

· 综述 ·

Toll样受体7介导免疫炎症与类风湿关节炎的发病机制

李娟娟, 高惠英

山西医科大学第二医院风湿免疫科, 山西 太原 030001

摘要: Toll样受体 (TLRs) 是一种模式识别受体, 表达于多种不同类型的细胞, 其在炎症反应、细胞信号转导和免疫监视中均起重要作用。TLRs 通过识别各自不同的配体, 触发髓样细胞分化因子 88 (MyD88) 依赖性和非依赖性通路, 导致促炎性细胞因子和共刺激分子的激活, 从而诱发局部炎症反应。而自身免疫性疾病的发生与免疫细胞及免疫因子异常相关。有研究表明, TLR7 参与了类风湿关节炎的发生、发展。本文对 TLR7 及其参与类风湿关节炎发病机制的研究进展进行综述, 旨在为该疾病的诊疗提供新的思路与理论依据。

关键词: 类风湿关节炎; Toll样受体7; 辅助性T细胞17; 调节性T细胞; 巨噬细胞; 破骨细胞

中图分类号: R593.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2022)10-1435-04

Toll-like receptor 7 in immune inflammation and the pathogenesis of rheumatoid arthritis

LI Juan-juan, GAO Hui-ying

*Department of Rheumatology, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China**Corresponding author: GAO Hui-ying, E-mail: gaohuiying168@163.com*

Abstract: Toll-like receptor (TLRs) is a pattern recognition receptor expressed in many different types of cells. It plays an important role in cellular inflammatory response, signal transduction and immune surveillance. By recognizing a large variety of ligands, TLRs triggers myeloid differentiation factor 88 (MyD88)-dependent and independent pathways of myeloid cells, leading to the activation of pro-inflammatory cytokines and costimulatory molecules, thus inducing local inflammatory response. The occurrence of autoimmune diseases is related to the abnormality of immune cells and their factors. Several studies have determined that TLR7 is involved in the occurrence and development of rheumatoid arthritis (RA). This article reviews the research progress of TLR7 and its involvement in RA pathogenesis to provide new ideas and theoretical basis for the diagnosis and treatment of the disease.

Keywords: Rheumatoid arthritis; Toll-like receptor 7; T-helper 17 cell; Regulatory T cell; Macrophage; Osteoclast

Fund program: Key Research and Development Project of Shanxi Province (201803D31130)

Toll样受体(Toll like receptors, TLRs)是模式识别受体的一种,能够有效激活不同类型的细胞,大多数在免疫细胞表达,也可以在其他细胞表达。TLRs为膜结合蛋白,可识别病原体不同的分子结构,即病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),还可识别损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)。PAMPs或DAMPs通过与相应的TLRs结合,可传递信号导致促炎症细胞因子和共刺激分子的合成和分泌,并将巨噬细胞和中性粒细胞聚集于炎症部位,从而促进炎症反应的发生^[1]。TLR7是TLRs的重要家族成员,其在介导免疫炎症中发挥重要作用,

本文就TLR7在类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)中的作用及机制进行综述。

1 TLR7的生物学功能

1.1 TLR7结构及家族成员和生物学功能 TLR7的结构特征符合TLRs共同的结构特征,是一种I型跨膜蛋白受体,由三个结构域组成,即N-末端为富含亮氨酸重复序列组成的配体识别结构域、中央跨膜锚定区域和C端细胞质Toll/IL-1受体(TIR)结构域。TIR能够将TLR偶联到含有TIR结构域的接头蛋白上,以触发下游信号转导。到目前为止,在哺乳动物

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2022.10.021

基金项目: 山西省重点研发计划项目(201803D31130)

通信作者: 高惠英, E-mail: gaohuiying168@163.com

出版日期: 2022-10-20

中已知有 13 个 TLR,其中 TLR1 到 TLR11 在人和小鼠之间是共享的。TLR 1、2、4、5、6 和 10 表达于细胞表面,它们被脂多糖(LPS)、鞭毛蛋白或细菌(脂蛋白)激活。而 TLR 3、7、8 和 9 则不同,它们位于细胞内含体,由核酸激活^[2]。TLRs 在炎症反应、细胞信号转导和免疫监视中均起重要作用。TLRs 通过识别各自不同的配体,触发髓样细胞分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖性和非依赖性通路,导致促炎性细胞因子和共刺激分子的激活,从而诱发局部炎症反应。

