



核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 激酶 (NIK) 活化, 并且激活核因子抑制蛋白 (I $\kappa$ B) 酶复合物, 形成活化的 I $\kappa$ B 激酶 (IKK) 复合体 IKK $\alpha$ IKK $\beta$ , 作用于 I $\kappa$ B 使之泛素化而降解, 从而 I $\kappa$ B 和 NF- $\kappa$ B 解离, 后者迁移到胞核内; 此外, TRAF6 还可以结合 Toll 途径进化保守信号转接蛋白 (ECSIT), 激活丝裂原活化蛋白 (MAP) 途径, 从而活化 NF- $\kappa$ B 和激活蛋白 (AP) 1。(4) 通过 NF- $\kappa$ B 激活细胞因子基因转录, 如 IL-1、IL-6 和 IL-8, 介导 B7 家族成员表达活化, 进而通过抗原呈递细胞 (APC) 活化 T 淋巴细胞, 激活获得性免疫系统<sup>[8]</sup>。可见 TLR4 对 LPS 进行识别后, 由其所引发的信号转导能导致炎性介质释放, 这不仅在天然免疫防御中发挥重要的作用, 且最终激活获得性免疫系统。故 TLR4 在由天然免疫向获得性免疫的转变中发挥了重要的作用。以上 TLR4 对 LPS 的信号转导过程可简化为: LPS-LBP-CD14-MD2  $\rightarrow$  TLR4  $\rightarrow$  MyD88  $\rightarrow$  IRAK  $\rightarrow$  TRAF6  $\rightarrow$  TAK1  $\rightarrow$  NIK  $\rightarrow$  IKK  $\rightarrow$  I $\kappa$ B  $\rightarrow$  NF- $\kappa$ B  $\rightarrow$  基因表达和 TLR4-MyD88/IRAK-丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 途径<sup>[9]</sup>。

2. TLR4 对呼吸道合胞病毒 (RSV) 的识别: TLR4 对 LPS 的识别是其主要功能, 已无异议。有研究表明, 一种导致人类呼吸道疾病的病毒——RSV 在 TLR4 缺陷小鼠肺中持续存在, 在同类正常小鼠中却并非如此。这种现象源于 TLR4 和 CD14 介导了 RSV 溶解蛋白的天然免疫。因此认为这种 TLR4 激活途径除了能引起细菌的天然免疫反应外, 还能激活病毒感染的天然免疫反应, 且 TLR4 介导的病毒识别及宿主防御对 RSV 是特异的<sup>[10]</sup>。

3. TLR4 对真菌的识别: 研究表明, TLR4 与 CD14 可通过对真菌表面的多聚糖 (GXM) 识别, 经过一系列的信号转导来激活 NF- $\kappa$ B 的转录<sup>[11, 12]</sup>。为研究 TLR4 在抵抗白色念珠菌感染中的作用, Netea 等<sup>[13]</sup>观察到, TLR4 缺陷 C<sub>3</sub>H/HeJ 小鼠白色念珠菌的生长率比受控同类小鼠高出了 10 倍。白色念珠菌刺激时, 小鼠巨噬细胞产生肿瘤坏死因子 (TNF)、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  并不受 TLR4 的影响, 但由巨噬细胞产生的 CXC 趋化因子  $\kappa$ C 及巨噬细胞抑制蛋白 2 的数量却下降了 40% ~ 60%, 也导致了中性粒细胞在炎症感染部位的释放率降低 40%。因此, TLR4 缺陷 C<sub>3</sub>H/HeJ 小鼠对白色念珠菌更敏感, 这与削弱的趋化因子的表达及中性粒细胞的聚集有关。由此可见, TLR4 在抗真菌感染中的作用主要是通过抑制趋化因子及中性粒细胞表达来实现的。

4. TLR4 的抗结核作用: 为证实 TLR4 在宿主抗肺结核感染中的作用, Branger 等<sup>[14]</sup>用结核菌感染

TLR4 突变 C<sub>3</sub>H/HeJ 小鼠及同类野生型小鼠, 可见前者的存活率和结核菌生长情况分别低于和高于后者, 说明 TLR4 突变的小鼠对肺结核更易感, 肺浸润更显著, 产生更多活化的 T 淋巴细胞。以上结果提示, TLR4 可能参与产生获得性 T 淋巴细胞介导的免疫, 其在宿主抵抗肺部结核感染中起着保护性作用。

