

文章编号: 1004-0374(2009)03-0430-04

# IRAK-M 在 TLRs 信号转导中负性调节作用的研究进展

郑佳佳<sup>1,2</sup>, 万敬员<sup>1\*</sup>

(1 重庆医科大学重庆市生物化学与分子药理学重点实验室; 2 重庆医科大学 2005 级儿科七年制, 重庆 400016)

**摘要** 白细胞介素1受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK)家族被认为是TLR/IL-1R 信号通路中重要的信号分子。迄今为止, 已发现4个 IRAK 家族成员, 其中 IRAK-1 和 IRAK-4 有激酶活性, IRAK-2 和 IRAK-M 无激酶活性。最近的研究发现 IRAK-M 参与负性调控 TLR 信号通路和具有天然免疫的作用。本文就 IRAK-M 的结构特点及在 TLR 信号转导的分子机制和免疫耐受中的作用进行综述。

**关键词:** 白细胞介素1受体相关激酶-M; Toll 样受体; 负性调节

**中图分类号:** Q55; Q501 **文献标识码:** A

## The progress in research of effects of IRAK-M on negative regulating TLRs signaling pathway

ZHENG Jia-jia<sup>1,2</sup>, WAN Jing-yuan<sup>1\*</sup>

(1 Chongqing Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, Chongqing Medical University; 2 2005-7 years majors of clinic medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** The interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family is thought to be a type of key signal molecules in TLR/IL-1R-mediated signal pathway. So far, Four IRAK family members have been found, which consists of two active kinases, IRAK and IRAK-4, and two inactive kinases, IRAK-2 and IRAK-M. In recent studies, IRAK-M has been considered to involve in negatively regulating of TLR signaling and innate immune homeostasis. This review will discuss the progress in the structure, function and molecular mechanism of TLR signaling regulation and immune tolerance of IRAK-M.

**Key words:** IRAK-M; TLRs; negative regulation

白细胞介素1受体相关激酶(interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK)是指在前炎症细胞因子IL-1诱导下能和 IL-1R 相结合的一类丝/苏氨酸激酶。IRAK 家族作为 TOLL/IL-1 受体家族信号转导通路中的重要参与者, 通过一系列的级联反应, 帮助 TOLL样受体(toll like receptor, TLR)对病原相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)的识别, 构成机体的第一道免疫防线, 并对获得性免疫的发生和类型起重要作用。迄今为止, 已确认的 IRAK 家族成员有4个, 分别是: IRAK-1、IRAK-2、IRAK-M 和 IRAK-4, 其中 IRAK-1 和 IRAK-4 有激酶活

性, IRAK-1 主要与 STAT 和 IRF 的激活有关, IRAK-4 在激活转录因子 NF- $\kappa$ B 中发挥重要作用, IRAK-2 与 IRAK-M 无激酶活性<sup>[1]</sup>。近年来, 一系列研究发现 IRAK-M 在 TLR 信号通路中通过阻止免疫复合物的形成或分离而中断信号转导。因此, 充分认识 IRAK-M 的结构特征及其在 TLR 信号转导中机制对于防治 TLR 相关疾病具有非常重要的意义。

收稿日期: 2008-12-18; 修回日期: 2009-04-07

基金项目: 国家自然科学基金(30500463)

\*通讯作者: E-mail: jywan@cqmu.edu.cn, Tel: 023-68485038

## 1 IRAK-M 的结构特征

人 IRAK-M 的基因由 12 个外显子组成, 位于 12 号染色体上 (12q 14.3), 由长约 60kb 的核苷酸区域构成。它编码的蛋白质相对分子质量为 68k, 含有 596 个氨基酸残基。IRAK-M 与其他 IRAK 家族成员间序列相似度在 30% 至 40% 之间; 与 IRAK-1 和 IRAK-4 的相似度为 35%, 与 IRAK-2 的相似度为 31%, 而与 Pelle 激酶的相似度则为 36%。由于其特殊的限制表达模式——大多表达于单核/巨噬细胞中, 因此, 把这种分子命名为 IRAK-M。与其他 IRAK 家族成员一样, IRAK-M 含有一个氨基端的死亡结构域 (death domain, DD)、一个中心的激酶样区域和一个羧基端独特的氨基酸伸展区域<sup>[2,3]</sup>。

