

诱导 TLR 耐受对 SLE 的治疗潜能

刘芳¹, 陈致瑜², 黄广静¹, 赵莉莉², 罗振华², 余福勋², 陈辉^{2#}, 聂瑛洁^{2#}

(1. 贵州大学 医学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省人民医院 中心实验室, 贵阳 550000)

摘要: SLE 是一种累及全身各系统和器官的慢性自身免疫性疾病, 主要特征为体内淋巴细胞异常活化及大量自身抗体异常累积, 致使大量异常自身免疫复合物沉积, 最终导致多系统器官受损。临床上仍以糖皮质激素联合环磷酰胺等非特异性免疫抑制剂治疗为主, 但长期用药导致的毒副作用使 SLE 患者的平均寿命明显低于健康人。因此, 急需探索安全可靠的治疗方法。TLR 是一类重要的模式识别受体, 研究表明, TLR 在 SLE 的发生发展中起着重要的作用。TLR 既可以激活成熟的 DC 诱导免疫反应, 又可通过致 DC 耐受诱导免疫耐受。研究表明, 诱导 TLR 免疫耐受是一种可控性的免疫治疗, 可调节与平衡机体的免疫功能, 由此其有望成为治疗 SLE 的一种新方法。文章主要就诱导 TLR 耐受对 SLE 的潜在治疗价值进行综述。

关键词: 系统性红斑狼疮; Toll 样受体; 免疫耐受

中图分类号: R593.24+1

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)02-0174-04

SLE 是一种慢性自身免疫性疾病, 好发于 15~40 岁育龄期女性, 主要特征为体内大量淋巴细胞的异常活化以及大量自身抗体和免疫复合物的异常累积^[1]。成人 SLE 发病率为 0.04%~0.16%^[2], 病因复杂, 与遗传、环境及内分泌等多种因素有关。典型 SLE 的临床诊断较容易, 但对于隐匿性起病、发病早期和症状不典型的 SLE 临床诊断往往较困难^[3]。SLE 不仅给患者的生活造成严重影响, 也给患者家庭和社会带来沉重的负担。有研究显示, SLE 患者对各类医疗服务的使用率显著高于非 SLE 患者^[4]。

目前临床 SLE 的治疗仍以激素为主, 但研究发现 SLE 患者的激素服用依从性较差^[5]。其他常用药物, 如非甾体抗炎药, 疗效也不甚理想, 且存在严重毒副作用, 造成潜在的后遗症、致残、致死^[6-7]。虽然生物治疗法已不断推出并见临床报道, 例如间充质干细胞、DC、抗 CD20 抗体等疗法^[8-9], 但 TLR 耐受在 SLE 治疗中的研究尚处于临床试验阶

段^[10], 迄今还没有较有效、安全的方法问世。有研究者提出, 对于 SLE 的治疗不仅要探索其临床表现, 更要研究其相关基因及免疫系统在该疾病中的作用机制^[11]。现有的研究表明 TLR 在 SLE 的发生发展中起着重要的作用, 诱导 TLR 耐受有望成为治疗 SLE 的一种新疗法。本文主要就诱导 TLR 耐受对 SLE 的潜在治疗价值进行综述, 以期探索新的 SLE 治疗方法提供参考。

1 TLR

TLR 是 1985 年首次被发现的表达在哺乳动物细胞表面的 I 型跨膜糖蛋白, 是模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 中的一员^[12], 主要由胞内区、跨膜区和胞外区 3 部分组成。其胞外区是和配体相结合的特异性部位, 由亮氨酸重复序列组成^[13]。跨膜区为富含半胱氨酸的结构域。胞内区结构相对保守, 能和胞内各衔接蛋白相互作用以活化下游信号通路。目前, 在人类基因组中发现 11 个 TLR 家族成员, TLR1~TLR11。其中, TLR1、2、4、5、6、10 定位于细胞膜, 可结合细胞表面的配体; TLR3、7、8、9 定位于细胞内的细胞器表面, 是核酸成分的受体^[14]。TLR 可以识别病原微生物的结构组分和代谢产物并激活机体产生免疫应答, 构成了机体免疫的第一道防线, 在固有免疫和适应性免疫中均发挥重要作用^[15]。TLR 首先通过启动细胞的信号转导通路,

收稿日期: 2018-04-17

基金项目: 国家自然科学基金 (8156060069); 黔人项目资助 [合同 (2013)05 号]; 贵州省人民医院博士基金资助项目 [GZSYBS(2016)03]; 黔科合平台人才 [(2018)5706 号]