1.2 TLR7 分布及配体 TLR7 为一种细胞内受体,可表达于树突状细胞(dendritic cells, DCs)、巨噬细胞、自然杀伤(natural killer cell, NK)、T 和 B 淋巴细胞以及非免疫细胞上^[1]。浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC) 和 B 细胞是自然免疫和获得性免疫之间的重要调节者,在许多自身免疫性疾病中发挥核心作用。在此两种细胞内的溶酶体中独特地表达 TLR7,并分别识别细菌或病毒中的单链(single-stranded, Ss) RNA。除天然激动剂外,TLR7 还可被合成的类似核酸的咪唑啉类化合物或咪唑啉特或腺嘌呤衍生物激活^[1-2]。

2 TLR7 信号通路

TLRs 的生物学效应主要由 MyD88 依赖型和非 MyD88 依赖型传导途径介导。TLRs 中除了 TLR3 外,其他均可介导 MyD88 依赖型信号通路。TLR7 在内质网产生,首先被转运至溶酶体,通过与各自的配体相结合形成二聚体复合物使内部结构发生改变,从而招募接头蛋白 MyD88。MyD88 是 TLR 信号转导通路中一个关键的接头蛋白,其 C 端含 TIR 结构域与 TLR7 胞内区的 TIR 结合, N 端通过死亡结构域(death domain, DD) 募集下游含有 DD 结构域的信号分子,启动下游的炎症级联反应。其次,MyD88 的 DD 将 IL-1 受体相关激酶(IRAKs) 家族募集到 TLR,形成的复合体促进 IRAK4 的自磷酸化,磷酸化后的 IRAK4 又反过来激活 IRAK1,依次又激活 IRAK2^[3-4]。磷酸化后的 IRAK 从受体复合物中解离,可以与肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 结合,形成 MyD88-IRAKs-TRAF-6 复合物。该复合物可使转化生长因子(TGF)- β 活化的激酶激活,而后者又可激活核因子受体(nuclear factor, NF)- κ B 激酶抑制剂(IKK)复合物和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)^[1,5-6]。

IKK 复合物活化后使 NF- κ B 蛋白抑制剂(inhibitor of NF- κ B, I κ B) 磷酸化并降解,最终导致 NF- κ B 活化,从而促使 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 IL-18 等促炎因子产生^[6]。激活的 MAPK 信号通路则通过细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、JNK 和 p38 这三条信号级联反应,激活相关转录因子转入细胞核,最终形成转录因子激活蛋白 1(AP-1),进而调控 IL-1、IL-6 和 TNF- α 等促炎因子的转录^[5-6]。

此外,TLR7 在常规树突状细胞(conventional dendritic cell, cDC) 和巨噬细胞中能够激活 IRF1、IRF5 和 IRF7 等转录

因子,通过 MyD88-TRAF6 途径激活干扰素调节因子(IRF) 5 和 IRF7,介导下游促炎细胞因子的诱导,影响中性粒细胞流入炎症部位,诱导 I 型干扰素的分泌^[4,6](图 1)。

