

固有免疫识别与调控分子机制的研究进展

Advances in molecular mechanisms of recognition and regulation of innate immunity

胡焯¹综述;许小青²审阅(1. 天津医科大学 医学检验学院,天津 300203; 2. 中国医学科学院 基础医学研究所,北京 100730)

[摘要] 固有免疫是人体防御外来病原体侵袭的第一道防线,也是适应性免疫的基础和启动者,在生物体内发挥重要作用,可以维持宿主免疫反应和保护感染组织间的平衡,该过程必须被精细识别与调控。近年来,固有免疫在分子水平上的识别及调控机制越来越受到关注。哺乳动物的固有免疫识别及调控主要通过一系列胚系编码的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别病原微生物上表达的保守的病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)来实现,这种形式让机体不但可以发现入侵的病原体,而且能够识别其类型,并通过一系列信号途径活化效应分子,识别自我与非我,激活与调控固有免疫应答,并且相互协同或互相调节以形成调控网络,从而控制并清除病原体,在固有免疫中发挥独特的功能。而随着分子技术的发展,固有免疫识别与调控在分子水平的研究成果的转化将对包括肿瘤在内的其他免疫性疾病等在治疗方面将产生重大的影响。但目前对于固有免疫信号转导途径的研究还不是很完善,信号通路中各个分子的具体作用机制还需要深入研究。

[关键词] 固有免疫;模式识别受体;病原体相关分子模式;分子机制;肿瘤生物治疗

[中图分类号] R392.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2013)04-0485-08

固有免疫是生物体抵御外来病原微生物侵袭的第一道防线,固有免疫主要研究固有免疫细胞包括肥大细胞(mast cell),树突状细胞(dendritic cell, DC),巨噬细胞(macrophage),自然杀伤细胞(natural killer cell, NK),粒细胞(granulocyte)及 $\gamma\delta$ T细胞等如何识别病毒、细菌等病原体感染,以及随后触发的免疫与炎症反应及其调控机制。目前发现,哺乳动物主要通过胚系编码的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP),实现对外来病原体的早期识别,进而启动固有免疫的效应机制,上调抗原提呈细胞表面共刺激分子的表达,诱导T或B细胞向效应T或B细胞分化,最终调节适应性免疫,决定特异性免疫的激活类型、程度与规模^[1-2]。

目前认为,PRR主要包括5个家族:C型凝集素受体(C-type lectin receptor, CLR)、Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)、胞质RNA受体(cytoplasmic RNA receptor, CRR)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor, NLR)以及胞质DNA受体(cytoplasmic DNA-associated receptor, CDR)家族^[3-7]。PRR定位在细胞膜、胞内体、内质网膜或胞质内,分别识别不同的PAMP。

1 TLR及其介导的固有免疫识别及信号转导调控

机制

TLR是一类进化保守的胚系编码模式识别受体,通过结合不同的细菌或病毒的分子结构,启动机体的固有免疫反应,并激活适应性固有免疫反应,是最重要的模式识别受体。TLR属于I型穿膜蛋白,有富含亮氨酸的胞外区、富含半胱氨酸的穿膜区和Toll/IL-1R同源的胞内区。目前在人类中发现了11种TLR,其中TLR1、2、4、5、6、10表达于细胞表面,TLR7、8、9位于胞质中的内体,TLR3可表达于细胞表面或内体^[8]。细胞表面的TLR不仅可识别外源微生物的膜成分,如革兰氏阴性菌的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、革兰阳性菌的肽聚糖(peptidoglycan, PGN)、脂磷壁酸、磷壁酸及病毒的RNA和DNA等,而且可识别损伤的组织或细胞释放的内源性配体,诱导固有免疫应答;位于内体的TLR主要识别胞内的微生物核酸成分,以及病毒颗粒经内吞作用在内体或溶酶体被降解而释放出病毒DNA或

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 31270945)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31270945)

[作者简介] 胡焯(1989-),女,安徽省淮南市人,硕士生,主要从事固有免疫识别与免疫调节的基础研究。E-mail: doctorhu08@sina.com

[通信作者] 许小青(Xu Xiaoqing, correspondence author), E-mail: xqing011@yahoo.com

RNA。正常自身的 RNA 存在于胞质, 自体 DNA 多滞留在核内, 不进入内体, 因此不能为内体的 TLR 所识别而活化固有免疫系统。因此, TLR 在细胞的分布位置是机体区分自我和非我 RNA 的机制之一^[9]。近年的研究^[10-11]发现, 进入细胞内的 siRNA (small interfering RNA) 可被内体的 TLR3、TLR7 或 TLR8 识别而引起免疫刺激, 通过 2' O 的甲基化修饰可抑制 I 型 IFN、TNF- α 等炎症因子的产生。

1.1 TLR 的信号转导途径

TLR 与配体结合后, 激活相似的信号转导途径, 诱导目的基因活化, 完成一定的生物学功能, 但每个 TLR 又因使用相对特异的接头蛋白而具有各自的特性。目前公认的 TLR 信号通路主要根据接头分子的不同分为髓样分化因子 88 (myeloid different factor 88, MyD88) 依赖和干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF) 依赖的 (或者称为 MyD88 非依赖) 两条不同的信号转导途径 (图 1)^[12]。