作者简介: 刘芳 (1994-), 女, 硕士生, 主要从事分子生物学及免疫学研究

通信作者: 聂瑛洁 (E-mail: nienyj@hotmail.com); 陈辉 (E-mail: kje264@sina.com); # 为共同通信作者

激活机体的免疫细胞来触发固有免疫反应,然后通过促进APC成熟来诱导机体触发适应性免疫^[16]。TLR的信号转导级联反应主要包括髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖型及MyD88非依赖型通路。几乎所有的TLR都通过MyD88依赖途径发挥作用,而非依赖途径仅限于TLR3和TLR4,其作用主要在于调控DC的成熟和免疫调节分子如CD86、MHC等的表达^[16-17]。

2 TLR耐受

TLR耐受是指小剂量多次接触TLR受体激动剂或配体后,引起相应的TLR对受体激动剂或配体的再刺激产生免疫无应答或应答能力降低的现象^[18]。有研究表明,在小鼠心脏移植中利用LPS和CpG岛(CpG island) DNA可诱导产生移植物的免疫耐受状态,若同样的TLR激动剂应用于MyD88缺失的小鼠体内,则将产生免疫耐受的维持现象^[19]。R848是一种TLR7/8配体,具有强大的抗病毒和抗肿瘤作用,是被用作增强Th1免疫应答的新型免疫调节剂^[20]。近年来有研究发现,R848能诱导小鼠对再次刺激产生低反应性。这种耐受不仅涉及髓样树突状细胞(myeloid dendritic cell, mDC),还涉及浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC),能引起IFN- α 分泌水平下降。目前已有利用Pam3CSK4、LPS、R848分别成功诱导TLR2、TLR4、TLR7耐受的报道,且其不会引起全身免疫抑制,试验动物对其他感染仍然保持原有的免疫反应^[18]。

3 TLR在SLE发病机制中的作用

SLE是一种慢性系统性自身免疫性疾病,会导致患者全身各系统器官损害。它与遗传、环境、体内激素水平及某些药物共同作用有关,主要表现为细胞与体液免疫功能异常,如T淋巴细胞、B淋巴细胞、DC、间充质干细胞、NK细胞等免疫细胞功能障碍及细胞因子异常激活^[21]。在SLE的发病过程中,T淋巴细胞的异常发育、成熟及炎症放大都会导致T、B淋巴细胞间的信号转导发生改变,进而对B淋巴细胞的发育、成熟及浆细胞的功能产生重要影响,最终导致SLE。TLR在T淋巴细胞的发育、成熟过程中起着重要作用,无论是膜型TLR还是胞内型TLR激活的信号转导通路均可以通过

直接和间接的方式调节Treg的增殖和免疫抑制功能,从而平衡Treg与效应T淋巴细胞的功能,并影响机体免疫应答结局^[22]。如刘昱^[23]的研究发现:膜型TLR2的激活可以增强CD4⁺T淋巴细胞的自身反应,促进炎性细胞因子分泌,抑制Foxp3产生,并且激活后可以通过调节IL-17a和IL-17f启动子区组蛋白甲基化和乙酰化修饰,从而促进IL-17产生,最终导致Treg/Th17失衡,参与SLE的发病。此外,也有研究发现胞内型TLR3、TLR7、TLR9均在SLE的发生发展中起重要的作用^[24],且TLR4的激活能促进转基因小鼠SLE的发生^[25]。因此,严格控制与调节TLR,抑制TLR激活,诱导TLR耐受有望改善和缓解SLE。

由于TLR家族间存在一定的拮抗或协同作用,如在SLE小鼠模型中,TLR9能和TLR7竞争性结合Unc93b1,使模型中TLR9缺失,从而导致更强的TLR7反应,出现更严重的临床反应^[26-27]。由此TLR之间的相互影响使得TLR调控也成为了目前研究的重点和难点。如有研究者尝试将TLR敲除以达到治疗SLE的目的,但发现敲除TLR后,小鼠的肾脏炎症增强,反而促进了B细胞的发育、激活以及T细胞的活化和Th1反应,同时TLR7的功能明显增强,导致小鼠的病情更加严重^[28]。

一方面TLR的过度激活可以通过产生持续的促炎细胞因子和趋化因子打破免疫稳态,从而导致SLE的发生发展,而另一方面TLR在维持自身免疫耐受及固有免疫中发挥着不可或缺的作用,能在一定程度上防止疾病的发生发展,这使得完全抑制和敲除TLR将会造成一些预料之外的结果。而TLR耐受的诱导不会引起全身免疫抑制,试验动物对其他感染仍然能在一定程度上保持原有的免疫反应。目前已有研究发现,TLR耐受的诱导能使T淋巴细胞向Treg表型转变并抑制TLR信号通路中的关键炎症介质,下调相关促炎基因的表达^[18]。在疟疾感染过程中TLR耐受也会影响T淋巴细胞的激活^[29],同时在NZB(New Zealand Black)小鼠模型中,TLR耐受的诱导降低了IFN- α 的产生^[30]。有研究发现,在自身免疫性中枢神经系统疾病中,诱导TLR2耐受能使中枢神经系统中的巨噬细胞活化减少,特异性促炎性巨噬细胞群减少以及Th17减少,病情减弱^[31],诱导TLR7耐受能降低相关炎症反应^[32],此外,诱导TLR2耐