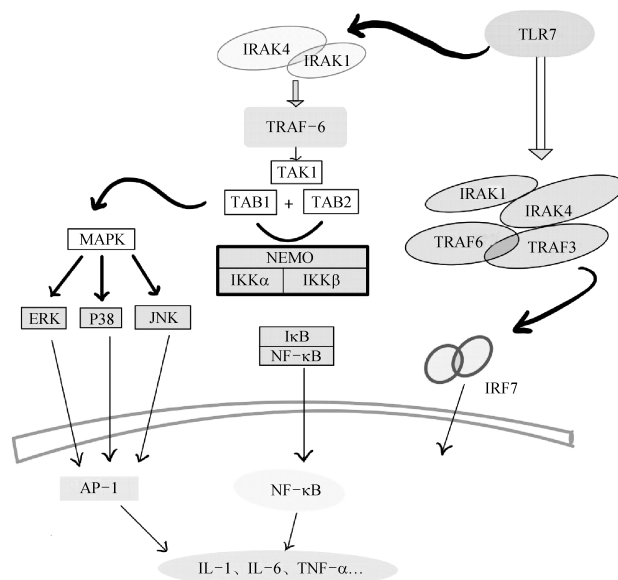


图 1 TLR7 介导的信号通路
Fig. 1 TLR7-mediated signal pathway

3 TLR7 在 RA 发病机制中的作用

RA 是一种以滑膜炎、软骨侵蚀和关节损害为特征的慢性炎症性自身免疫性疾病。其病因未明,可能与遗传、环境、细胞因子及多种免疫细胞相关,最终介导免疫破坏,导致天然免疫应答和获得性免疫应答被激活。有研究发现,TLR7 在 RA 中过表达,且参与疾病的发生、发展^[7]。RA 的滑膜被活化的免疫细胞尤其是巨噬细胞和 T 细胞浸润,导致促炎细胞因子和基质金属蛋白酶的慢性产生,导致炎症、软骨和骨骼退化。

3.1 遗传因素与环境因素 RA 病因尚未完全明确,但目前已知部分遗传因素和环境因素参与了发病。与 RA 易感性相关的遗传位点包括 HLA-DR4、PTPN22、PADI4、STAT4、CTLA4、TNF、IL-1 和 IL-18。增加 RA 风险和严重程度的主要环境因素是吸烟,特别是在 HLA-DRB1 患者中,可能还有感染和组织损伤的异常作用。TLR 是危险信号的前线传感器,在受伤或感染后由病原体释放^[8],从而介导炎症等作用。

3.2 TLR7 影响巨噬细胞极化 TLR7 在 RA 外周血单核细胞、滑膜组织、滑膜液和巨噬细胞高表达,通过外源性和内源性配体的连接促进炎症反应。TLR7 内源性配体在滑膜成纤维组织中富集,在外周血和滑膜组织中,内源性配体主要由巨噬细胞释放。单核细胞从血液中迁移到发炎的 RA 关节,在那里分化为巨噬细胞,巨噬细胞又分为炎症型(M1)和抗炎型(M2),其中 M1 介导组织损伤,而 M2 参与组织修复。研究表明,TLR7 可将静息状态(M0)及 M2 转化为 M1 从而介导组织损伤。并且,M1 还分泌 TNF 等细胞毒性因子,同时也参与 Th17 细胞发育,从而导致骨破坏和炎症反应。此外,IRF5 转

录因子也决定炎症巨噬细胞表型^[8]。

3.3 TLR7 诱导破骨细胞 (osteoclast, OC) 分化 Kim 等^[9]研究发现, TLR7 和 NF- κ B 受体活化因子配体 (NF- κ B receptor activator ligand, RANKL) 在 RA 滑膜成纤维细胞中共存, 提示 TLR7 激活途径导致 RANKL 的表达。RANKL 是 RA 滑膜中成熟 OC 与其前体细胞分化的关键分子, 滑膜成纤维细胞是 RA 中 RANKL 的主要来源之一。咪喹莫特是一种新的 TLR7 配体, 当 TLR7 被激活后, 前者通过上调 RA 滑膜成纤维细胞核因子 RANKL 的表达, 可以直接刺激 OC 分化, 并激活天然免疫, 从而促进 OC 的形成。此外, TLR7 活化也可诱导 TNF- α 和 IL-12 的产生以及 DCs 和 Th17 细胞的分化, 参与 OC 分化。Tang 等^[10] 研究还发现, 滑液中的细胞来源的细胞外小泡 (SEV) 也可促进 OC 分化, 这归因于高水平的 miR-574-5p 结合激活 (TLR) 7/8。SEV 的作用是通过携带一类非编码的微小 RNA (miR) 在滑膜微环境中介导细胞间的通讯。还有研究表明, 细胞内 miR-574-5p 的表达增加与前列腺素 E2 的合成增强直接相关, 而前列腺素 E2 是一种重要的促炎脂质介质, 介导 RA 的炎症^[10-11]。

