

Toll 样受体 4 在幽门螺旋杆菌感染致动脉粥样硬化中的作用

王苏平¹, 楚叶萌², 吴晓君¹ 综述, 赵红¹ 审校

(1. 大连市中心医院神经内科, 辽宁省大连市 116033; 2. 北京顺义区医院神经内科, 北京市 101300)

[关键词] 动脉粥样硬化; 幽门螺旋杆菌; Toll 样受体 4

[摘要] 动脉粥样硬化(As)是一种慢性炎症反应性疾病,幽门螺旋杆菌(Hp)感染与 As 性疾病的相关性研究日益引起关注,其促进 As 进展的具体机制尚未完全阐明。Toll 样受体 4(TLR4)是天然免疫反应的重要受体,在微生物致病因子及其产物引起宿主主动和被动免疫中有重要作用,参与动脉硬化的发生和发展。TLR4 在 As 形成的多种细胞均有表达。TLR4 通过捕获 Hp 的致病因子脂多糖后启动细胞内信号途径,进而引起核因子 κ B 依赖的转录,引起一系列细胞因子及化学因子的释放,增强炎症反应而致病。本文就 Hp、TLR4 信号通路及其在 As 中的作用作一综述,为 As 疾病的防治提供新思路。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Role of Toll-like Receptor 4 in Atherosclerosis Induced by Helicobacter Pylori Infection

WANG Su-Ping¹, CHU Ye-Meng², WU Xiao-Jun¹, and ZHAO Hong¹

(1. Department of Neurology, Dalian Municipal Central Hospital, Dalian, Liaoning 116033, China; 2. Department of Neurology, Beijing Shunyi District Hospital, Beijing 101300, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Helicobacter Pylori; Toll-like Receptor 4

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) is a chronic inflammatory and immune disease. The correlation between Helicobacter pylori (Hp) infection and atherosclerotic disease has received increasing attention. However, the clear mechanism of Hp contributing to the development of As has not been completely elucidated. Toll-like receptor 4 (TLR4) is an important pattern recognition receptor, which induces innate immunity and induction of acquired immunity by microorganism. TLR4 plays a pivotal role in the initiation and progression of atherosclerosis. TLR4 is expressed on many cells involved in the formation of As. By means of capturing lipopolysaccharide from Hp, TLR4 initiates intracellular signal pathway and leads nuclear factor-kappa B transcription and many inflammatory factors release, and results in inflammatory injury. This article makes a summary on Hp, TLR4 signal pathway and its effects on the pathogenesis of atherosclerosis, and provides an implication for prevention and treatment of atherosclerotic artery diseases.

脑血管病是我国致残和死亡的主要原因,其病理基础为动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)。As 是一类慢性炎症免疫性疾病,主要是由于血液中富含的低密度脂蛋白在血管内膜聚集,引起内皮细胞损伤,激活一系列的炎症反应,从而导致动脉硬化和粥样硬化斑块的形成^[1]。有关动脉硬化的发生机制一直是医学界研究的热点,除高血压、糖尿病、脂代谢异常、吸烟、肥胖等高危险因素外,微生物的慢性感染及炎症反应同 As 的关系日益引起关注^[2]。研

究发现幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori, Hp)、肺炎衣原体、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒等病原微生物感染是 As 的重要致病因素之一,其中 Hp 感染与 As 性疾病的相关性研究是近年来的热点^[3-4]。Hp 是如何促进 As 发生发展的机制尚不清楚。Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)尤其是 TLR4 是一类介导天然免疫反应的跨膜信号转导受体,能将细胞外抗原识别信息向细胞内传递并引发炎症反应,在 As 发生发展中发挥了重要的作用。TLR4 在多种效应细