(1) 大部分的 TLR 与特定的配体结合后, 促使其本身二聚化, 并通过自身胞内段的 TIR 结构域传递信号和激发下游效应。首先 TIR 结构域与接头分子 MyD88 羧基端的 TIR 结构域相互作用, 使 MyD88 活化, 随后通过 MyD88 的死亡结构域 (death domain, DD) 与白介素-1 受体相关激酶 (IL-1 receptor-associated kinase, IRAK) 家族蛋白分子氨基端的死亡域相互作用, 结合成为信号转导复合物, 从而诱导两种不同的信号转导通路: 一种是通过激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 诱导 AP-1 转录因子的激活; 另一种途径是活化后的 TRAF6 与转化生长因子- β 相关激酶 (TGF- β associated kinase, TAK1) 及 TAK1 的结合蛋白形成复合体, 进而激活 NF- κ B 诱导激酶 (NF- κ B inducing kinase, NIK), NIK 被活化后进一步磷酸化 I κ - β 酶复合物 (inhibitor of nuclear factor kappa- β kinase, IKK), 活化的 NF- κ B 抑制物激酶复合体 (inhibitor of NF- κ B kinase complex, IKK) 作用于 NF- κ B 的抑制物 (inhibitor of NF- κ B, I- κ B), 使 I- κ B 的 2 个丝氨酸位点被磷酸化, 导致 I- κ B 泛素化而降解, 而使转录因子 NF- κ B 从 I κ β /NF- κ B 的复合物中释放出来迁移到细胞核内, 最终导致相关基因的转录。(2) 在所有 TLR 中, 目前已知仅 TLR3 和 TLR4 存在着 MyD88 非依赖途径, 即招募 TRIF 介导信号转导, 通过接头分子 TRIF 或者 TRAM 募集 TRAF3 和 TRAF6 分别通过 TBK1 和 TAK1 引

起 NF- κ B 的晚期活化和 IRF-3 的核转位, 调控炎症因子和 I 型 IFN 的表达。TRAF6 催化形成的 K63-链接的多聚泛素链直接激活 TAK1, 而 TRIF-RIP1 信号复合物还需要 TRADD 和 Pelli 分子的参与^[11]。

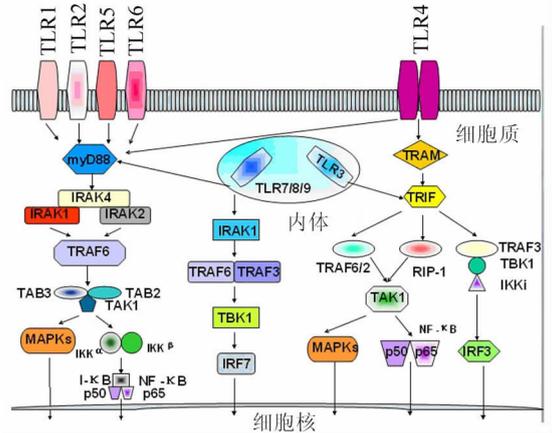


图 1 TLR 信号转导通路

1.2 TLR 信号转导的调控

TLR 信号过度活化或活化不足均会导致机体功能异常和疾病的发生, 因此受许多其它信号通路的正相或者负相调控, 使之维持适度的活化水平。作为 TLR 信号转导通路中的正相调控分子, 酪氨酸激酶 Btk (Bruton's tyrosine kinase, Btk) 参与了 TLR4 和 TLR9 信号途径, 增强 NF- κ B 的 p65 亚基的磷酸化即促进下游基因的表达。主要组织相容性复合体 II (major histocompatibility complex class II, MHC II) 在促进 TLR 触发的固有免疫应答中发挥关键作用。MHC II 类分子除具抗原呈递功能之外, 还可通过调控 TLR 信号通路参与固有免疫反应的分子机制。研究^[13]表明, 细胞内 MHC II 分子通过共刺激分子 CD40 与酪氨酸激酶 Btk 相互作用, 进而维持 Btk 的活性, Btk 进而活化下游分子 MyD88 和 TRIF, 促进促炎因子及 I 型 IFN 的产生, 从而激活 TLR 触发的固有免疫应答反应。

近年来, 关于 TLR 信号转导通路的负向调控机制一直是研究的热点。免疫细胞内存在多层次的不同靶点的负向调控分子, 如 MyD88s 可以和 MyD88 竞争性结合 TIR 结构域使之不能向下游传递信号, SOCS3 经 STAT1 活化后同时抑制 TLR4 的 MyD88 依赖途径中 TRAF6 活性和 MyD88 非依赖途径中的 TRAF3 活性, E3 连接酶 TRIAD3A 可以通过促进 TLR 本身的泛素化从而抑制 TLR 信号。

