

15927-15942.

[23] Zhao WQ, Santini F, Breese R, et al. Inhibition of calcineurin-mediated endocytosis and alpha-amino-3-hydroxy-5-

methyl-4-is-oxazolepropionic acid (AMPA) receptors prevents amyloid beta oligomer-induced synaptic disruption. J Biol Chem, 2010, 285(10): 7619-7632.

## Toll 样受体 4 与癫痫

孙鹏举 综述 刘东,徐德生 审校

天津医科大学第二医院,天津市 300211

**摘要:** Toll 样受体 4 (TLR4) 是最早发现的 Toll 样受体,主要识别细菌细胞壁成分脂多糖 (LPS),在免疫应答和炎症反应中起重要作用。目前认为有髓样分化蛋白 88 (MyD88) 依赖性和 MyD88 非依赖性两条途径参与了 TLR4 的信号转导。近年来研究发现 TLR4 及其介导的信号转导参与了癫痫的发生及发展,对癫痫的发病机制与 TLR4 及其信号传导通路之间联系的深入研究,可能会为癫痫的临床治疗带来新的思路及新的突破点。

**关键词:** Toll 样受体 4; 癫痫; 信号转导; 发病机制; 临床治疗; 炎症损伤

癫痫是由不同病因引起脑部神经元高度同步化,以发作性、短暂性、重复性及刻板性的中枢神经系统功能失常为特征的临床综合征,严重影响了患者的生活质量,但其发病机制仍不完全清楚。目前,越来越多的临床和实验证据表明免疫炎症反应与癫痫发病的病理机制有关,参与了癫痫发作后的脑损伤过程。Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是天然免疫系统识别病原微生物的主要受体,在天然免疫反应中具有重要作用。在 TLR 家族中,对 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的结构及其在免疫炎症反应中的作用研究比较透彻。近年来,TLR4 在癫痫发病机理中的作用逐渐引起国内外学者的关注,发现其在癫痫发病过程中有重要的作用。

### 1 TLR4 及其介导的信号传导

#### 1.1 Toll 家族

TLRs 是一类序列高度保守的天然免疫受体家族,广泛存在于植物、昆虫、哺乳动物和人类。至今在哺乳动物发现的 14 种 TLRs 中,11 种存在于人类细胞,在鼠类 13 个<sup>[1]</sup>。对 Toll 样受体的认识最早源自果蝇的研究。Medzhitov 等<sup>[2]</sup>于果蝇体内

发现 Toll 蛋白,因 TLR 胞外段与 Toll 同源而得名。TLRs 是广泛分布在免疫细胞尤其非特异免疫细胞以及某些体细胞表面的一类模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR),它们可对病原相关分子模式 (pathogen associated molecular pattern, PAMP) 进行识别、结合,并引发信号传导,进而导致炎性介质的释放。TLR4 是 Toll 家族成员之一,主要识别细菌细胞壁成分脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS),是 LPS 靶细胞膜上的跨膜受体和自然免疫系统主要的病原模式识别受体。

#### 1.2 TLR4 的结构、组织分布及配体

TLR4 是第一个被发现的哺乳动物 TLRs,由胞外区、穿膜区及胞内区三部分组成,其中胞外区富含亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeats, LRR) 结构域,可与 CD14 分子中的 LRR 结合而介导蛋白质之间的相互作用。胞内区与 IL-1 受体胞内区的保守序列有高度同源性,被称之为 TIR 区 (TIR/IL-1 homologous region) 的跨膜受体。因此,TLR4 分子也属于 IL-1 受体超家族的成员。TIR 区域是 TLR4 与其下游相关的信号转导分子,如髓样分化蛋白 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)、肿瘤坏