[收稿日期] 2014-09-22

[修回日期] 2014-12-07

[作者简介] 王苏平,主任医师,硕士研究生导师,主要从事脑血管疾病的研究,E-mail 为 wangsuping@medmail.com。楚叶萌,硕士研究生,医师,主要从事动脉硬化与脑血管病的基础研究,E-mail 为 chu42315@163.com。通讯作者赵红,博士,主治医师,主要从事脑血管病发病机制的基础研究,E-mail 为 zhaohong2003@126.com。

胞如巨噬细胞、平滑肌细胞等均有表达,对外来致病微生物具有识别作用,可以识别革兰氏阴性杆菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)^[5]。Hp感染后其致病因子LPS通过与TLR4结合,调节炎症细胞因子的表达,进而影响As的形成及进展。本文就Hp的基本特性、TLR4信号转导通路及其在Hp致As中的作用作一综述。

1 幽门螺旋杆菌的生物学特性

自1984年澳大利亚学者Marshall和Warren^[6]发现Hp以来,目前已有20多种Hp被鉴定和分离。Hp为微需氧菌,生长环境温度为37℃,是一端有鞭毛的螺旋形革兰氏阴性菌,呈轻度的“S”形弯曲,直径约0.2~1.2 mm,长约1.5~10 mm,其长度随年龄和环境的改变而改变。Hp的致病因子分为两类:一类是定植因子,如鞭毛、尿素酶等,Hp通过黏附性足突,牢固地附着在胃黏膜细胞表面,并在黏附的过程中诱导炎症反应;另一类是毒力因子,LPS是Hp的毒力因子之一,在Hp感染及Hp相关疾病中起重要作用^[7]。Hp LPS能介导多种细胞因子及趋化因子的释放,从而介导免疫反应的发生。Hp损害胃黏膜是由它的致病因子导致的,Hp定植后通过引起宿主的炎症及免疫反应而致病。

2 Hp感染与动脉粥样硬化

Hp感染是慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌、胃黏膜相关性淋巴瘤的重要致病因素已经成为人们的共识。近年来发现Hp感染还与脑血管疾病、皮肤病等多种胃肠道外疾病的发生密切相关,其中与As的关系尤其引人注目。国外学者在冠状动脉、颈动脉、腹主动脉手术获取的粥样硬化斑块中发现了Hp DNA的存在,而在健康血管壁上却未找到。进一步的研究发现,Hp感染通过局部炎症反应促进冠状动脉As的进展,根除Hp后冠状动脉再狭窄率明显减少^[8]。另有研究发现,Hp感染者发生动脉硬化的危险性更大,Hp感染的严重程度与心血管疾病的发病率有明显相关性。根除Hp,能明显缩减非洲人人心血管疾病的发生^[9]。可见,Hp感染与动脉硬化有关,是心脑血管疾病发生的危险因素;但其导致As的发生机制仍在不断的探索中。研究发现,Hp阳性患者存在严重的内皮功能障碍,同时炎症因子白细胞介素6表达增多。根除Hp后能

减轻内皮细胞损伤,白细胞介素6表达下降,并能减少心血管疾病事件^[10]。Hp感染可以启动氧化应激过程,使血液氧自由基水平明显升高,致脂代谢紊乱,形成粥样斑块^[11]。另外,Hp感染产生的细菌热休克蛋白60可致敏T淋巴细胞,激活免疫炎症反应,加速动脉硬化进程;使用针对Hp的抗生素根除Hp后,可阻断细胞炎症反应,导致动脉硬化斑块缩小^[12]。胡震^[13]的研究发现,同不伴Hp感染者相比,Hp感染者患颈动脉粥样硬化的危险性更高。Hp感染后巨噬细胞表面TLR2受体表达增加,局部炎症因子释放增多,使得动脉硬化斑块中的炎症及免疫反应增强,促进As形成和发展。As的发生机制与全身炎症反应、血管内皮功能障碍、氧化应激、血脂代谢紊乱、高凝状态等有关,Hp感染通过参与As发病机制中的多个环节而致病。LPS是Hp的重要致病因子,Hp的感染及其LPS所诱发的炎症和免疫反应在As的启动和发展中起着重要的作用。