TLR7 还可通过和 Pin1 相互作用调节 OC 的分化。Pin1, 一种肽基脯氨酰基顺反异构酶 (peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, PPIase), 除了在恶性肿瘤和神经退行性疾病中发挥作用外, 在免疫反应和相关疾病的调节中也起着关键作用。TLR7 可以激活异构酶 Pin1, 并特异性结合、激活下游信号 IRAK-1, 并促进其从受体复合物解离, 导致 IRF7 的核转位, 从而诱导干扰素 (IFN) 的释放。不仅如此, Pin1 还可上调 TLR7 的活性, 刺激 OC 的活化以及金属蛋白酶和促炎介质等的产生, 从而导致骨破坏和炎症反应^[12]。也有研究发现, Pin1 在 RA 患者中过表达, 且与疾病活动相关^[13]。

3.4 TLR7 与 B 细胞、pDC 及免疫炎症 pDC 和 B 细胞是自然免疫和获得性免疫之间的重要调节者, 在许多自身免疫性疾病中发挥核心作用。在此两种细胞内的溶酶体中独特地表达 TLR7 和 TLR9, 并分别识别细菌或病毒中的单链。DSR-6434 (TLR7 激动剂) 能有效地诱导 B 细胞产生 IL-6, 同时也能刺激 pDC 产生 IL-8 和 TNF^[2,14]。由上文可知, TLR7 可激活干扰素调节因子 (IRF) 5, 参与 B 细胞产生和功能^[15]。

3.5 TLR7 与 Th17/Treg 平衡失调 研究发现, Th17/Treg 平衡失调在 RA 中发挥重要作用。Th17 和 Treg 是新型的 CD4⁺ T 细胞亚群, 二者在分化中相互抑制且在功能上负性调节。有研究发现, 在 RA 滑膜组织和外周血中 Th17 和 Treg 均有表达, 二者分化还受细胞因子的调节, 而后者又与 RA 的自身免疫、慢性炎症和关节破坏有关。Th17 分泌 IL-17、IL-6、结合 CC 型趋化因子和 TNF- α 等, IL-17 不仅会上调 IL-17 / IL-17RA / STAT-3 信号通路活化 RANKL 表达, 同时上调破骨前体细胞上 RANK 的表达, 增强 RA 患者成纤维样滑膜细胞 (fibroblast-like synoviocytes, FLS) 上 RANKL 的表达, 进而刺激 OC 的生成与分化。而 Treg 细胞则分泌 TGF- β 、IL-10 等抑炎因子, 拮抗 Th17 细胞^[16-17]。

既往研究发现, TLR7 与配体结合后, 可导致 Th17 效应增

强, 而 Treg 数量减少^[10]。Miao 等^[18] 比较分析了原发性干燥综合征和 RA 患者以及健康人群外周血中 Th17 和 Treg 细胞绝对计数, 发现这些患者外周血中 Th17/Treg 比例失调, 且 Treg 细胞数和疾病活动呈负相关。TLR7 被激活后还可以抑制 Foxp3 的表达, 该因子主导 Treg 的发育和功能特性。TLR7 与 DC 结合后主要通过前述的 MAPK 信号通路中 ERK 信号通路, 从而增强自身反应性 Th17 应答。Xiao 等^[19] 在实验性自身免疫性葡萄膜炎模型小鼠中观察到, TLR7 配体活化由 ERK、JNK 和 p38 组成的 MAPK 信号通路, 并激活转录因子 AP-1, 但主要是通过激活 ERK 信号通路, 从而增加 DC 中 IL-23、IL-1b 和 IL-6 的表达, 而这些细胞因子是 Th17 细胞极化所必需, 与 Th17 的分化、增殖、稳定性有密切关系。不仅如此, TLR7 配体也可通过增强 IL-17 和维甲酸相关孤独受体 (ROR) γ t 的表达而促进 Th17 分化。ROR γ t 是协调 Th17 分化所必需的特异性核转录因子, 由 IL-6 和 IL-23 通过 STAT3 诱导^[20]。然而, 还有另一种研究结果, 局部应用 TLR7 配体咪喹莫特 (ImQ) 动员 pDC 反而可以显著减轻 RA 小鼠模型的炎症和骨侵蚀, 同时也伴随着 pDC 的局部募集和关节内中性粒细胞浸润的减少^[21]。