**基金项目:** 天津市高等学校科技发展基金计划项目 (20090131); 天津市卫生局科技基金 (04kz40)

**收稿日期:** 2011-07-14; **修回日期:** 2011-09-26

**作者简介:** 孙鹏举 (1982-), 男, 硕士研究生, 主要从事癫痫的放射外科治疗基础研究。

**通讯作者:** 刘东 (1973-), 男, 副主任医师。Email: mrluodong@126.com。

死因子受体活化因子6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor-6, TRAF-6)、IL-1 相关蛋白激酶 (IRAK) 等, 以及蛋白激酶相互作用的关键部位。TLR4 的组织分布较广泛, 可见于如 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、中性粒细胞、单核巨噬细胞、肥大细胞等<sup>[3,4]</sup>。在中枢神经系统的主要表达细胞是小胶质细胞。同时在脑血管内皮细胞、软脑膜、脉络丛、穹窿下器、终板及正中隆起、最后区等处也发现有 TLR4 的表达<sup>[5]</sup>。

TLR4 的配体依据来源不同可分为外源性配体和内源性配体。外源性配体即是指来自宿主外的病原微生物成分, 如革兰氏阴性细菌的脂多糖 (LPS) 中的类脂 A, 革兰氏阳性细菌的肽聚糖 (PGN)、脂磷壁酸 (LTA)、脂阿拉伯甘露糖 (LAM) 等; 而内源性配体主要指机体细胞受损伤时释放的分子, 称为损伤相关分子模式 (damage-associated molecular pattern, DAMPs), 如热休克蛋白 60、70 (heat shock protein 60, 70)、人纤维蛋白原、表面活性蛋白-A 等<sup>[6]</sup>。虽然目前证实内源性配体能激活 TLR4, 但具体的作用机制仍不清楚<sup>[7]</sup>。

## 2 TLR4 的信号转导

目前认为有两条途径参与了 TLR4 的信号转导, 分别为 MyD88 依赖性转导途径和 MyD88 非依赖性转导途径<sup>[8]</sup>。前者活化丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和核因子- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B) 信号通路, 后者活化 NF- $\kappa$ B 和干扰素调节因子-3 (IFN-regulated factor-3, IRF3) 信号通路。

### 2.1 MyD88 依赖性信号转导途径

MyD88 是一个含 TIR 结构域的接头蛋白, 属于 Toll/IL-1R 家族和死亡结构域 (death domain, DD) 家族的成员, 具有 3 个特殊的结构域, 即 N 端特有的死亡结构域 (death domain, DD), 中间区和 C 端保守的 TIR 结构域。需 MyD88 介导的信号传导称为 MyD88 依赖性信号传导途径, 其过程如下: 首先 LPS 与 LPS 结合蛋白 (LPS binding protein, LBP) 形成 LPS-LBP 复合物, 再由 LBP 将 LPS 转移到细胞膜表面的 CD14 上, 在髓样分化蛋白 (myeloid differentiation protein 2, MD-2) 的作用下与 TLR4 结合, 导致 TLR4 发生聚合从而使信号传导到胞内。MyD88 通过 N 羧基 C 端与活化的 TLR4 的 TIR 结构域发生同源性相互作用, 其氨基 N 端死亡结构域与信号蛋白 IL-1R 受体相关激酶 (IL-1 R-associated ki-

nases, IRAKs) 结合, IRAKs 结合到受体复合物上即发生自身磷酸化, 而后与受体复合物解离, 继而与 TRAF-6 结合, 由 TRAF-6 激活 NF- $\kappa$ B 诱导激酶 (NF- $\kappa$ B-inducing kinase, NIK), NIK 进一步激活 NF- $\kappa$ B 激酶抑制物 (inhibitor of NF- $\kappa$ B kinases, IKKs), 后者又使得 NF- $\kappa$ B 的抑制成分 I $\kappa$ B 磷酸化, 接着与 NF- $\kappa$ B 分离。此后, NF- $\kappa$ B 进入细胞核, 诱导相关基因的表达, 分泌炎症因子 (如 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 等), 化学趋化因子, 脂质介质等, 发挥转录调控作用。此外, TRAF-6 所激活的另一条信号转导通路是通过作用于丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs), 包括 p38、C-Jun 氨基端激酶 (C-Jun N-terminal kinase, JNK)、促使转录因子 AP-1 等的生成<sup>[9]</sup>。MAPK 信号转导通路参与多种细胞功能的调控, 尤其是在细胞增殖、分化与凋亡中起着关键作用<sup>[10]</sup>。

