer Res*, 2007, 67: 7945—7947[doi]
- 36 Kawakami Y, Fujita T, Kudo C, et al. Dendritic cell based personalized immunotherapy based on cancer antigen research. *Front Biosci*, 2008, 13: 1952—1958[doi]
- 37 Roses R E, Xu M, Koski G K, et al. Radiation therapy and Toll-like receptor signaling: Implications for the treatment of cancer. *Oncogene*, 2008, 27: 200—207[doi]
- 38 Huleatt J W, Nakaar V, Desai P, et al. Potent immunogenicity and efficacy of a universal influenza vaccine candidate comprising a recombinant fusion protein linking influenza M2e to the TLR5 ligand flagellin. *Vaccine*, 2008, 26: 201—214[doi]
- 39 Iqbal S M, Kaul R. Mucosal innate immunity as a determinant of HIV susceptibility. *Am J Repr Immunol*, 2008, 59: 44—54
- 40 Goldman M. Translational mini-review series on Toll-like receptors: Toll-like receptor ligands as novel pharmaceuticals for allergic disorders. *Clin Exp Immunol*, 2007, 147: 208—216
- 41 Kanzler H, Barrat F J, Hessel E M, et al. Therapeutic targeting of innate immunity with Toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat Med*, 2007, 13: 552—559[doi]
- 42 Goriely S, Goldman M. From tolerance to autoimmunity: Is there a risk in early life vaccination? *J Comp Path*, 2007, 137: S57—S61[doi]
- 43 Whiteside T L. Immune suppression in cancer: Effect on immune cells, mechanisms and future therapeutic intervention. *Semin Cancer Biol*, 2006, 16: 3—15[doi]