Xia 等^[14] 和 Allen 等^[15] 分别报道了 NLR 家族

成员之一 NLRX1,揭示了 NLRX1 在 TLR 信号通路及 RIG-I 信号通路中的负向调节作用。据 Yuk 等^[16]最新报道,核孤儿受体 SHP(short heterodimer part-ner, SHP)能通过抑制 NF- κ B 的 p65 亚基活化和 TRAF6 的多聚泛素化,从而抑制 TLR 信号触发的炎症因子产生。另外,研究^[17]发现,整联蛋白 CD11b 激活酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk) 以及 Cbl(casitas blineage lymphoma)家族成员 Cbl-b 可降解 TRIF 和 MyD88,抑制 TLR 介导的信号转导。

2012 年,有研究^[18]证实,组成性的 MHC I 类分子可通过 Fps-SHP-2 信号对 TLR 触发的炎症应答进行负调控。研究人员发现当 TLR 激活后,Src 激酶使得 MHC I 类分子胞内域磷酸化,随后酪氨酸激酶 Fps 通过 Src 同源结构域 2(Src homology domain 2, SH2)招募至磷酸化的 MHC I 类分子处,从而导致 Fps 活性增强,招募磷酸酶 SHP-2,干扰了信号分子 TRAF6 介导的 TLR 信号。该实验室还发现 Notch 信号能负调控 TLR 激活的炎症应答,揭示出 TLR 途径通过 Notch 途径介导的一种负调控新机制^[19]。

另外,TLR 不仅启动固有免疫应答,控制炎症反应的性质、强度和持续时间,还可以通过上调抗原提呈细胞表面共刺激分子和 MHC II 的表达,促进 DC 的成熟,指导抗原特异的免疫应答,尤其是 Th1 型反应的产生,调节适应性固有免疫应答的强度和类型,成为连接固有免疫和适应性固有免疫应答的枢纽。例如:TLR3、TLR4、TLR9 可与 NOD1、NOD2 协同刺激作用,刺激 DC 分泌 IL-12、p70、IFN 等细胞因子,使免疫应答向 Th1 分化。

2 NOD 样受体家族及其介导的固有免疫识别及调控机制

现已发现,人类有 20 多个 NLR 成员,大部分的成员在细胞中表达广泛,如 NOD1 广泛表达于成人组织细胞,NOD2 表达于骨髓源细胞。NLR 主要由三个不同的结构域组成:C 端富含亮氨酸的重复序列(leucine-rich repeat, LRR),在识别配体中发挥着重要的作用;N 端为效应结构域如胱天蛋白酶募集域(caspase-activating and recruitment domain, CARD) 及 PYD 结构域(pyrin domain, PYD),主要连接 NLR 受体分子与下游的衔接蛋白及效应分子,中间是 NACHT,它对 NLR 的寡聚体化、活化非常重要。根据 NACHT 结构域将人的 NLR 分为核苷酸结合寡聚域蛋白(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD)、含有 NACHT-LRR-PYD 结构域蛋白(neuronal apoptosis LRR-and pyrin-domain(PYD)-containing

protein, NALP)、MHC II 类分子反式激活蛋白(class II transactivator, C II TA)、神经元凋亡抑制蛋白(neuronal apoptosis inhibitory protein, NAIP)、ICE-蛋白酶活化因子(ICE-protease-activating factor, IPAF)等,其中 NOD 与 NALP 是主要的成员^[20-21]。

2.1 NOD 受体的信号转导通路

NOD 是指结合核苷酸的寡聚结构域,NOD1 和 NOD2 是 NLR 家族中最典型的成员。其中,NOD1 有 1 个 CARD 结构域而 NOD2 有 2 个。NOD1 和 NOD2 都能识别来自细菌细胞壁的肽聚糖独特的亚结构。NOD1 和 NOD2 被它们各自的配体激活后的一个主要结果就是引起下游的 NF- κ B 信号通路激活。NOD1 和 NOD2 接收到 PGN 信号后迅速形成寡聚体,然后通过 CARD-CARD 的相互作用引起受体相互作用蛋白 2(receptor-interacting protein 2, RIP2)的聚集^[22]。NOD-RIP2 复合物使 IKK 聚集,继而通过磷酸化和泛素化 I- κ B,使 NF- κ B 与其抑制剂分离,导致 NF- κ B 激活。NOD1 和 NOD2 激活的另一个结果是丝裂原活化的蛋白激酶通路的激活,NOD1 参与 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)活化,NOD2 则活化 p38 和 ERK。

2.2 NALP 和炎性复合体的信号转导通路

NOD1/NOD2 的活化是通过激酶 RIP2、MAPK、NF- κ B 等因子介导的,其他成员如 NALP、IPAF 与 Cryopyrin/NAIP3 的活化则是通过一系列 caspase 的复合物介导的。NALP 是 NLR 中最大的亚家族,具有特征的 PYD 效应结构域,目前对于大部分的 NALP 的功能未知,但是很多 NALP 活化能够形成炎性复合体(inflammasome),对于很多重要的促炎症细胞因子的产生发挥关键作用。目前至少有两类 NALP 炎性复合体已被鉴定,一类是 NALP1,一类是 NALP2/3。这两类复合物主要通过 NALP 的 PYD 效应结构域活化,招募 ASC(apoptosis-associated speck-like protein, ASC),继而通过 CARD-CARD 相互作用,与 caspase-1 结合,促进 IL-1 β 的分泌。NALP1 还可以通过其 C 端的 CARD 效应结构域招募 caspase-5,而 NALP3 则通过招募含有 CARD 的 Cardinal 再招募 caspase-1。炎性复合体与 caspase 之间相互作用,促进了彼此的活化,继而导致相关炎症细胞因子如 IL-1 β 的成熟。