目前发现 IRAK-M 在肝内胆管上皮细胞胞质和肝实质细胞胞核、肺泡上皮细胞和支气管上皮细胞、血液中单核/巨噬细胞、破骨细胞等均可表达<sup>[4-6]</sup>。在静息状态的人 THP-1 单核细胞株, IRAK-M 可存在于胞质和胞核中, 但当 Pam3CSK4 刺激后, 可经细胞核向胞质转运, 使 IRAK-M 在细胞核中的浓度下降, 在胞质中的浓度增加<sup>[7]</sup>。肽聚糖 (peptidoglycan, PGN)、脂多糖 (LPS)、CpG-DNA 及 NO 供体 GSNO 等刺激可使 IRAK-M 的表达上调。糖皮质激素 (如 6-甲氢化泼尼松) 能使 IRAK-M 在破骨细胞中表达下调, 但在人 THP-1 等细胞中表达上调<sup>[8]</sup>。目前研究尚未发现 IRAK-M 表达于脑、胸腺和小肠等组织的实质细胞中<sup>[3]</sup>。

## 2 IRAK-M 在 TLRs 信号转导中的作用机制

TLR 家族是一类病原体模式识别受体, 当其识别 PAMP 后被激活, 并与胞内的接头蛋白髓性分化蛋白 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 相互作用, 进而募集 IRAKs 并构成相应的复合物<sup>[8,9]</sup>。复合物中的 IRAK-1 被 IRAK-4 磷酸化而活化。活化后的 IRAK-1 与受体复合物相分离, 与 TNF 受体相关因子 (tumor necrosis factor receptor associated factor, TRAF6) 相结合并使其磷酸化而活化。通过一系列级联反应后, 最终活化 NF- $\kappa$ B 和丝裂原活化的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 引起效应分子的活化。而 IRAK-M 作为负性调节因子, 通过抑制 IRAK-4 诱发的 IRAK-1 的磷酸化, 稳定 TLR/My88/IRAK-4/IRAK-1 复合物, 阻止下游 IRAK-TRAF6 复合体形成, 导致 TLRs 信号中断<sup>[1]</sup>。

Wesche 等<sup>[3]</sup>和 Nakayama 等<sup>[10]</sup>发现当 IRAK-M 在 293T 细胞中过度表达时激活 NF- $\kappa$ B, 但效能与效价

强度相似于 IRAK-2, 弱于 IRAK-1 和 IRAK-4; MyD88 基因缺乏小鼠失去了对 IL-1 和 IL-18 的反应性, 但在 IRAK-M 基因缺乏细胞中部分恢复 IL-1 信号转导通路。Deng 等<sup>[11]</sup>发现, 在 IRAK-M 基因缺乏小鼠中炎症反应显著增强, TNF- $\alpha$  等炎症细胞因子大量表达, NF- $\kappa$ B 和 MAPK 激活增加, 暗示着 IRAK-M 的缺乏与炎症反应增强和 TLR 信号通路激活有关, 也说明了 IRAK-M 的负性调节作用。