### 2.2 MyD88 非依赖性信号转导途径

TLR4 的 MyD88 非依赖途径可引起 NF- $\kappa$ B 和 IRF-3 的迟发激活。参与该信号转导途径的接头蛋白是 TRIF (TIR domain containing adaptor-inducing IFN- $\beta$ )。首先 TLR4 通过 TRIF 相关接头分子 (TRIF-related adaptor molecule, TRAM) 作用于 TRIF, TRIF 通过 N 末端结合结构域与 TRAF6 结合, 随后活化 IKK 复合体, 使 I $\kappa$ B 泛素化并降解, 最终导致 NF- $\kappa$ B 释放入核。而 IRF3 的活化需要更多的激酶复合体参与, 如 TRAF 结合蛋白结合蛋白-1 (TRIF-TBK1)-IKK 复合体, 作为 IRF3 激酶使其磷酸化。IRF3 活化后与干扰素敏感反应元件 (interferon-sensitive response element, ISRE) 结合, 诱导包括 IFN- $\beta$  等一系列基因的转录, 最终引起炎症反应<sup>[11]</sup>。

## 3 TLR4 与癫痫

目前关于 TLR4 及其信号通路与癫痫的关系国内外报道相对较少。近年来研究发现, 免疫炎症反应参与了癫痫发作引起的脑损伤过程, 癫痫发作后脑组织存在的炎症反应提高了神经元的兴奋性, 损伤存活的细胞, 增加血脑屏障的通透性<sup>[12]</sup>。癫痫发作后的脑损伤产生多种 TLR4 的内源性配体, 如由坏死细胞产生的热休克蛋白、纤维连接蛋白、细胞外基质降解成分, 或免疫细胞释放的防御素和弹性蛋白酶等, 均可通过 LPS 激活 TLR4, 引起 NF- $\kappa$ B 的活化, 引起 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10 和 IL-18 等细胞因子的高水平分泌, 产生炎症级联反应, 从而加重细胞的损伤, 促进癫痫的发生与进展<sup>[13,14]</sup>。

Rodgers 等<sup>[15]</sup>研究发现大脑皮质的天然免疫反应可造成大脑神经元兴奋性的增高,引发局灶性癫痫。他们应用脂多糖对大鼠皮质进行研究,当脂多糖与 TLR4 结合后,诱发场电位的幅度增加 3 倍,并引发局部癫痫样放电,而这些效应可以被事先应用的 IL-1R 拮抗剂阻断。因此他们认为天然免疫可能通过 TLR4 识别神经系统感染或者脑损伤引起的危险信号,引起 IL-1 释放,进而增加神经元的兴奋性诱发了癫痫的发生。他们的这些研究结果提示可以通过药物阻断 TLR4 和前炎症因子治疗人类的癫痫。Maroso 等<sup>[16]</sup>通过研究急性和慢性癫痫动物模型发现,癫痫大鼠的海马细胞高迁移率蛋白 1 (high-mobility group box-1, HMBG1) 和 TLR4 的表达较对照组增加,同时,他们通过对难治性颞叶癫痫术后切除的海马标本检测显示 HMBG1 和 TLR4 的表达亦增加。他们的研究还发现 TLR4 功能缺陷的 C3H/HEJ 系小鼠对海人酸诱发的癫痫缺乏敏感性,而 HMBG1 和 TLR4 的拮抗剂可以延缓急性癫痫发作的发生和减少慢性癫痫的再发生。因此,他们认为 HMBG1-TLR4 信号通路在癫痫发作的发生发展中起着重要的作用。O' Neill 等<sup>[17]</sup>认为 IL-1R/TLR4 信号通路的激活可诱发基因转录变化,包括通过 NF- $\kappa$ B 依赖的炎症因子的转录变化使炎症持续存在,并通过诱发神经再生、细胞死亡、突触分子重组等基因的表达减低癫痫发作的阈值。Riazi 等<sup>[18]</sup>对出生后 2 周的大鼠注射 LPS,激活 TLR4,诱发轻微的炎症反应,当这些大鼠成年后对海人酸、匹罗卡品或戊四氮诱发癫痫的易感性增加。Vezzani 等<sup>[19]</sup>认为 IL-1R/TLR 信号通路在癫痫发生中起重要作用。通过细菌或病毒感染引起的炎症反应或通过内源性配体(激活的及受损害的细胞释放的促炎症因子如 IL-1 $\beta$ ,或内源性“危险信号”如 HMBG1)激活 IL-1R/TLR 信号通路。IL-1R/TLR 信号通路介导的快速后翻译改变电压和配体门控性通道增加兴奋性,改变了神经传递和突触可塑性的基因转录变化降低癫痫发作阈值。周琴等<sup>[20]</sup>试验研究结果显示癫痫持续状态(status epilepticus, SE)后大鼠海马 TLR4 和 NF- $\kappa$ B 表达增加,用 NF- $\kappa$ B 抑制剂吡咯烷二硫代氨基酸甲酸盐(PDTC)干预后两者表达均明显下降,且大鼠海马神经元病变程度亦相应减轻,提示癫痫持续状态后大鼠海马 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路被激活,并在 SE 后大鼠海马损伤的发生发展过程中起促进作用。