2.3 NLR 信号转导的调节

在生理条件下,NLR 对于激活和调节各种免疫反应基因起着至关重要的作用。但是,在持续的或病理条件下的激活则会导致组织的病理性损伤,甚至可能引起器官衰竭和感染性休克而使机体死亡。

因此 NLR 信号转导的负向调节对维持机体健康至关重要。

NLR 通过信号转导激活下游分子(如 NF- κ B)介导 IL-1 β 等促炎细胞因子的产生。同时 NF- κ B 的活化又可上调某些蛋白(如 NOD2、TLR2 等)的表达。有研究^[23]发现, NOD2 的结构域可以特异地与 NLRP1、NLRP3、NLRP12 及 RIPK2 相互作用, 而与 NLRP2、NLRP7、NLRP10、NLR11 没有作用。在 CARD12 过表达的细胞中, CARD12 能够以 NOD-NOD 相互作用的方式与 NOD1 和 NOD2 结合, 从而影响 NOD 蛋白的信号转导, 抑制 NOD1 和 NOD2 介导的 NF- κ B 信号通路的激活和 IL-1 β 的产生。而 CARD6 能够在生理条件下与 NOD1 和 RIP2(但不能与 NOD2)相互作用, 通过与 NOD1 竞争与 RIP2 的结合来影响 NOD1 的信号转导。研究人员发现, TRIM30 能够通过降解 TLR 信号通路中的重要分子 TAB2/TAB3 来负性调控 TLR 信号通路。2010 年, 研究^[24]发现 TRIM30 也能负性调节 NALP3 炎性复合体的激活。亦有研究^[25]表明, NLRP12 通过抑制 NF- κ B 的翻译, 和 NIK 以及 TRAF3 相互影响, 并在肿瘤组织中抑制 ERK 和 AKT 调控通路来调控固有免疫应答。当 NLRP12 缺乏时, 替代性 NF- κ B 途径被激活并增强结肠炎相关性结肠癌的敏感性。

最近还有研究^[26]表明, 一种新鉴定出的 NLR 蛋白(即 NLRC3)能够减弱 TRAF6 催化 Lys63 泛素化的作用, 进而抑制 NF- κ B 分子, 从而影响 TLR 活化通路。NLRC3 直接与分子 TRAF6 相互作用并形成一种新的、被称作“TRAF 复合体(TRAFasome)”的蛋白复合物, 继而抑制炎症通路。同年, 报道^[27] NLRP4 炎性复合体通过泛素连接酶 DTX4 降解 TBK1 激酶, 对 I 型干扰素信号途径产生负调控作用。

3 胞质 RNA 受体家族及其介导的固有免疫识别及分子调控机制

目前认为胞质 RNA 受体(cytoplasmic RNA receptor, CRR)主要由一系列的 RNA 解旋酶组成, 包括维甲酸诱导基因蛋白 I (retinoic acid-inducible gene I, RIG-I) (又名 DDX58A)、黑素瘤分化抗原 (melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5) (又名 IFIH1)、遗传学和生理学实验室蛋白 2 (laboratory of genetic and physiology 2, LGP2) (又名 DHX58) 以及最近发现的 DDX1、DDX21 和 DHX36^[28]。RIG-I 和 MDA5 是细胞质内的主要抗病毒分子, 可识别病毒来源的双链 RNA, 激活下游

信号通路, 具有识别不同病毒入侵的功能。RIG-I 和 MDA5 均有两个 N 端 CARD 和一个 RNA 螺旋酶结构域。当病毒感染时, 细胞内大量产生双链 RNA, 由 RIG-I 和 MDA5 识别双链 RNA 后, 激活 NF- κ B 和 IRF3/7, 从而诱导具有抗病毒作用的 I 型干扰素的生成。另一种解螺旋酶 LGP2 缺少 CARD, 因此可阻止抗病毒反应的激活。这一作用可能是通过阻断与 RIG-I 或 MDA5 作用的双链 RNA 来实现的^[29], 与 RIG-I 和 MDA5 构成调节网络(图 2)。NLR 家族成员 NOD2 也能识别胞质 RNA, 激活抗病毒免疫应答。CRR 下游的接头蛋白包括干扰素 β 启动刺激因子 1 (IFN- β promoter stimulator 1, IPS-1) (也称为 MAVS、VISA 或 Cardif)、干扰素刺激基因 (stimulator of interferon gene, STING) (也称为 MPYS、MITA 或 ERIS) 和 TRIF。以下对 RIG-I 和 MDA5 转导相关的接头蛋白 IPS-1 和 STING 的调控机制做一介绍。