## 3 IRAK-M 负性调控 TLR 信号参与免疫耐受

使用 LPS 和其他 TLR 途径刺激物预处理的细胞或动物可诱导出内毒素耐受现象。Kobayashi 等<sup>[1]</sup>发现先用 LPS 刺激后 IRAK-M 表达明显增加, IRAK-1 的磷酸化减弱, 促使复合物 TLR/MyD88/IRAK-4/IRAK-1 稳定结合, 导致信号转导中断而出现内毒素耐受现象, 而 IRAK-M 基因缺陷细胞发生内毒素耐受的能力却大大地减弱。在小鼠内毒素耐受模型中, 先用低剂量的 LPS 诱导可使 IRAK-M 表达上调, IRAK-1 未受影响, 而用较高剂量 LPS 诱导时 IRAK-M 表达上升且伴有 IRAK-1 下调, 这暗示着 LPS 耐受与 IRAK-M 而不是 IRAK-1 有关<sup>[12]</sup>。Takebayashi 等<sup>[13]</sup>在无特异性病原体 (SPF) 小鼠细菌耐受模型中观察小肠后发现, 在细菌 (SPF) 作用下 T 细胞发生迁移, 与小肠的黏附增加; 若在十二指肠先注射 LPS 后, SPF 中 T 细胞黏附并未增强, 此时伴随着 IRAK-M 的 mRNA 和 TGF- $\beta$  的表达上调, 暗示着在淋巴细胞的募集中通过管腔内注射 LPS 而导致的细菌耐受可能与 IRAK-M 和 TGF- $\beta$  有关。Liu 等<sup>[14]</sup>发现, 在肝脏枯否氏细胞对 LPS 的耐受中, IRAK-M 的缺陷导致了炎症反应的异常增强。

在脓毒症继发支气管内铜绿假单胞菌感染的小鼠模型中, 泡状巨噬细胞功能削弱, TLR2 和 TLR4 表达未发生改变, 而 IRAK-M 表达上调。IRAK-M 基因缺陷脓毒小鼠的促炎细胞因子和共刺激因子, 如 CD40、CD80、CD86 表达水平增高。在二次感染中, IRAK-M 基因缺陷脓毒小鼠有更高的存活率和更强的肺和血液中细菌清除率, 此外, 更多的中性粒细胞募集于空隙中<sup>[11]</sup>。暗示 IRAK-M 与脓毒症时免疫抑制和疾病的加重有关。

Nakayama 等<sup>[10]</sup>还发现, 先用肽聚糖 (PGN) (30ug/mL) 处理小鼠 4—24h 后能引起 IRAK-M 表达上调, 并导致 PGN 耐受的发生, TNF- $\alpha$  表达受到抑制, PGN 耐受细胞再次受到 PGN 刺激时, 阻断 IRAK-M 的表达可使 TNF- $\alpha$  表达恢复, 表明 IRAK-M

的产生导致了 PGN 耐受的发生和发展。Kim 等<sup>[15]</sup>曾证明用 CpG-DNA 预处理小鼠细胞能导致细胞对再次 CpG-DNA 的低反应性, 此时 IRAK-1 的表达受到抑制而 IRAK-M 的表达上调, 同时也发现 IRAK-M 在持续高度表达 IRAK-M 的小鼠 RAW264.7 细胞 (IRAK-M-RAW) 中与在 CpG-DNA 预处理的对照组 RAW264.7 细胞 (con RAW) 中表达水平相当。进一步的研究证实抑制 IRAK-1 表达主要介导 CpG-DNA 的耐受, 而增加 IRAK-M 表达并不足以引起细胞对 CpG-DNA 的耐受, 但对于耐受形成是必需的。

Hayashi 等<sup>[16]</sup>发现, 用低剂量人工合成的 TLR-7 激动剂: 9-苯甲基-8-羟基-2-(2-甲乙醚)能诱导 TLR-2、TLR-7 和 TLR-9 的耐受, 在耐受中发现 IRAK-M 和 SHIP (Src homology 2 domain-containing inositol polyphosphate phosphatase)-1 表达上调。Hassan 等<sup>[17]</sup>用 TLR-7 的配体咪喹莫特 R837 预处理 RAW264.7 细胞后, 再用咪喹莫特 R837 或 TLR-2 的配体 Pam3-CysSK4 处理上述细胞, 发现 TNF- $\alpha$  表达下调, NF- $\kappa$ B、P38 和 SAPK (stress-activated protein kinase) 功能削弱, 而 IRAK-M 的表达上调, IRAK-1 的功能正常。这些结果提示 TLR-7 介导的免疫耐受可能与 IRAK-M 表达上调密切相关。