## 4 结论与展望

TLR4 的发现到目前时间尚短,大多数研究还处于实验探索阶段,需进一步的深入研究。对癫痫的发病机制与 TLR4 及其信号传导通路之间联系的深入研究,会为癫痫的临床治疗带来新的思路;研究以 TLR4 为靶点的药物或对 TLR 信号通路中某些环节的给予干预有可能成为治疗癫痫新的突破点。

## 参 考 文 献

- [1] Arumugam TV, Okun E, Tang SC, et al. Toll-like receptors in ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 2009, 32(1): 4-16.
- [2] Medzhitov R, Preston-Hurlbert P, Janeway CA Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 1997, 388(6640): 394-397.
- [3] Kokkinopoulos I, Jordan WJ, Ritter MA. Toll-like receptor mRNA expression patterns in human dendritic cells and monocytes. *Mol Immunol*, 2005, 42(8): 957-968.
- [4] Zhang X, Shan P, Qureshi S, et al. TLR4 deficiency confers susceptibility to lethal oxidant lung injury. *J Immunol*, 2005, 175(8): 4834-4838.
- [5] Laflamme N, Rivest S. Toll-like receptor 4: the missing link of the cerebral innate immune response triggered by circulating gram-negative bacterial cell wall components. *Mol Immunol*, 2005, 42(2): 155-163.
- [6] Sabroe I, Read RC, Whyte MK, et al. Toll-like receptors in health and disease: complex questions remain. *J Immunol*. 2003, 171(4): 1630-1635.
- [7] Tsan MF, Gao B. Endogenous ligands of Toll-like receptors. *J Leukoc Biol*, 2004, 76(3): 514-519.
- [8] Weighardt H, Holzmann B. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis. *Immunobiology*, 2007, 212(9-10): 715-722.
- [9] Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ*, 2006, 13(5): 816-825.
- [10] Dunn KL, Espino PS, Drobie B, et al. The Ras-MAPK signal transduction pathway, cancer and chromatin remodeling. *Biochem Cell Biol*, 2005, 83(1): 1-14.
- [11] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signaling. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(7): 499-511.
- [12] 余年,狄晴. 炎症反应癫痫. 国际神经病学神经外科学杂志, 2009, 36(4): 341-344.
- [13] Brunn GJ, Bungum MK, Johnson GB, et al. Conditional signaling by Toll-like receptor 4. *FASEB J*, 2005, 19(7): 872-874.