3 Toll样受体家族

TLR最早是在研究果蝇胚胎发育过程中被发现的,称dToll(果蝇Toll)。1997年发现哺乳动物存在Toll同源蛋白,称为Toll样受体(又名“钟样受体”)。到目前为止,已经发现有13种TLR,分别命名为TLR1~13,其中11种表达于人类,13种表达于小鼠^[14]。TLR家族成员的分子结构相似,属1型跨膜受体,由胞外的氨基末端、跨膜部分和胞内的羧基末端3部分组成。TLR家族是天然免疫受体中的一员,是抵御外来微生物入侵的重要介质。病原体在进化过程中一直保留着一部分结构成分,这种结构被称作病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)。天然免疫在进化过程中产生了一套模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)来辨别PAMP,以发现病原体的存在。哺乳动物的TLR受体家族即具有PRR的功能。它们主要表达于各种免疫细胞如单核巨噬细胞、内皮细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞、中性粒细胞、树突细胞等,以及非免疫细胞如成纤维细胞、上皮细胞等。各种不同的病原体,包括革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、真菌、病毒等均可以被TLR识别^[15-16]。TLR监视并识别病原体共有的PAMP,就如同天然免疫的“双眼”,作为机体抵抗感染性疾病的第一道屏障。不同的TLR可以识别病原分子中的不同成分,如TLR4主要识别LPS,TLR2识别肽聚糖,TLR5识别鞭毛蛋白。TLR通过识别PAMP即病

原体的基本成分或病原体产物,迅速激活天然免疫系统,使机体免疫细胞释放细胞因子和其他炎性介质,进而产生一系列的生物学反应^[5]。

4 TLR4 及其信号转导通路

TLR4 是 Toll 样蛋白家族中研究最早的成员,同时也是到现在为止研究最清楚的成员之一。TLR4 广泛分布于多种细胞的表面,但主要表达于免疫细胞尤其是单核巨噬细胞的表面。在巨噬细胞受到 LPS 刺激、诱导而活化的过程中,TLR4 起到核心通路的作用。TLR4 识别的配体主要包括两大类:外源性介质,包括 LPS、病毒融合蛋白、病毒内膜蛋白等;内源性介质,包括热休克蛋白、透明质酸、 β -抗菌肽等。TLR4 捕获内、外源性相应配体后启动细胞内信号途径,导致一系列酶的激活,通过核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 转导通路激活炎症细胞,引起一系列细胞因子及化学因子的释放,参与导致 As 形成的炎症反应^[17-19]。TLR4 作为跨膜受体在革兰氏阴性菌感染中起到重要作用,可能是细菌感染与炎症形成的一个桥梁。TLR4 激活后信号通路途径大体分为髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖途径和非 MyD88 依赖途径。Michelsen 等^[20]首次报道了依赖于 MyD88 的 TLR4 信号通路在动脉粥样斑块的形成过程中发挥重要作用。

5 Hp、TLR4 与动脉粥样硬化

As 是一种慢性炎症性疾病已形成共识,越来越多的证据表明 TLR4 参与了 As 的起始、进展以及斑块破裂的各个环节,可通过多途径影响 As 的进程。Xu 等^[21]用免疫组织化学的方法证实 TLR4 在 As 斑块中表达,并认为 TLR4 与 As 的炎症发展密切相关。随后的研究发现 As 斑块中 TLR4 的表达显著提高,并证实通过 TLR4 的识别功能导致一系列与 As 相关的细胞因子的合成与释放^[22]。Hp 感染促进 As 形成需要 TLR4 作为桥梁,TLR4 识别 Hp LPS 并与之结合后,激活胞内信号传导通路,产生多种能扩大炎症反应、增强杀菌作用的细胞因子,促进 As 的发生发展。不仅外源性配体可激活 TLR4,内源性配体也可以激活 TLR4。As 病变及 Hp 感染血管内皮后,可产生 TLR4 内源性配体,如坏死或凋亡细胞释放的分子、细胞外基质和修饰的脂蛋白等,它们结合 TLR4 促进细胞分泌炎症因子,加速动脉