Xie 等<sup>[18]</sup>在试验中发现 IRAK-M 基因缺陷使小鼠对肿瘤的生长和扩散产生抵制作用。IRAK-M 基因缺陷的肿瘤和宿主中 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞数量增加, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> 调节型 T 胞数量减少。同时, T 细胞和 B 细胞的激活增强。肿瘤细胞能产生大量的神经节苷酯, Shen 等<sup>[19]</sup>证明外源性神经节苷酯能导致单核细胞中 IRAK-M 表达上调, 然而, 与 LPS 耐受不同的是 IRAK-M 的上调并未伴随促炎细胞因子的产生, 这也许正是导致肿瘤细胞能快速扩散的原因之一。

#### 4 问题与展望

在细胞中 IRAK-M 表达要适度, 表达过低导致自身免疫过强和炎症性疾病的发生, 而表达过度则导致免疫抑制、细菌扩散、脓毒症和肿瘤等疾病的发生。因此, 寻求一个 IRAK-M 表达与抑制的平衡对于疾病的治疗、预防和控制有重大意义。然而, 目前对于 IRAK-M 的研究还有许多的未知和疑问, 如启动 IRAK-M 表达的分子机制如何; 调控 IRAK-M 表达的信号通路; 为什么 IRAK-M 在大多数免疫耐受中起主导作用, 而在 CpG DNA 诱导耐受中 IRAK-M 却并不占主导作用等等。随着技术的不断进步, 对

这些机制的不断探讨和研究将进一步增加我们对 IRAK-M 等作用机制的了解。

#### [参 考 文 献]

- [1] Kobayashi K, Hernandez LD, Galan JE, et al. IRAK-M is a negative regulator of toll-like receptor signaling. *Cell*, 2002, 110(2): 191-202
- [2] Janssens S, Beyaert R. Functional diversity and regulation of different interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family members. *Mol Cell*, 2003, 11(2): 293-302
- [3] Wesche H, Gao X, Li XX, et al. IRAK-M is a novel member of the pelle/interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family. *J Biol Chem*, 1999, 274(27): 19403-10
- [4] Harada K, Isse K, Sato Y, et al. Endotoxin tolerance in human intrahepatic biliary epithelial cells is induced by upregulation of IRAK-M. *Liver Int*, 2006, 26(8): 935-42
- [5] Balaci L, Spada MC, Olla N, et al. IRAK-M is involved in the pathogenesis of early-onset persistent asthma. *Am J Hum Genet*, 2007, 80(6): 1103-14
- [6] Soares-Schanoski A, Gomez-Pina V, del Fresno C, et al. 6-Methylprednisolone down-regulates IRAK-M in human and murine osteoclasts and boosts bone-resorbing activity: a putative mechanism for corticoid-induced osteoporosis. *J Leuk Biol*, 2007, 82(3): 700-9
- [7] Su JM, Xie QF, Wilson I, et al. Differential regulation and role of interleukin-1 receptor-associated kinase-M in innate immunity signaling. *Cell Signal*, 2007, 19(7): 1596-601
- [8] Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*, 1999, 11(4): 443-51
- [9] Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors as adjuvant receptors. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1589(1): 1-13
- [10] Nakayama K, Okugawa S, Yanagimoto S, et al. Involvement of IRAK-M in peptidoglycan-induced tolerance in macrophages. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 6629-34
- [11] Deng JC, Cheng GH, Newstead MW, et al. Sepsis-induced suppression of lung innate immunity is mediated by IRAK-M. *J Clin Invest*, 2006, 116(9): 2532-42
- [12] van 't Veer C, van den Pangaart PS, van Zoelen MAD, et al. Induction of IRAK-M is associated with lipopolysaccharide tolerance in a human endotoxemia model. *J Immunol*, 2007, 179(10): 7110-20
- [13] Takebayashi K, Hokari R, Kurihara C, et al. Oral tolerance induced by enterobacteria altered the process of lymphocyte recruitment to intestinal microvessels: roles of endothelial cell adhesion molecules, TGF- $\beta$  and negative regulators of TLR signaling. *Microcirculation*, 2009, 16(3): 251-64
- [14] Liu ZJ, Yan LN, Li XH, et al. Up-regulation of IRAK-M is essential for endotoxin tolerance induced by a low dose of lipopolysaccharide in Kupffer cells. *J Surg Res*, 2008, 150(1): 34-9
- [15] Kim YI, Park JE, Martinez-Hernandez A, et al. CpG DNA prevents liver injury and shock-mediated death by modulating expression of interleukin-1 receptor-associated kinases.