受还能对自身免疫性糖尿病起到抑制作用^[33]。这些研究均表明,通过诱导 TLR 耐受有望成为一种免疫性相关疾病的新疗法。且也有研究者提出 TLR 信号的抑制剂/拮抗剂可能对治疗 SLE 有益^[34]。Desnues 等^[35]研究 TLR 在 SLE 模型小鼠中的作用时发现,某些化学合成的 TLR 拮抗剂能在一定程度上改善模型小鼠的疾病程度。此外,抑制 TLR7 或 TLR7 + TLR9 可减轻实验性狼疮肾炎和肺损伤^[36]。这些均提示,诱导 TLR 耐受有望成为一种新的 SLE 治疗方法。

4 结语

SLE 是一种累及全身各系统器官的慢性自身免疫性疾病,主要危害育龄期妇女,目前其发病机制尚不明确,只知道涉及遗传环境及内分泌等多种因素。其早期诊断水平也有待进一步提高,具有较高的致残率和致死率,给患者、家庭及社会带来了沉重的经济压力和心理负担。已有大量研究表明 TLR 在 SLE 的发生和发展过程中发挥着十分重要的作用,其异常表达和激活会导致 SLE 患者的病情明显加重,因此对 TLR 的调节对 SLE 的缓解和治疗具有重要意义。但 TLR 也在固有免疫中发挥着不可或缺的作用,这就使得如何调节和控制 TLR 的表达成为了目前的研究重点和难点。已有文章表明直接敲除 TLR 或使用抑制剂均达不到理想的效果,并且还有可能带来预料之外的危害。而 TLR 耐受的诱导不会引起全身免疫抑制,试验动物对其他感染仍然保持正常的免疫反应。如何诱导 TLR 耐受进而对 TLR 的表达和作用进行有效的调节最终达到缓解和治疗 SLE 的目的是一个研究重点,仍有待于进一步的研究和探索,这一重点和难点的突破将对 SLE 的治疗具有重要意义。

参考文献

[1] Yilmaz-Oner S, Oner C, Dogukan FM, *et al.* Anxiety and depression predict quality of Life in Turkish patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2015, 3(3): 360-365.

[2] Rees F, Doherty M, Grainge M, *et al.* The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in the UK, 1999-2012[J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75: 136-141.

[3] 顾珺,沈朝斌. 儿童系统性红斑狼疮诊断与治疗研究现状 [J]. *中华妇幼临床医学杂志*, 2017, 13(4): 378-383.

[4] Cindy G, Manan S, Eileen F. The prevalence and burden of systemic lupus erythematosus in a medicare population: Ret-

rospective analysis of medicare claims[J]. *Cost Eff Resour Alloc*, 2015, 13: 9.

[5] 李琳,陈胜男,李立人,等. 系统性红斑狼疮患者激素服用依从性影响因素的研究进展[J]. *风湿病与关节炎*, 2017, 6(12): 71-76.

[6] Harirforoosh S, Asghar W, Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: An update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications[J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2013, 16(5): 821-847.

[7] FDA. FDA drug safety communication: FDA strengthens warning that non-aspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) can cause heart attacks or strokes[J]. US Department of Health and Human Services, 2015, 32(4): 6.

[8] Iwata S, Saito K, Hirata S, *et al.* Efficacy and safety of anti-CD20 antibody rituximab for patients with refractory systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2018, (27)5: 802-811.

[9] Mackern-Oberti JP, Llanos C, Vega F, *et al.* Role of dendritic cells in the initiation, progress and modulation of systemic autoimmune diseases[J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(2): 127-139.

[10] Yan-wei W, Wei T, Jian-ping Z. Toll-like receptors: Potential targets for lupus treatment [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(12): 1395-1407.

[11] Anna-Marie F. A timely review series on SLE[J]. *Rheumatology*, 2017, 56: i1-i2.

[12] 赵泉卿,冷静. Toll 样受体 8 激动剂在免疫治疗中的研究进展[J]. *免疫学杂志*, 2017, 33(9): 813-818.

[13] 邓汉强,苏冰. MEKK3 信号通路在炎症和免疫应答中的研究[J]. *现代免疫学*, 2014, 34(1): 56-60.

[14] 鲍雷,史明,姚媛菲,等. Toll 样受体与肿瘤免疫[J]. *现代生物医学展*, 2015, 4: 771-773.

[15] Lee CC, Avalos AM, Ploegh HL. Accessory molecules for Toll-like receptors and their function[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(3): 168-179.

