

Dostu düşmanı ayıran bir doğal immünite bileşeni: toll-like reseptörler (TLR)

Tuba Turul¹, Fügen Ersoy²

¹Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Ünitesi, Ankara

²Prof. Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Ünitesi, Ankara

Toll-like reseptörler (TLR), birçok patojene karşı doğal immün cevabın oluşmasını sağlayan bir grup tip 1 transmembran proteindir. Aynı zamanda adaptif immün cevabın da aktive olmasını sağlayarak konak immünitesinde çok önemli role sahiptirler.

İmmün sistem, doğal (nonspesifik) ve adaptif olarak ayrılan iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir. Bu iki sistem birbiriyle çok hassas bir denge içerisinde ve yardımlaşma ile çalışarak konağı patojenlere karşı korumaktadır.

Doğal immünite, bir patojenle karşılaşınca ilk cevabı doğumdan itibaren oluşturabilen ve konağın kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip olan savunma sistemidir. Adaptif immün sistem, spesifik ve antijenle tekrarlayan karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü cevap oluşturma gibi üstünlüklere sahiptir. Ancak adaptif immün sistem sadece omurgalı canlılarda mevcutken, canlılar bitki ve hayvan ailesine ayrılmadan önce de var olan doğal immün sistem son zamanlarda hak ettiği ilgiyi bulabilmiştir.

Doğal immün sistem, hücreleri ve çeşitli molekülleri içerir. Hücresel elemanlar polimorfonükleer lökosit, monosit, makrofaj, eozinofil, mast hücre ve bazofiller, çözünür faktörler ise sitokinler, akut faz reaktanları ve kompleman sisteminden oluşur [1].

Organizmanın enfeksiyonlarla mücadelesinde hem evrimsel olarak eski hem de oldukça evrensel olan doğal immün sistem, spesifik immüniteyle kıyaslandığında patojenleri tanıyan reseptörler açısından daha kısıtlı bir repertuara sahiptir. Adaptif immün sistemin, antijen tanıma kapasitesi çok geniş bir reseptör repertuarıyla spesifisiteyi sağlarken, doğal immün sistem patojenlerde ortak olan bir dizi moleküler yapıyı tanıyabilmekte ve böylece konağı ait olan ve olmayanı belirleyerek savunmayı başlatabilmektedir. Patojenler üzerinde bu evrimsel olarak korunmuş moleküler yapılar "hastalık etkenlerine eşlik eden moleküler yapılar (PAMP)" denilmektedir. Doğal immün sistem hücreleri üzerinde bunları tanıyan reseptörlere de "Pathogen Recognition Receptor (PRR)" adı verilmektedir. Bu reseptörler, endositik, sekrete edilen ve sinyal ileten olmak üzere üç gruba ayrılır. Sinyal ileten reseptör grubunu TLR ailesi oluşturmaktadır [2]. TLR'ler, mikrobiyal ajanlar tarafından üretilen PAMP'ları tanırlar. Bakteriyel hücre duvarı gibi yapıları oluşturan PAMP'lar mikrobiyal sağkalım için kritik önem taşımaktadır ve bu nedenle bu tür molekülleri taşıyan mikroorganizmalar mutasyon ile doğal immün sistemden kaçmamaktadır.

İlk kez *Drosophila* türünde, embriyonal gelişim basamaklarında rol aldığı bilinen bir reseptör olarak tanımlanan ve daha sonra mutant olan sineklerde fungal enfeksiyonlara yatkınlık oluştuğu fark edilerek, immün sistem cevabında önemli

fonksiyonu olduğu düşünülen reseptöre "toll" adı verilmiştir. Ancak 1997 yılında insan homologu tariflenmiş ve şaşırtıcı bir şekilde doğal immün sistemin parçası olduğu görülmüştür. Bir grup PRR olan ve patojen tanınmasında, inflamatuvar ve immün sistem cevabının başlatılmasında oldukça önemli bir role sahip olan TLR, karakteristik olarak ekstraselüler lözinden zengin tekrar bölgeleri (LRR) ve intraselüler toll/interlökin (IL)-1 reseptör (TIR) domaininden oluşur. TLR, PAMP ile bağlandığında, intrasitoplazmik TIR domaini aracılığı ile bir dizi sinyal iletim yolağı aktive olur. Bunun sonucu olarak antimikrobiyal protein ve inflamatuvar sitokinler sentezlenmektedir. Bunlara ek olarak dendritik hücrelerin matürasyonu ve antijen sunum kapasitesindeki artış neticesinde, doğal immün sistem adaptif immün sistemi bir tehlikeye işaret edencesine işaret ederek yönlendirmektedir.