### 三、TLR4 受体表达的调节

研究表明, 小鼠 TLR4 基因编码区点突变或缺失, 都可使其对 LPS 的再次刺激表现出低反应性, 提示 TLR4 结构改变是形成 LPS 耐受性的重要原因<sup>[15]</sup>。Poltorak 等<sup>[16]</sup>的研究表明, 就对 LPS 耐受的 C<sub>3</sub>H/HeJ、C<sub>57</sub>BL/10ScCr 小鼠而言, 前者由于 TLR4 基因第 3 个外显子发生了错义突变, 导致其编码蛋白质多肽链的第 712 位组氨酸被脯氨酸所取代; 而后者因为包含 TLR4 的基因染色体缺失 (大小为 75 kb), 导致该基因不能表达。有学者采用不同剂量的 LPS 重复刺激小鼠腹腔巨噬细胞, 观察到 TLR4 在巨噬细胞表面的表达持续性下降, 与炎性细胞因子产量下降呈正相关<sup>[17, 18]</sup>。郭菲等<sup>[19]</sup>的研究表明, 采用不同浓度 LPS (终浓度分别为 0.000、0.001、0.010、0.100、1.000、10.000 mg/L) 刺激小鼠腹腔巨噬细胞, 在 LPS 浓度 < 0.010 mg/L 范围内, 随着 LPS 浓度的升高, 巨噬细胞表面 TLR4 表达增加, 但当浓度达到 10.000 mg/L 时, TLR4 表达则开始下降。另有报道称, IL-1 能够诱导小鼠对 LPS 产生低反应性, 其作用机制也是使 TLR4 表达下调<sup>[20]</sup>。干扰素 (IFN) $\gamma$  可使细胞表面 TLR4 表达增加, 并增强对 LPS 的免疫应答<sup>[21]</sup>。IL-4 能够下调单核细胞 TLR4 的表达, 上调 B 淋巴细胞 TLR4 的表达<sup>[22]</sup>。在体外人单核细胞 TLR4 mRNA 接受 LPS 再次刺激时, 其表达上升<sup>[23]</sup>, 提示 LPS 反应性不能简单地归因于先前的感染和细胞表面 LPS 的 LBP 发生明显变化, 还可能涉及 TLR4 信号转导的改变。

### 四、TLR4 与某些疾病之间的关系

近年来, 国外有不少学者认为许多疾病与 TLR4 有着密切关系。G<sup>-</sup>菌内毒素性休克在感染性休克中大致占 50%, 在对 G<sup>-</sup>菌及其产物的识别中, TLR4 起着非常重要的作用, 当 TLR4 与配体结合后, 激活 NF- $\kappa$ B 并上调 TNF 等细胞因子的表达<sup>[24]</sup>, 增强机体的炎症反应, 达到杀伤病原体的目的。但是过强的炎症反应将加重组织器官的损害, 严重时产生 SIRS, 最终导致 G<sup>-</sup>菌内毒素性休克。Ruemmele 等<sup>[25]</sup>报道上皮细胞在 TLR4 调节下, 分泌内源性 TNF, 引起肠炎。又有学者观察到, 大鼠肝脏库普弗细胞表面表达 TLR4 和 CD14, 与 LPS 结合后, 引起



20 Alves-Rosa F, Vulcano M, Beigier-Bompadre M, et al. Interleukin-1 beta induces in vivo tolerance to lipopolysaccharide in mice. *Clin Exp Immunol*, 2002, 128: 221 - 228.

21 Suzuki M, Hisamatsu T, Podolsky DK. Gamma interferon augments the intracellular pathway for lipopolysaccharide (LPS) recognition in human intestinal epithelial cells through coordinated up-regulation of LPS uptake and expression of the intracellular Toll-like receptor 4-MD-2 complex. *Infect Immun*, 2003, 71: 3503.

22 Mita Y, Dobashi K, Endou K, et al. Toll-like receptor 4 surface expression on human monocytes and B cells is modulated by IL-2 and IL-4. *Immunol Lett*, 2002, 81: 71.

23 Calvano JE, Agnese DM, Um JY, et al. Modulation of the lipopolysaccharide receptor complex (CD14, TLR4, MD-2) and Toll-like receptor 2 in systemic inflammatory response syndrome positive patients with and without infection; relationship to tolerance. *Shock*, 2003, 20: 415 - 419.

24 Knuefermann P, Nemoto S, Baumgarten G, et al. Cardiac inflammation and innate immunity in septic shock: is there a role for Toll-like receptors? *Chest*, 2002, 121: 1329 - 1336.