Roh 等^[22] 在小鼠模型中也发现, TLR7 信号还可以通过前述 IRF7 和 NF- κ B 激活诱导 I 型 IFN 和 TNF- α 的产生, 抑制 Treg。Zhou 等^[23] 在 SLE 小鼠模型中观察到, 半胱氨酰组织蛋白酶 K (cysteinyI cathepsin K, CatK) 可以激活 TLR7 表达, 导致 Treg 数量减少和免疫活性减低, 进而促进了疾病的发生、发展。还有研究表明, CatK 参与了巨噬细胞和 DC 内 TLR7 的激活, 通过与相应的配体结合导致下游信号适配器分子 MyD88 的磷酸化, 从而激活 NF- κ B 和 IFN 调节因子通路, 产生炎性细胞因子和 IFN (IFN- α 和 IFN- β), 抑制 Treg 的分化、功能及 Foxp3 表达, 而 IFN- α 反过来促进 TLR7 mRNA 表达, 二者形成正反馈循环。

4 总结与展望

综上所述, RA 发病机制复杂, TLR7 可能以直接或间接的方式, 并以多种机制调控 Th17 和 Treg, 尤其是抑制 Treg 增殖及功能, 从而导致 RA 的炎症、软骨和骨骼退化。到目前为止, 针对 TLR7 信号通路, 已经发展出多种拮抗途径, 包括抑制受体表达, 阻断受体与配体之间的连接, 使用抗体和小分子化合物抑制 TLR 途径等。如, IMO-3100 是一种针对 TLR7 和 TLR9 的新型脱氧核糖核酸双拮抗剂, 特异性抑制 TLR7 和 TLR9 的活性, 减少促炎因子 TNF- α 、IFN- α 和 IL-17 等产生, 从而减轻炎症反应^[24]。因此, TLR7 有望成为治疗 RA 的新靶点, 为疾病的诊断及治疗开拓新思路, 但有关其他 Toll 样受体在 RA 发生中的作用及其与 TLR7 的关系有待进一步探索。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Vidya MK, Kumar VG, Sejian V, et al. Toll-like receptors: significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals[J].