- [14] Kobayashi KS, Flavell RA. Shielding the double-edged sword: negative regulation of the innate immune system. *J Leukoc Biol*, 2004, 75(3): 428.
- [15] Rodgers KM, Hutchinson MR, Northcutt A, et al. The cortical innate immune response increases local neuronal excitability leading to seizures. *Brain*, 2009, 132(9): 2478-2486.
- [16] Maroso M, Balosso S, Ravizza T, et al. Toll-like receptor 4 and high-mobility group box-1 are involved in ictogenesis and can be targeted to reduce seizures. *Nat Med*, 2010, 16(4): 413-419.
- [17] O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(5): 353-364.
- [18] Riazi K, Galic MA, Pittman QJ. Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res*, 2010, 89(1): 34-42.
- [19] Vezzani A, Maroso M, Balosso S, et al. IL-1 receptor/Toll-like receptor signaling in infection, inflammation, stress and neurodegeneration couples hyperexcitability and seizures. *Brain Behav Immun*, 2011, doi:10.1016/j.bbi.2011.03.018.
- [20] 周琴, 李光乾. Toll 样受体 4/核因子- $\kappa$ B 信号通路在癫痫持续状态大鼠海马损伤中的作用. *中华神经科杂志*, 2008, 41(10): 689-694.

## 难治性偏头痛的诊断及影响因素

王维 综述 陈春富 审校

山东大学附属省立医院神经内科, 济南市 250021

**摘要:** 偏头痛是一种慢性进展性疾病, 其发展成难治性偏头痛的危险因素有可变的和不可变的两种。目前难治性偏头痛缺乏一个可操作性的定义。2006 年, 美国头痛协会难治性头痛专家小组制定了难治性偏头痛和难治性慢性偏头痛的定义和诊断标准, 为临床治疗和研究提供了依据, 此标准很有希望被列入未来的国际头痛学会头面痛分类中。本文综述了难治性偏头痛的定义、诊断标准、影响因素等。

**关键词:** 难治性偏头痛; 偏头痛; 定义; 诊断; 影响因素

偏头痛是一种常见的特发性慢性神经血管疾患, 到目前为止它的确切机制还不清楚<sup>[1]</sup>, 它不仅因频繁发作和严重的头痛导致患者的学习和工作能力下降、生活质量降低, 而且也与脑卒中、情感障碍等多种疾患相关。世界卫生组织将最严重的头痛定为最致残的慢性疾病之一, 类同于痴呆、四肢瘫痪和严重的精神病。偏头痛患病率高, 流行病学调查显示, 美国女性偏头痛患病率为 18%, 男性为 6%, 并且主要集中在最有生产力的年龄段(25~55 岁)<sup>[2]</sup>, 影响近 3000 万人口。大多数人预后均较好, 约 3%~14% 的偶发型偏头痛进展为慢性每日头痛。然而, 发病一年后只有 14% 的慢性每日头痛患者头痛发作减少为每周发作少于一次<sup>[3]</sup>。难治性偏头痛(refractory migraine, RM) 由于没有诊断标准, 其流行病学还不清楚。美国头痛协会(A-

merica Headache Society, AHS) 首次进行了 RM 的调查, 初步结果显示 RM 患病率为 5%~10%, 另有研究显示 RM 的患者在头痛人群中占很少数<sup>[4]</sup>。偏头痛给患者带来极大的痛苦, 影响工作和生活, 并导致药物滥用以及消耗大量医疗资源等, 对个人和社会造成极大的负担, 已成为一个严重的公共卫生问题, 而 RM 可能在其中担当重要角色。

### 1 定义 RM 的必要性

尽管偏头痛的诊断和治疗有了很大的进步, 然而 RM 仍然是偏头痛领域的一个边缘问题, 诊断这种疾病和研究有效的治疗方法是偏头痛专家迫切需要解决的问题。需要有一个可操作性定义详细说明 RM 的特点, 使人们对 RM 有更好的了解。需要有标准对偏头痛病人分层从而给予合适的治疗措施并进行临床试验证明治疗效果。鉴别出不同

收稿日期: 2011-06-08; 修回日期: 2011-09-13

作者简介: 王维(1986-), 女, 在读硕士, 主要从事偏头痛和脑血管病的研究。

通讯作者: 陈春富(1963-), 男, 博士后, 主任医师, 博士生导师, 主要从事偏头痛、脑血管病、癫痫的研究。