Günümüzde, insan ve farede 10 tane TLR tanımlanmıştır. İlk tanımlanan TLR-1 olmasına rağmen, bu reseptörlerden fonksiyonu ilk belirlenen TLR-4 olmuştur. Ancak her bir TLR'nin ligand spesifitesi farklıdır (Tablo 1).

TLR'ler hem lenfoid hem de nonlenfoid dokuda eksprese olmaktadır. Northern blot analizi ve mRNA ekspresyonuna bakılarak, TLR-1'in ağırlıklı olarak monosit, nötrofil, B-hücreleri ve natural killer (NK) hücrelerinde, TLR-2'nin monosit, nötrofil ve dendritik hücrelerde, TLR-3'ün dendritik hücrelerde, TLR-4'ün endotelial hücreler, monosit, nötrofil ve dendritik hücrelerde,

TLR-5'in ise monosit ve dendritik hücrelerde eksprese olduğu gösterilmiştir [3,4]. Ancak tüm bu veriler mRNA ekspresyonu esasına dayandığı için, fonksiyonel proteininin kesin olarak varlığını gösterdiğini söylemek mümkün değildir. Ayrıca, mRNA ekspresyonu, hücre içinde mi yoksa hücre yüzeyinde mi bulunduğu ayrımını yapamamaktadır. Kısıtlı sayıda TLR antikoru bulunduğu için yüzey ekspresyonları hakkındaki bilgiler yeterli değildir [5].

İnsan *tlr* genlerinin, kromozom 4p14 (TLR-1), 4q32 (TLR-2), 4q35 (TLR-3), 9q32-33 (TLR-4), 1q33.3 (TLR-5), 4p16.1 (TLR-6), Xp22.3 (TLR-7), Xp22 (TLR-8) ve 3p21.3 (TLR-9) üzerinde olduğu gösterilmiştir [6].

TLR-4

İnsanda en çok araştırılan ve fonksiyonu aydınlatılan TLR olan TLR-4 lipopolisakkaridler (LPS)'in tanınmasında rol almaktadır. TLR-4'ün bir LPS reseptörü olduğu ortaya çıkarılmıştır [7]. TLR-4 fonksiyonel olarak hücre yüzeyinde CD14, MD-2 ve LPS-bağlayıcı proteini içeren bir molekül kompleksini oluşturmakta ve bu moleküllerden herhangi birisi eksik olan farelerde LPS cevabının da eksik olduğu gözlenmektedir. İzleyen değerlendirmelerde, gram-negatif bakterilerin oluşturduğu ağır infeksiyonlarla TLR-4 mutasyonlarının (Asp299Gly ve Thr399Ile) birlikteliği dikkat çekmiştir. Prematürite ve graft versus host hastalığı (GvHH)'nin özellikle gram-negatif infeksiyonlarla ilişkili olabileceği dikkate alınarak yapılan çalışmalarda, her iki antijenin de TLR-4

Tablo 1. TLR ailesi ve ligandları*

TLR	Ekzojen ligandlar	Endojen ligandlar
TLR-1 (TLR-2 ile birleşebilir)	Mikobakteriyel lipoprotein Triaçile lipopeptidler	Bilinmiyor
TLR-2	LPS, zimosan, peptidoglikan, Lipoproteinler, tripanozoma cruzi (GPI ankor)	HSP60, sürfaktan protein A
TLR-3	Poli (I:C) (viral dsDNA)	Bilinmiyor
TLR-4	LPS, RSV	HSP60, HSP70, doymuş ve doymamış yağ asitleri, hiyalüronik asit, sürfaktan protein A
TLR-5	Flagellin	Bilinmiyor
TLR-6 (TLR-2 ile birleşebilir)	Mikoplazma lipoproteinleri, lipoteikoik asit, peptidoglikan	Bilinmiyor
TLR-7	Bilinmiyor; sentetik bileşikler (resiquimod, imiquimod)	Bilinmiyor
TLR-8	Bilinmiyor; sentetik bileşikler (resiquimod, imiquimod)	Bilinmiyor
TLR-9	CpG DNA	daDNA
TLR-10	Bilinmiyor	Bilinmiyor