- Int Rev Immunol, 2018, 37(1): 20-36.
- [2] Berggren O, Pucholt P, Amcoff C, et al. Activation of plasmacytoid dendritic cells and B cells with two structurally different Toll-like receptor 7 agonists[J]. Scand J Immunol, 2020, 91(6): e12880.
- [3] de Nardo D, Balka KR, Cardona Gloria Y, et al. Interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4) plays a dual role in myddosome formation and Toll-like receptor signaling[J]. J Biol Chem, 2018, 293(39): 15195-15207.
- [4] Lin JY, Hu GB, Yu CH, et al. Molecular cloning and expression studies of the adapter molecule myeloid differentiation factor 88 (MyD88) in turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Dev Comp Immunol, 2015, 52(2): 166-171.
- [5] Anwar MA, Shah M, Kim J, et al. Recent clinical trends in Toll-like receptor targeting therapeutics[J]. Med Res Rev, 2019, 39(3): 1053-1090.
- [6] Patra MC, Shah M, Choi S. Toll-like receptor-induced cytokines as immunotherapeutic targets in cancers and autoimmune diseases[J]. Semin Cancer Biol, 2020, 64: 61-82.
- [7] Chamberlain ND, Kim SJ, Vila OM, et al. Ligation of TLR7 by rheumatoid arthritis synovial fluid single strand RNA induces transcription of TNF- α in monocytes[J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72(3): 418-426.
- [8] Elshabrawy HA, Essani AE, Szekanecz Z, et al. TLRs, future potential therapeutic targets for RA[J]. Autoimmun Rev, 2017, 16(2): 103-113.
- [9] Kim KW, Kim BM, Won JY, et al. Toll-like receptor 7 regulates osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis[J]. J Biochem, 2019, 166(3): 259-270.
- [10] Tang J, Cheng XL, Yi SY, et al. Euphorbia factor L2 ameliorates the progression of K/B_xN serum-induced arthritis by blocking TLR7 mediated IRAK4/IKK β /IRF₅ and NF- κ B signaling pathways [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 773592.
- [11] Saul MJ, Baumann I, Bruno A, et al. miR-574-5p as RNA decoy for CUGBP₁ stimulates human lung tumor growth by mPGES-1 induction[J]. FASEB J, 2019, 33(6): 6933-6947.
- [12] 乔丽娟, 高惠英, 张婷婷, 等. 类风湿关节炎患者外周血肽基脯氨酰顺反异构酶 1 与辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞分析及维甲酸对其的影响 [J]. 中华风湿病学杂志, 2021, 25(6): 373-377.
- Qiao LJ, Gao HY, Zhang TT, et al. The effect and analysis of retinoic acid on the peripheral blood Pin1 and T helper cell 17/regulatory cells of rheumatoid arthritis patients[J]. Chin J Rheumatol, 2021, 25(6): 373-377.
- [13] 乔丽娟, 高惠英. 维甲酸和维甲酸受体信号传导在自身免疫病的研究进展[J]. 中华风湿病学杂志, 2020, 24(11): 782-786.
- Qiao LJ, Gao HY. Research progress of retinoic acid and retinoic acid receptor signal transduction in autoimmune diseases [J]. Chin J Rheumatol, 2020, 24(11): 782-786.
- [14] Orlacchio A, Mazzone P. The role of toll-like receptors (TLRs) mediated inflammation in pancreatic cancer pathophysiology [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(23): 12743.
- [15] Duffau P, Menn-Josephy H, Cuda CM, et al. Promotion of inflammatory arthritis by interferon regulatory factor 5 in a mouse model [J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(12): 3146-3157.
- [16] Paradowska-Gorycka A, Wajda A, Romanowska-Próchnicka K, et al. Th17/treg-related transcriptional factor expression and cytokine profile in patients with rheumatoid arthritis [J]. Front Immunol, 2020, 11: 572858.
- [17] Zhang XM, Olsen N, Zheng SG. The progress and prospect of regulatory T cells in autoimmune diseases [J]. J Autoimmun, 2020, 111: 102461.
- [18] Miao M, Hao ZY, Guo YY, et al. Short-term and low-dose IL-2 therapy restores the Th17/Treg balance in the peripheral blood of patients with primary Sjögren's syndrome [J]. Ann Rheum Dis, 2018, 77(12): 1838-1840.
- [19] Xiao Q, Li X, Sun DM, et al. TLR7 engagement on dendritic cells enhances autoreactive Th17 responses via activation of ERK [J]. J Immunol, 2016, 197(10): 3820-3830.
- [20] Stadhouders R, Lubberts E, Hendriks RW. A cellular and molecular view of T helper 17 cell plasticity in autoimmunity [J]. J Autoimmun, 2018, 87: 1-15.
- [21] Nehmar R, Alsaleh G, Voisin B, et al. Therapeutic modulation of plasmacytoid dendritic cells in experimental arthritis [J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69(11): 2124-2135.
- [22] Roh YS, Kim JW, Park S, et al. Toll-like receptor-7 signaling promotes nonalcoholic steatohepatitis by inhibiting regulatory T cells in mice [J]. Am J Pathol, 2018, 188(11): 2574-2588.
- [23] Zhou Y, Chen HM, Liu L, et al. Cathepsin K deficiency ameliorates systemic lupus erythematosus-like manifestations in fas lpr mice [J]. J Immunol, 2017, 198(5): 1846-1854.
- [24] Huang X, Zhang X, Lu M. Recent trends in the development of Toll-like receptor 7/8-targeting therapeutics [J]. Expert Opin Drug Discov, 2021, 16(8): 869-880.

收稿日期:2022-01-27 修回日期:2022-04-05 编辑:石嘉莹