3.1 IPS-1 介导的信号转导及调节机制

2005 年四个研究小组发现了介导 CRR 信号转导的关键接头蛋白 IPS-1 (其他三个小组分别将其命名为 VISA、MAVS 和 Cardif)。IPS-1 由 540 个氨基酸残基组成, C 端有一个穿膜结构域, 介导 IPS-1 在线粒体的定位。IPS-1 通过其 CARD 结构域被招募到受体 RIG-I 或 MDA5 上后, 可以与 TBK1/IKK 相互作用, 促进下游 IRF3 磷酸化及 NF- κ B 活化, 诱导 I 型 IFN 产生。因此 IPS-1 是 RIG-I、MDA5 及 NOD2 信号通路中重要的接头蛋白。RIG-I 样受体直接与 IPS-1 相互作用介导信号转导, 但是对于其结构基础认识并不深入。有研究表明, DDX 与 TRIF 和 IPS-1 相互作用。还有报道^[30]表明 RIG-I 和 IPS-1 能与蛋白激酶 NIK 相互作用, 通过非经典途径激活 NF- κ B。

3.2 STING 介导的信号转导及调节机制

2008 - 2009 年四个独立的研究小组发现了一个新接头蛋白 STING (被另外两个小组命名为 MPYS 和 MITA)。STING 的 N 端含有四个穿膜结构域, 负责 STING 在线粒体或内质网的定位, 是 RIG-I 及 DAI 信号通路的重要的信号分子, 参与诱导 I 型 IFN 产生。

目前调控 RIG-I 和 MDA5 信号通路的蛋白主要分为正向和负向两大类。其中正向调控蛋白包括 TRIM25, 主要介导 CARD 结构域中 Lys-63 位点的泛素化, 而 Riplet/RNF135 则促进 RIG-I 的 C 端结构域中 Lys-63 位点的泛素化, 从而诱导 RIG-I 的活化。2012 年, 研究人员^[31]发现 E3 泛素蛋白连接酶

三分模体含蛋白 32(tripartite motif-containing protein 32 gene, TRIM32)也可对 STING 进行泛素化修饰,显著促进 STING 介导的 IFN- β 诱导表达。负向的调控蛋白较多,包括 A20、LGP2、RNF125 和 DUBA 等,在阻碍 RIG-I 的泛素化和识别等地方发挥作用。2009 年,研究人员^[32]证实 E3 泛素连接酶 RNF5 通过泛素化修饰 STING 并引起其降解,负调控病毒感染诱导的 I 型干扰素。还有报道^[33]显示,HSV-1 皮质蛋白 US11 通过与内源性模式识别受体 RIG-I 和 MDA-5 相互作用,干扰它们与接头蛋白 IPS-1 的相互作用,从而抑制 RLR 介导的固有免疫下游信号通路 IRF3(interferon regulatory factor 3, IRF3)的激活,阻止 β 干扰素的产生。

2013 年,研究人员^[34]利用固有免疫研究技术体系,筛选到 RNA 病毒感染巨噬细胞之后能够特异性诱导表达的一个膜分子 Siglec-G(唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素-G)。通过体内外实验,发现 Siglec-G 可促进 E3 泛素酶 c-Cbl 介导的 RIG-I 泛素化及蛋白降解,并通过这种 RIG-I 翻译后修饰的新方式抑制 RIG-I 的活化及其触发的 I 型干扰素的产生。

4 DNA 识别受体家族及其介导的固有免疫识别及调控机制

DNA 病毒的 DNA 可能主要为胞内 DNA 受体

所识别,因此胞内 DNA 受体是近年来 PRR 的研究热点。TLR 家族中的 TLR9 是较早发现的 DNA 受体,能够识别细菌和病毒的 DNA,从而激活先天免疫和特异性免疫。NLR 家族中的 NALP 炎性复合体 3(NACHT leucinerich repeat protein 3, NALP3)、ALR 家族中的黑素瘤缺失因子 2(absent in melanoma 2, AIM2)、DNA 依赖的干扰素调节因子激活物(DNA dependent activator of IFN-regulatory factor, DAI)和 DNA 依赖性 RNA 聚合酶 III(DNA-dependent RNA polymerase III, Pol III)等通过识别病原 DNA,活化信号转导通路,激活固有免疫系统,发挥固有免疫防御作用^[35-36]。CDR 的接头蛋白则包括 ASC 和 STING,大多数 CDR(RNA Polymerase III, IFI 16 以及 DDX41)通过 STING 介导信号转导^[37](图 2)。

4.1 TLR9 的识别及调节机制

TLR9 是 TLR 家族中的重要成员之一,也是目前已知的唯一识别 DNA 的胞质识别受体。TLR9 主要表达于 pDC 和 B 细胞等细胞器膜(如细胞内体、溶酶体或内质网膜)。最初发现 TLR9 能够感知非自身的非甲基化的 CpG DNA,引起 MyD88 依赖性的 NF- κ B 的激活,后来发现 TLR9 在抗病毒免疫中也发挥重要作用,主要是通过 MyD88 和 IRAK1、IRAK4 形成复合物来介导 I 型干扰素的产生^[38-39]。