硬化的发生发展^[23]。另外,TLR4 途径介导基质金属蛋白酶 9、蛋白水解酶表达,两者可降解细胞外基质,引发斑块不稳定^[24-25]。有实验证实,人类 As 的发生发展至少部分是通过 TLR4/NF- κ B 途径介导的。TLR4 基因缺陷小鼠粥样硬化斑块的形成比正常小鼠要小得多。研究表明他汀类药物能下调兔的 As 斑块中 TLR4 mRNA、蛋白及下游 NF- κ B 因子的表达,因此具有抗动脉硬化的作用^[26]。使用 RNA 干扰技术下调 TLR4 的表达可减少急性缺血性心肌损伤^[27]。可见,抑制 TLR4 信号通路对 As 发展有抑制作用。然而,Hp 感染所致动脉斑块中,下调 TLR4 表达能否阻断 Hp 对动脉硬化的影响,目前未有相关报道,仍需进一步研究。

TLR4 识别内外源性配体后,启动炎症应答信号通路及诱导炎症因子表达,对机体组织产生保护或损伤作用。TLR4 是一个非常重要的炎性受体,它在 As 的发生发展中起双重作用,一方面它介导炎症介质的产生,对抗外界微生物的入侵,对宿主起保护作用;另一方面,它介导的炎症反应导致 As 的进一步加重。TLR4 在 As 中的作用不容忽视,TLR4 可加速 As 的进展,而 TLR4 拮抗剂对 As 的发展有抑制作用;TLR4 基因缺陷可减轻动脉硬化程度。因此,TLR4 及其信号通路有望成为 As 治疗的潜在干预靶点。

6 结语与展望

传统观点认为,As 是大中动脉血管壁脂质沉积的结果。但是目前普遍认为 As 是一种慢性炎症反应性疾病,病原微生物引起动脉壁炎症反应是导致 As 发生的重要致病因素。Hp 感染与 As 发生密切相关,Hp 通过其致病因子 LPS 诱发的炎症反应参与 As 发生的各个环节。TLR4 介导天然免疫,可以识别 Hp 细菌壁中的 LPS 并与之结合,激活胞内信号传导通路,产生多种炎症因子,加重炎症反应,促进 As 的形成。TLR4 可能为 Hp 感染和 As 炎症形成之间建立桥梁,能调节先天免疫与获得性免疫,在宿主抗微生物感染及抗机体内源性配体中起重要作用,其介导的先天免疫防卫机制可能促进炎症途径并导致粥样斑块的进展,在炎症性疾病 As 的发生发展中起着重要的作用。Hp 感染是可以治愈的,明确 Hp LPS 在促进动脉硬化中的作用机制后,指导应用抗生素抗 Hp 治疗或阻断 Hp LPS 的配体 TLR4,对 As 的早期预防、治疗及降低心脑血管病的发生率均具有重大意义。

[参考文献]