- J Biol Chem, 2008, 283(22): 15258-70
- [16] Hayashi T, Gray CS, Chan M, et al. Prevention of autoimmune disease by induction of tolerance to toll-like receptor 7. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(8): 2764-9
- [17] Hassan F, Islam S, Tumurkhuu G, et al. Involvement of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK)-M in toll-like receptor (TLR) 7-mediated tolerance in RAW 264.7 macrophage-like cells. Cell Immunol, 2009, 256(1-2): 99-103
- [18] Xie QF, Gan L, Wang JX, et al. Loss of the innate immunity negative regulator IRAK-M leads to enhanced host immune defense against tumor growth. Mol Immunol, 2007, 44(14): 3453-61
- [19] Shen WP, Stone K, Jales A, et al. Inhibition of TLR activation and up-regulation of IL-1R-associated kinase-M expression by exogenous gangliosides. J Immunol, 2008, 180(7): 4425-32

## · 简讯 ·

### 共同应对甲型 H1N1 流感疫情: 德国艾本德股份公司向 上海市公共卫生临床中心捐赠荧光定量 PCR 仪

上海市公共卫生临床中心是上海指定的防控甲型 H1N1 流感的定点医疗机构, 中心应急检测与生物安全实验室是国家病原微生物卫生应急实验室网络成员, 承担着传染病病原体检测和监测任务。在 2006 年高致病性禽流感, 2008 年手足口病的病毒检测中发挥了重要作用, 积累了宝贵的经验。

中心应急检测和生物安全实验室凭借自身优势根据 WHO 发布的甲型 H1N1 流感实验室检测指南以及国家疾病预防控制中心甲型 H1N1 流感病毒实验室检测技术方案, 做好应对甲型 H1N1 流感疫情的技术储备工作, 采用最先进的分子生物学方法对 H1N1 病毒进行检测, 大大提高检测结果的准确度、灵敏度与重复性; 帮助实验室在极短的时间内完成一次检测, 有效提高检测量以应对此次疫情。由此, 荧光定量 PCR 仪成为不可或缺的实验设备, 应急检测实验室急需一台专用的荧光定量 PCR 仪。

1945年在德国汉堡成立的德国艾本德股份公司(Eppendorf AG)是一家全球领先的从事生命科学实验室产品的开发、制造和经营业务的生物技术公司。其创新的技术和卓越的品质成为实验室仪器标准的代名词。为扩大在中国的业务, 向中国的客户推出全球同步的生命科学实验室产品和提供更便捷的售后服务, 德国艾本德股份公司在中国注册了上海艾本德生物技术国际贸易有限公司, 分别在北京和广州成立了办事处, 启动直销的经营模式。

此次, 艾本德公司在获悉上海市公共卫生临床中心为应对甲型 H1N1 流感病毒急需一台实时荧光定量 PCR 仪进行应急检测工作时, 当即决定从样机中捐赠一台给上海市公共卫生临床中心, 充分体现了艾本德公司对于上海市公共卫生事业的关注和支持。

2009年5月12日, 在上海市公共卫生临床中心举行了捐赠仪式。上海市卫生局、公共卫生临床中心领导, 上海艾本德生物技术国际贸易有限公司总经理出席, 相关报刊媒体代表见证了这一捐赠仪式。