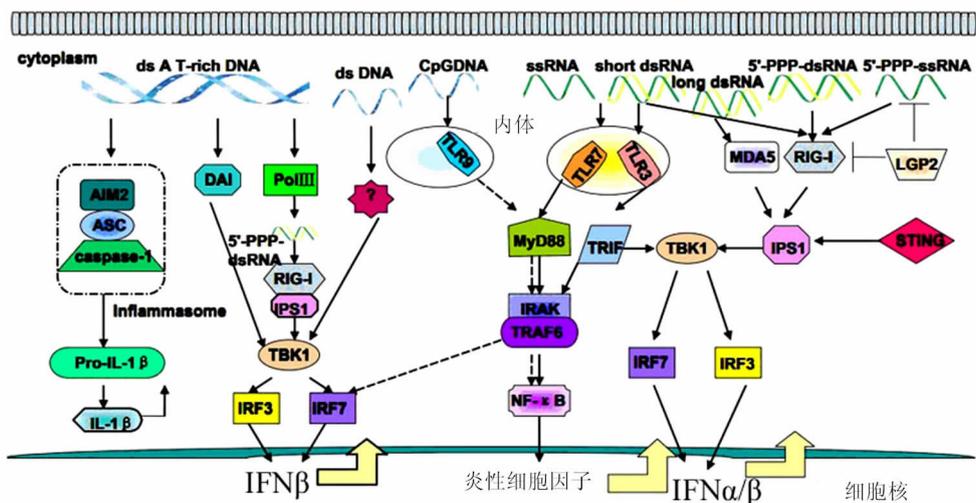


图 2 DNA 和 RNA 识别受体家族信号转导通路

4.2 DAI 的识别及调节机制

DAI 分子是 2007 年发现的,研究^[40]认为其参与 HCMV 诱导的 IRF-3 依赖的固有免疫反应。但另一研究^[41]发现,其通过 NF- κ B 途径促进 HIV 复制。目前 DAI 的具体信号通路还不清楚,并且对于 DAI

在识别病毒 DNA 中的确切作用及其重要性,由于机体抵御病毒感染机制的复杂性也受到质疑。

4.3 AIM2 的识别及调节机制

2009 年四家学术机构研究^[42]发现,AIM2 是一胞质 DNA 识别受体,参与巨噬细胞对牛痘病毒的

DNA 识别。它不依赖于炎性小体,但能够作为胞质 DNA 识别受体激活炎症小体的形成,参与双链 DNA (double-stranded DNA, dsDNA) 介导的炎性细胞因子的产生。其中 ASC 作为 AIM2 炎性小体的重要组成成分,导致活性 caspase-1 的产生和巨噬细胞的凋亡^[42]。AIM2 结合 dsDNA,但不结合单链 DNA(ssDNA)。来自于 HIN-200 蛋白家族的成员 p202 和 AIM2 同样可以与双链 DNA 结合,但 AIM2 可以促进 caspase 的活化,p202 却抑制 AIM2。研究人员^[43]发现,当 AIM2 的 HIN-200 结构域在胞质内结合双链 DNA 后,释放 PYD 而招募接头蛋白 ASC,并诱导了炎性小体的组装,从而引起 caspase-1 的激活以及 IL-1 β 和 IL-18 的成熟和分泌,导致细胞焦亡。

4.4 其他 DNA 识别受体的识别及调节机制

PYHIN 蛋白家族成员之一 IFI16(interferon gamma-inducible protein 16, IFI16)也是一种胞内固有免疫 DNA 受体。2010年,研究发现^[44]阻抑 IFI16 表达会影响 I 型单纯疱疹病毒感染时转录因子 IRF3 和 NF- κ B 基因的诱导和活化。有关 RNA 聚合酶 III, Chiu 等^[45]和 Ablasser 等^[46]在 2009 年几乎同时发现,与受体结合后的启动应答过程在人与小鼠中不同,具体的机制有待验证。研究人员^[47]发现,主要定位于细胞质中的核酸结合蛋白 LRRFIP1 能直接结合双链 RNA poly(I:C),以及富含 AT 和富含 GC 的 dsDNA。还有报道^[48]认为 LRRFIP1 与下游的 β -catenin 相互作用,激活的 β -catenin 与转录因子 IRF3 的 C 端结合,经由 IRF3 把乙酰基转移酶 P300 招募到 IFN- β 的增强子序列,产生 I 型干扰素,LRRFIP1 及其下游的 β -catenin 组成了一条由 IRF3 介导的 I 型干扰素产生的共激活途径。其他胞质 DNA 识别受体如高迁移率族蛋白、STING(MITA/ERIS/TMEM173)、PHD、Bright、Myb/SANT 和 SAP 等可以结合 DNA; DNA-PKC、Ku70、p53、ATM 和 ATR 等损伤 DNA 结合分子能识别损伤的 DNA,因此它们也归类于胞质 DNA 识别受体。最近的研究^[44]表明,STING 能作为一类 PRR 直接识别细菌特有的环二核苷酸信号转导。Ku70 能与胞质 DNA 结合,下调 Ku70 表达能阻断 IFN- λ 1 分泌,同时,IFN- λ 1 的产生依赖于 IRF-1 及 IRF-7 的转录活化^[49]。新近报道^[50]的胞质 DNA 受体还有 DDX41。DDX41 属于死亡样解旋酶超家族(DEAD-like helicases superfamily, DEXDc) 家族成员,能在树突状细胞胞质中与外源性 DNA 及 STING 蛋白相结合,并诱导转录因子 NF- κ B 及 IRF3 活化,介导 I 型 IFN 产生,病原体 DNA 被其受体识别之后一般引起 I 型