- [1] Wolf D, Stachon P, Bode C, et al. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis[J]. *Hamostaseologie*, 2014, 34(1): 63-71.
- [2] Charakida M, Tousoulis D. Infections and atheromatous plaque: current therapeutic implications[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(9): 1 638-650.
- [3] Rosenfeld ME, Campbell LA. Pathogens and atherosclerosis: update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Thromb Haemost*, 2011, 106(5): 858-867.
- [4] Izadi M, Fazel M, Sharubandi SH, et al. Helicobacter species in the atherosclerotic plaques of patients with coronary artery disease[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2012, 21(4): 307-311.
- [5] Lu Z, Li Y, Jin J, et al. Toll-like receptor 4 activation in microvascular endothelial cells triggers a robust inflammatory response and cross talk with mononuclear cells via interleukin-6[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(7): 1 696-706.
- [6] Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration[J]. *Lancet*, 1984, 1(8390): 1 311-315.
- [7] Innocenti M, Svennerholm AM, Quiding-Järbrink M. Helicobacter pylori lipopolysaccharides preferentially induce CXC chemokine production in human monocytes[J]. *Infect Immun*, 2001, 69(6): 3 800-808.
- [8] Kowalski M, Pawlik M, Konturek JW, et al. Helicobacter pylori infection in coronary artery disease[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2006, 57 (Suppl 3): 101-111.
- [9] Budzyński J, Koziański M, Kłopocka M, et al. Clinical significance of Helicobacter pylori infection in patients with acute coronary syndromes: an overview of current evidence[J]. *Clin Res Cardiol*, 2014, 103(11): 855-856.
- [10] Blum A, Tamir S, Mualem K, et al. Endothelial dysfunction is reversible in Helicobacter pylori-positive subjects[J]. *Am J Med*, 2011, 124(12): 1 171-174.
- [11] Tamer GS, Tengiz I, Ercan E, et al. Helicobacter pylori seropositivity in patients with acute coronary syndromes[J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 54(6): 1 253-256.
- [12] Ayada K, Yokota K, Hirai K, et al. Regulation of cellular immunity prevents Helicobacter pylori-induced atherosclerosis[J]. *Lupus*, 2009, 18(13): 1 154-168.
- [13] 胡震. 幽门螺旋杆菌感染对颈动脉粥样硬化斑块的影响及TLR2在其脂多糖促泡沫细胞形成中的作用[D]. 上海: 第二军医大学, 2012; 1-104.
- [14] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity[J]. *Nature*, 1997, 388(6640): 394-397.
- [15] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(5): 373-384.
- [16] Hornef MW, Henrique-Normark B, Normark S. The function and biological role of toll-like receptors in infectious diseases: an update[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2008, 21(3): 304-312.
- [17] Li H, Sun B. Toll-like receptor 4 in atherosclerosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2007, 11(1): 88-95.
- [18] Chen P, Migita S, Kanehira K, et al. Development of sensor cells using NF- κ B pathway activation for detection of nanoparticle-induced inflammation[J]. *Sensors (Basel)*, 2011, 11(7): 7 219-230.
- [19] Peri F, Piazza M, Calabrese V, et al. Exploring the LPS/TLR4 signal pathway with small molecules[J]. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(5): 1 390-395.
- [20] Michelsen KS, Wong MH, Shah PK, et al. Lack of Toll-like receptor 4 or myeloid differentiation factor 88 reduces atherosclerosis and alters plaque phenotype in mice deficient in apolipoprotein E[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(29): 10 679-684.
- [21] Xu XH, Shah PK, Faure E, et al. Toll-like receptor-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL[J]. *Circulation*, 2001, 104(25): 3 103-108.
- [22] Otsui K, Inoue N, Kobayashi S, et al. Enhanced expression of TLR4 in smooth muscle cells in human atherosclerotic coronary arteries[J]. *Heart Vessels*, 2007, 22(6): 416-422.
- [23] Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, et al. Expression of Toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation[J]. *Circulation*, 2002, 105(10): 1 158-161.
- [24] Den Dekker WK, Cheng C, Pasterkamp G, et al. Toll like receptor 4 in atherosclerosis and plaque destabilization[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 209(2): 314-320.
- [25] 赵战芝, 何钊, 唐雅玲, 等. 血小板因子4经Toll样受体4上调巨噬细胞基质金属蛋白酶9表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(8): 769-773.
- [26] Fang D, Yang S, Quan W, et al. Atorvastatin suppresses Toll-like receptor 4 expression and NF- κ B activation in rabbit atherosclerotic plaques[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(2): 242-246.
- [27] 任云, 陈洁, 杜广胜. RNA干扰技术下调Toll样受体4对急性心肌缺血坏死的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(9): 912-916.