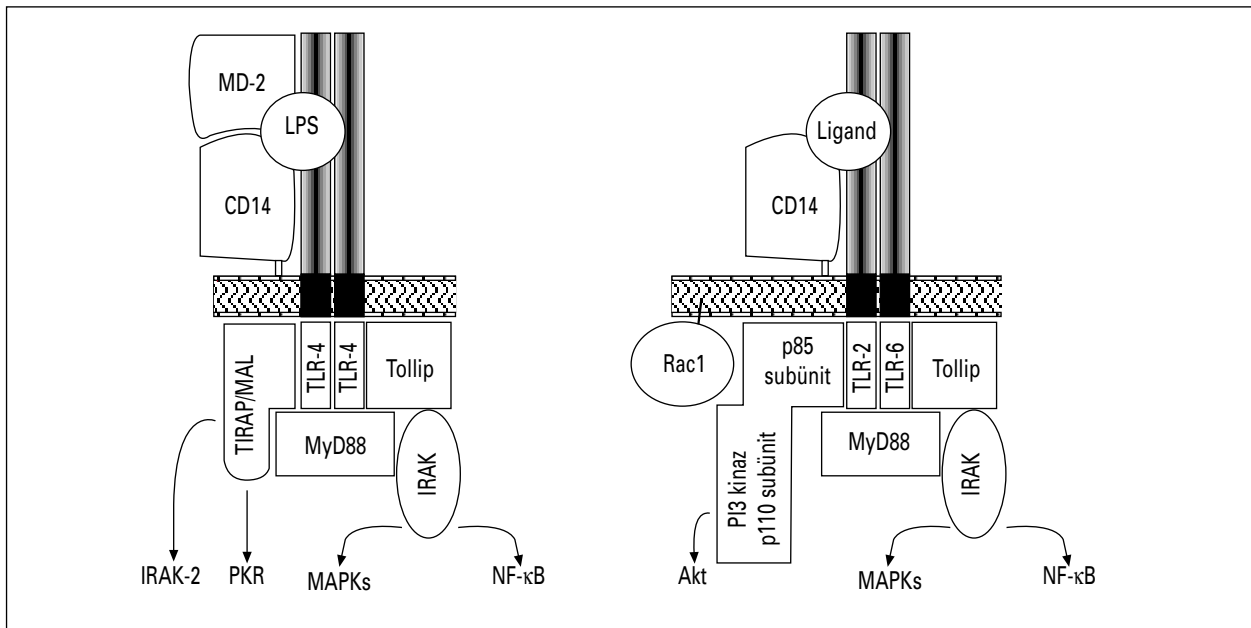
* 5 no'lu kaynaktan alınmıştır.

mutasyonları ile ilişkisine dair sonuçlar elde edilmiştir. Lorenz ve arkadaşları, TLR-4'te Asp2999Gly polimorfizmi ile Finli toplumdaki prematüre doğum riskinde artış şeklinde bir ilişki göstermişlerdir. Yine aynı grup, TLR-4 mutasyonları ile HLA uygun kardeşten kemik iliği nakli yapılmış vakalarda akut GvHH riskinde artışın paralellik gösterdiğini saptamışlardır. Bu konudaki en çarpıcı sonuç Agnese ve arkadaşları tarafından yoğun bakım ünitesinde sistemik inflamatuvar sendromu olan vakalarda yapılan çalışmada belirlenmiştir. TLR-4 mutasyonu olan vakalarda gram-negatif infeksiyon insidansı anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur [8]. Kiehl ve arkadaşları tarafından sunulan diğer bir çalışmada ise TLR-4 polimorfizmi ile aterogenez riskinin azalması arasında bir bağlantı gözlenmiştir [9].