IFN 的产生。

近年来发现了众多的 DNA 识别受体,但对于胞质 DNA 识别受体的生物学功能研究尚处于起步阶段,众多棘手问题亟待解决。

5 CLR 家族及其介导的固有免疫识别及调控机制

CLR 是模式识别受体家族中有别于 TLR 的新家族,在机体免疫应答中发挥着重要作用,在哺乳动物 APC 上的 CLR 家族至少有 15 个成员,大多数都属 II 型穿膜蛋白。

Dectin-1 是一种新的非 Toll 样 PRR,其作为 β -葡聚糖的主要受体广泛分布在单核巨噬细胞系统、DC 和中性粒细胞等,在机体抵御真菌感染中发挥着重要作用。可与 TLR2 协同活化巨噬细胞(M ϕ)对分枝杆菌的促炎症反应,诱导调节性抗原递呈细胞和免疫耐受反应,活化 NF- κ B、MyD88,然后诱导 TNF- α 、IL-2、IL-12 等炎症因子产生。最新的研究^[51]表明,哺乳动物肠道内丰富的真菌群落能通过识别先天性免疫受体 Dectin-1 与免疫系统相互作用,从而引起结肠炎。

多种 CLR 可以作为抗原受体参与抗原的捕获和提呈^[52]。然而,CLR 各成员在其胞质区的内化基序是不同的。一些 CLR(如 Dectin-1 和 CLEC-2)在胞质区含有免疫受体酪氨酸活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)能够形成同源二聚体,激活下游的 Syk 信号^[53],其中,Card9 是 Syk 依赖信号途径在 Dectin-1 细胞内信号转导中的关键转换器,而另一些 CLR(如 CLEC12B)在胞质区则含有免疫受体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM),能够激活 SHP-1 和 SHP-2,介导下游的信号转导,这也提示不同类型的 CLR 在其各自介导的胞内信号转导的作用是不同的,具有免疫活化或抑制功能^[54]。

6 其他 PRR

除了上述多种 PRR 外,还有多种其他固有免疫的 PRR 表达于不同的细胞,具有不同的配体结合或者分子识别的选择性与特异性,如清道夫受体(scavenger receptor)、甲酸基多肽(formyl peptide)受体和补体受体等,在固有免疫中发挥着重要的作用,充分体现了机体和病原体之间相互作用的多样化机制,反映了免疫系统的复杂性。

7 结语

固有免疫是机体免疫系统三大功能中最为重要

的承担者,也是适应性免疫的基础和启动者,深入探讨固有免疫应答中的识别与分子调控机制具有重要意义。固有免疫在生物体内发挥重要作用,必须被精细识别与调控,固有免疫通过相应的模式识别受体 PRR 识别病原微生物上表达的病原相关分子模式 PAMP,激活下游一系列的信号通路从而启动免疫应答。总的来说,不同的 PRR 结合相应的配体后,招募不同的接头蛋白,激活不同的信号通路,其中又受到各种不同信号分子的调节。

近年来,研究人员在对固有免疫应答的启动及活化机制的探索中取得了显著进展,特别是对固有免疫细胞如何识别病毒感染、新型胞质核酸识别受体、宿主及病原体来源的核酸,复杂的 PRR 信号通路的正、负向调控机制的认识有了新的突破。固有免疫的识别反应与免疫疾病具有重要的联系,过激的天然免疫反应往往会导致一些炎症性疾病的产生,包括炎症相关性肿瘤的发生。因此研究机体对包括肿瘤、病毒等的免疫应答和免疫功能与肿瘤发生、发展的相互关系,对于预防和治疗炎症相关性肿瘤等疾病具有重要的意义,将为人类提供在分子水平上的治疗靶点。但是固有免疫反应中 PRR 识别病原体的种类、方式以及调控机制仍然存在许多未解决的问题。随着对固有免疫系统机制的探索,以及更多 PRR 的发现及其识别机制的阐明,相信将来会为肿瘤生物治疗提供强有力的支持。

[参 考 文 献]

[1] Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system [J]. *Science*, 2010, 327(5963): 291-295.

[2] Hajishengallis G, Lambris J D. Microbial manipulation of receptor crosstalk in innate immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(3): 187-200.

[3] Medzhitov R. Approaching the asymptote: 20 years later [J]. *Immunity*, 2009, 30(6): 766-775.

[4] Kawasaki T, Kawai T, Akira S. Recognition of nucleic acids by pattern-recognition receptors and its relevance in autoimmunity [J]. *Immunol Rev*, 2011, 243(1): 61-73.