[16] 程睿,吴利先,王国富. TLRs 在介导结核分枝杆菌感染免疫反应中作用的研究进展[J]. *中国病原生物学杂志*, 2018, 12(4): 436-439.

[17] 毕艳,伊正君,付玉荣,等. TLRs 在结核杆菌感染中的作用的研究进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2015, 31(1): 70-73.

[18] Zogas N, Karponi G, Iordanidis F, *et al.* The ex vivo toll-like receptor 7 tolerance induction in donor lymphocytes prevents murine acute graft-versus-host disease[J]. *Cytherapy*, 2018, 20(1): 149-164.

[19] Zhai Y, Meng L, Gao F, *et al.* CD4⁺ T regulatory cell induction and function in transplant recipients after CD154 blockade is TLR4 independent[J]. *J Immunol*, 2006, 176(10): 5988-5994.

[20] Shen E, Lu L, Wu C. TLR7/8 ligand, R-848, inhibits IgE synthesis by acting directly on B lymphocytes[J]. *Scand J Immunol*, 2008, 67(6): 560-568.

[21] Nie YJ, Mok MY, Chan GC, *et al.* Phenotypic and function-

- al abnormalities of bone marrow-derived dendritic cells in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(3): 91-103.
- [22] 张潮, 戎瑞明. Toll样受体与调节性T细胞: 对免疫系统“调节者”的调节作用[C]//浙江省科学技术学会. 2013中国器官移植大会论文汇编. 杭州: 浙江省科学技术学会, 2013: 377.
- [23] 刘昱. Toll样受体2(TLR2)在系统性红斑狼疮发病机制中的作用及其分子机制[D]. 长沙: 中南大学湘雅二医院, 2014.
- [24] Klonowska-Szymczyk A, Kulczycka-Siennicka L, Robak T, *et al*. The impact of agonists and antagonists of TLR3 and TLR9 on concentrations of IL-6, IL10 and sIL-2R in culture supernatants of peripheral blood mononuclear cells derived from patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2017, 71: 867-875.
- [25] Lee TP, Huang JC, Liu CJ, *et al*. Interactions of surface-expressed TLR-4 and endosomal TLR-9 accelerate lupus progression in anti-dsDNA antibody transgenic mice[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2014, 239(6): 715-723.
- [26] Fukui R, Saitoh S, Kanno A, *et al*. Unc93B1 restricts systemic lethal inflammation by orchestrating Toll-like receptor 7 and 9 trafficking[J]. *Immunity*, 2011, 35(1): 69-81.
- [27] Lee BL, Moon JE, Shu JH, *et al*. UNC93B1 mediates differential trafficking of endosomal TLRs[J]. *Elife*, 2013, 2: e00291.
- [28] Liu Y, Seto NL, Carmona-Rivera C, *et al*. Accelerated model of lupus autoimmunity and vasculopathy driven by toll like receptor 7/9 imbalance[J]. *Lupus Sci Med*, 2018, 5(1): 249-259.
- [29] Perry JA, Olver CS, Burnett RC, *et al*. Cutting edge: the acquisition of TLR tolerance during malaria infection impacts T cell activation[J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 5921-5925.
- [30] Pau E, Cheung YH, Loh C, *et al*. TLR tolerance reduces IFN-alpha production despite plasmacytoid dendritic cell expansion and anti-nuclear antibodies in NZB bicongenic mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36761.
- [31] Anstadt EJ, Fujiwara M, Wasko N, *et al*. TLR Tolerance as a Treatment for Central Nervous System Autoimmunity[J]. *J Immunol*, 2016, 197(6): 2110-2118.
- [32] Hayashi T, Gray CS, Chan M, *et al*. Prevention of autoimmune disease by induction of tolerance to Toll-like receptor 7[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(8): 2764-2769.
- [33] Kim DH, Lee JC, Kim S, *et al*. Inhibition of autoimmune diabetes by TLR2 tolerance[J]. *J Immunol*, 2011, 187(10): 5211-5220.
- [34] Gao W, Xiong Y, Li Q, *et al*. Inhibition of toll-like receptor signaling as a promising therapy for inflammatory diseases: A journey from molecular to nano therapeutics[J]. *Front Physiol*, 2017, 19(8): 508.
- [35] Desnues B, Macedo AB, Rousselqueval A, *et al*. TLR8 on dendritic cells and TLR9 on B cells restrain TLR7-mediated spontaneous autoimmunity in C57BL/6 mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(4): 1497-1502.
- [36] Kulkarni OP, Ramanjaneyulu A, Kulkarni OP, *et al*. Inhibition of Toll-like receptor-7 (TLR-7) or TLR-7 plus TLR-9 attenuates glomerulonephritis and lung injury in experimental lupus[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(6): 1721-1731.