25 Ruemmele FM, Beaulieu JF, Dionne S, et al. Lipopolysaccharide modulation of normal enterocyte turnover by Toll-like receptors is mediated by endogenously produced tumour necrosis factor alpha. *Gut*, 2002, 51: 842 - 848.

26 Su GL. Lipopolysaccharides in liver injury: molecular mechanisms of Kupffer cell activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283: 256 - 265.

27 Pasterkamp G, VanKeulen JK, DeKleijn DP. Role of Toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease. *Eur J Clin Invest*, 2004, 34: 328 - 334.

28 Equils O, Faure E, Thomas L, et al. Bacterial lipopolysaccharide activates HIV long terminal repeat through Toll-like-receptor 4. *J Immunol*, 2001, 166: 2342 - 2447.

29 Zariffard MR, Harwani S, Novak RM, et al. *Trichomonas vaginalis* infection activates cells through Toll-like receptor. *Clin Immunol*, 2004, 111: 103 - 107.

30 Mori Y, Yoshimura A, Ukai T, et al. Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 2 and 4 in gingival tissue from patients with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*, 2003, 18: 54.

31 Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*, 2000, 25: 187.

32 Child NJ, Yang IA, Pullett MC, et al. Polymorphisms in Toll-like receptor-4 and the systemic inflammatory response syndrome. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31 (Pt 3): 652 - 653.

33 Lorenz E, Hallman M, Marttila R, et al. Association between the Asp299Gly polymorphisms in the Toll-like receptor 4 and premature births in the Finnish population. *Pediatr Res*, 2002, 52: 373.

34 Machida K, Cheng KT, Sung VM, et al. Hepatitis C virus induces Toll-like receptor 4 expression, leading to enhanced production of beta interferon and interleukin-6. *J Virol*, 2006, 80: 866 - 874.

35 Fujihara M, Muroi M, Tanamoto K, et al. Molecular mechanisms of macrophage activation and deactivation by lipopolysaccharide; roles of the receptor complex. *Pharmacol Ther*, 2003, 100: 171 - 194.

(收稿日期: 2005 - 12 - 05)  
(本文编辑: 莫恩)

## 提高人工复合皮修复能力的新策略

柯昌能 徐盈斌 利天增

寻求理想的皮肤替代物, 可为大面积烧伤患者提供足够的皮源以提高救治成功率; 改善中、小面积烧(创)伤患者创面修复质量; 提高患者的生存能力等, 均具有重要的现实意义。随着细胞学、材料学、组织工程学的发展, 各种生物敷料和皮肤替代物相继出现, 为实现皮肤的修复与再生带来了巨大的希望。具有表皮和真皮结构的复合皮 (composite skin, CS), 是当前皮肤组织工程学的研究热点。目前虽然在 CS 的研究上取得了一些进展, 并有成品上市, 但其修复能力有限。本文就当前 CS 存在的一些不足和提高其修复能力的可能途径作一综述。

### 一、CS 的不足之处

近年来不断研制出的 CS 尚有一些不尽人意之处。除与所选择的支架材料性质有关外, 还存在以下几个方面的问题。

1. 目前的人工皮肤移植后无毛囊、汗腺、皮脂腺等生理性结构再生, 与自体全厚皮移植相比, 其在外观和功能方面相距甚远, 限制了临床应用。Apligraf (美国 Organogenesis 公司) 只能用于小面积创面的修复, 如静脉性溃疡、糖尿病足溃疡的治疗, 而不能用于大面积深度烧伤创面<sup>[1]</sup>; orCel™ (美国 Ortec International 公司) 目前也只用在小面积供皮区的治疗<sup>[2]</sup>。虽然已有汗腺样结构 CS 的报道<sup>[3]</sup>, 但缺乏移植实验, 未对其功能作进一步观察。目前研制的 CS 无附属器生成, 其应用范围受限, 也影响了术后的外观。

2. CS 移植后血供不足, 表皮容易坏死脱落, 移植成活率不高。皮片移植于创面后, 其营养来源依次为创面渗液、血管网吻合、新生血管形成<sup>[4]</sup>。而目前的 CS 渗透性差, 一般没有预存的血管网, 新生血管需 1~2 周才能到达真皮浅层, 这些因素均可导致 CS 移植后表皮坏死脱落, 成活率不高。血供不足也可能是当前组织工程皮肤中干细胞增殖分化

作者单位: 518000 广州, 中山大学附属第一医院烧伤科

通信(讯)作者: 柯昌能, Email: kekey88@163.com, 电话:

13725302556