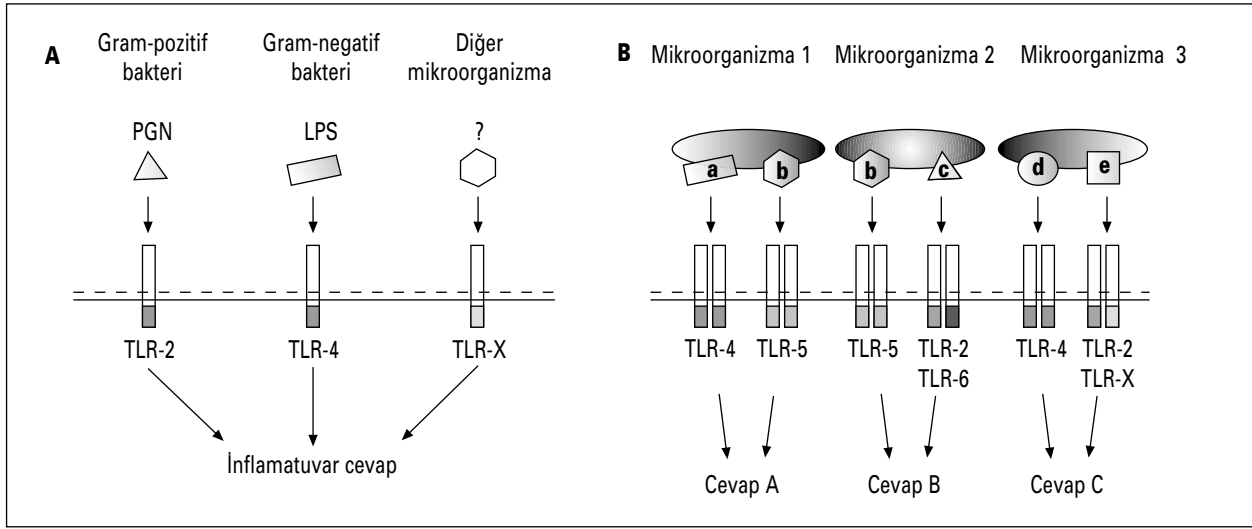
CD14, TLR-4'ü ve ekstraselüler aksesuar bir protein olan MD-2'yi içeren bir kompleksle birleşmektedir (Şekil 1). Hem TLR-4 hem de MD-2'nin LPS yapılarının ayırımında önemli olduğu bilinmektedir. TLR-4'ün LPS dışında, konağa ait olan veya olmayan birçok molekülü tanıyabildiği bilinmektedir [10]. TLR-4 tarafından tanınan diğer bir yabancı molekül respiratuvar sinsityal virüsün füzyon proteini (F protein)'dir [11]. Hem endojen hem de mikrobiyal kaynaklı "Heat-Shock Protein 60 (HSP60)"ın da TLR-4'ün tanınması sonucunda inflamatuvar sinyal oluşturduğu gösterilmiştir [12]. TLR-4 üzerinden sinyal ileten bir başka endojen ürün fibronektinin ekstra domain A (EDA) bölgesidir [13]. Çok net olmamakla birlikte fibrinojen, bakteriyel fimbriae, teikuronik asit ve *Mycobacterium tuberculosis*'in TLR-4 tarafından tanındığı öne sürülmektedir.

TLR-2

Hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakteriler üzerinde bulunan lipoproteinlerin TLR-2'nin tanınması sonucunda hücreleri aktive ettiği gösterilmiş ve TLR-2'nin ağırlıklı olarak lipoproteinleri tanıyan reseptör olduğu düşünülmüştür [14]. Ancak LPS'nin bazı varyantları da TLR-2 aracılığı ile tanınabilmektedir. TLR-2 peptidoglikan, lipoteikoik asit, gram-pozitif LPS ve bir grup gram-pozitif makromolekül ile bağlanıp cevap verebilmektedir. Tek bir TLR nasıl bu kadar geniş yelpazede molekülü tanıyabilmektedir? TLR-2'nin ligandları tanınması ve sinyal iletimi oluşturabilmesi için diğer TLR'ler ile dimerize olması gerekmektedir. Peptidoglikan, TLR-2 ve TLR-6'nın dimer oluşturduğu reseptör aracılığı ile sinyal iletirken, lipoproteinler, TLR-6'ya ihtiyaç duymadan TLR-2'yi aktive edebilmektedir. Benzer şekilde TLR-2 ve TLR-6 birlikte mikoplazma lipoproteininin tanınması için gereklidir. Gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin lipoproteinleri tek başına TLR-2 ile tanınmaktadır [15]. Yine TLR-2 ile TLR-1'in dimerizasyonu ile *Neisseria* reseptörü oluşmaktadır. Sadece TLR-2, TLR-1 ve TLR-6 ile heterodimerize olarak farklı molekülleri tanıma kapasitesini artırırken, aktive olmak için heterodimerizasyon gerekmeyen TLR-4 için bu görevi muhtemelen MD-2 ve CD14 gibi diğer yardımcı moleküller yürütmektedir [16].



Şekil 1. TLR sinyal kompleksi (2 no'lu kaynaktan alınmıştır).



Şekil 2. TLR'nin mikroorganizmaları tanınması (2 no'lu kaynaktan alınmıştır).

TLR-5

TLR-2, TLR-4 ve TLR-6 birçok farklı mikrobiyal ajana cevap verebilirken, TLR-5 ve TLR-9 tek bir yapıyı spesifik olarak tanıyan reseptörlerdir. TLR-5 bakteriyel flagellanın temel yapısal bir bileşeni olan bakteriyel flagellini tanımaktadır [17]. Flagellin, karbonhidrat veya lipid içermeyen saf bir protein yapıya sahiptir. TLR-5'in ligandı olan flagellin ile bağlanması sonucu tümör nekroz faktörü (TNF)- α gibi inflamatuvar sinyal oluşur.

TLR-9

Mikrobiyal DNA'da memeli DNA'sına kıyasla çok yüksek oranda metile olmamış CpG yapıları bulunmaktadır. Akira ve arkadaşları, bu yapılar için insandaki reseptörün TLR-9 olduğunu göstermişlerdir [18].

Her bir TLR mikroorganizmalardaki farklı yapılara cevap vermektedir. TLR-2 gram-pozitif bakterilerin peptidoglikan kısmını tanıyabilirken, TLR-4 gram-negatif bakterilerin LPS yapısına cevap oluşturmaktadır. Henüz tanımlanmamış TLR'ler (TLR-X) ise belki de farklı mikroorganizmalara bağlanabilmektedir. Böylelikle mikroorganizma aynı anda farklı TLR'ler ile tanınarak doğal immün sistem tarafından daha detaylı tanımlanabilmektedir. TLR-5'in TLR-4 ile birlikte gram-negatif flagellalı mikroorganizmaları tanınması veya TLR-5'in TLR-2 ve TLR-6 ile birlikte flagellalı gram-pozitif mikroorganizmaları tanınmasını buna örnek olarak gösterebilmekteyiz (Şekil 2).

Sonuç olarak, şu ana kadar bu 10 TLR'nin fonksiyonları belirlenebilmesine rağmen TLR'lerin inflamasyon ve doğal immün cevapta merkezi bir rol oynarken, adaptif immüntenin önemli düzenleyicileri olduğu konusunda

şüphe yoktur. Bu bulgular, doğal immün sistemin kendisinden olmayana tanımda kullandığı mekanizmaların detaylarını, yeni ligand ve sinyal iletim yollarının da keşfiyle ortaya çıkarılabileceğini göstermektedir.

Kaynaklar

1. Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20:197-216.
2. Underhill DM, Ozinsky A. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immunol* 2002; 14:103-10.
3. Muzio M, Bosisio D, Polentarutti N, et al. Differential expression and regulation of Toll-like receptors (TLR) in human leucocytes: selective expression of TLR-3 in dendritic cells. *J Immunol* 2000; 164:5998-6004.
4. Tapping RI, Akashi S, Miyake K, et al. Toll-like receptor 4, but not Toll-like receptor 2 is a signalling receptor for *Escherichia* and *Salmonella* lipopolysaccharides. *J Immunol* 2000; 165:5780-7.
5. Lien E, Ingalls RR. Toll-like receptors. *Crit Care Med* 2002; 30(Suppl):1-11.
6. Utahaisangsook S, Day NK, Bahna SL, Good R, Haraguchi S. Innate immunity and its role against infections. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88:253-65.
7. Agnese DM, Calvano JE, Hahn S, et al. Human Toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis* 2002; 186:1522-5.
8. Schmitt C, Humeny A, Becker CM, et al. Polymorphisms of TLR4: rapid genotyping and reduced response to lipopolysaccharide of TLR4 mutant alleles. *Clin Chem* 2002; 48:1661-7.
9. Kiehl S, Lorenz E, Reindal M, et al. Toll-like receptor 4 polymorphism and atherogenesis. *N Engl J Med* 2002; 347:185-92.
10. Kawasaki K, Akashi S, Shimazu R, Yoshida T, Miyake K, Nishijima M. Mouse Toll-like receptor 4, MD-2 complex mediates lipopolysaccharide-mimetic signal transduction by TLR. *J Biol Chem* 2000; 275:2251-4.

Turul ve Ersoy

11. Kurt-Jones EA, Popova L, Kwinn L, et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat Immunol* 2000; 1:398-401.
12. Ohashi K, Burkart V, Flohe S, Kolb H. Heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the Toll-like receptor-4 complex. *J Immunol* 2000; 164:558-61.
13. Okamura Y, Watari M, Jerud ES, et al. The extra domain A of fibronectin activates Toll-like receptor 4. *J Biol Chem* 2001; 276:10229-33.
14. Sieling PA, Modlin RL. Toll-like receptors: mammalian "taste receptors" for a smorgasbord of microbial invaders. *Curr Opin Microbiol* 2002, 5:70-5.
15. Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between Toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:13766-71.
16. Wylie DH, Kiss-Toth E, Visintin A, et al. Evidence for an accessory protein function for Toll-like receptor 1 in antibacterial responses. *J Immunol* 2000; 165:7125-32.
17. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001; 410:1099-103.
18. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000; 408:740-5.