[5] Zhang Z, Yuan B, Bao M, et al. The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(10): 959-965.

[6] Zhang Z, Kim T, Bao M, et al. DDX1, DDX21, and DHX36 helicases form a complex with the adaptor molecule TRIF to sense dsRNA in dendritic cells [J]. *Immunity*, 2011, 34(6): 866-878.

[7] Burdette DL, Monroe KM, Sotelo-Troha K, et al. STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP [J]. *Nature*, 2011, 478(7370): 515-518.

[8] Brown J, Wang H, Hajishengallis GN, et al. TLR-signaling networks an integration of adaptor molecules, kinases, and cross-talk [J]. *J Dent Res*, 2011, 90(4): 417-427.

[9] Akira S. Innate immunity to pathogens: Diversity in receptors for microbial recognition [J]. *Immunol Rev*, 2009, 227(1): 5-8.

[10] Daffis S, Szretter KJ, Schriewer J, et al. 2'-O methylation of the viral mRNA cap evades host restriction by IFIT family members [J]. *Nature*, 2010, 468(7322): 452-456.

[11] 曹雪涛. 免疫学研究的的发展趋势及我国免疫学研究的现状与展望 [J]. *中国免疫学杂志*, 2009, 25(1): 10-23.

[12] Han KJ, Su X, Xu LG, et al. Mechanisms of the TRIF-induced interferon-stimulated response element and NF- κ B activation and apoptosis pathways [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(15): 15652-15661.

[13] Liu X, Zhan Z, Li D, et al. Intracellular MHC class II molecules promote TLR-triggered innate immune responses by maintaining activation of the kinase Btk [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(5): 416-424.

[14] Xia ZP, Sun L, Chen X, et al. Direct activation of protein kinases by unanchored polyubiquitin chains [J]. *Nature*, 2009, 461(7260): 114-119.

[15] Allen IC, Moore CB, Schneider M, et al. NLRX1 protein attenuates inflammatory responses to infection by interfering with the RIG-I-MAVS and TRAF6-NF- κ B signaling pathways [J]. *Immunity*, 2011, 34(6): 854-865.

[16] Yuk JM, Shin DM, Lee HM, et al. The orphan nuclear receptor SHP acts as a negative regulator in inflammatory signaling triggered by Toll-like receptors [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(8): 742-751.

[17] Han C, Jin J, Xu S, et al. Integrin CD11b negatively regulates TLR-triggered inflammatory responses by activating Syk and promoting degradation of MyD88 and TRIF via Cbl-b [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(8): 734-742.

[18] Xu S, Liu X, Bao Y, et al. Constitutive MHC class I molecules negatively regulate TLR-triggered inflammatory responses via the Fps-SHP-2 pathway [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(6): 551-559.

[19] Zhang Q, Wang C, Liu Z, et al. Notch signal suppresses Toll-like receptor-triggered inflammatory responses in macrophages by inhibiting extracellular signal-regulated kinase 1/2-mediated nuclear factor κ B activation [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(9): 6208-6217.

[20] Kvarnhammar AM, Cardell LO. Pattern-recognition receptors in human eosinophils [J]. *Immunology*, 2012, 136(1): 11-20.

[21] Dostert C, Meylan E, Tschopp J. Intracellular pattern-recognition receptors [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(7): 830-840.

[22] Werts C, Girardin SE, Philpott DJ. TIR, CARD and PYRIN: Three domains for an antimicrobial triad [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(5): 798-815.

[23] Wagner RN, Proell M, Kufer TA, et al. Evaluation of Nod-like receptor (NLR) effector domain interactions [J]. *PLoS One*, 2009, 4(4): e4931.

[24] Hu Y, Mao K, Zeng Y, et al. Tripartite-motif protein 30 negatively regulates NLRP3 inflammasome activation by modulating reactive oxygen species production [J]. *J Immunol*, 2010, 185(12):

- 7699-7705.
- [25] Allen IC, Wilson JE, Schneider M, et al. NLRP12 suppresses colon inflammation and tumorigenesis through the negative regulation of noncanonical NF- κ B signaling [J]. *Immunity*, 2012, 36(5): 742-754.
- [26] Schneider M, Zimmermann AG, Roberts RA, et al. The innate immune sensor NLRC3 attenuates Toll-like receptor signaling via modification of the signaling adaptor TRAF6 and transcription factor NF- κ B [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(9): 823-831.
- [27] Cui J, Li Y, Zhu L, et al. NLRP4 negatively regulates type I interferon signaling by targeting the kinase TBK1 for degradation via the ubiquitin ligase DTX4 [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(4): 387-395.
- [28] Zhang Z, Kim T, Bao M, et al. DDX1, DDX21, and DHX36 helicases form a complex with the adaptor molecule TRIF to sense dsRNA in dendritic cells [J]. *Immunity*, 2011, 34(6): 866-878.
- [29] Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, et al. Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity [J]. *J Immunol*, 2005, 175(5): 2851-2858.
- [30] 钟波, 舒红兵. 固有免疫模式识别受体与树突状细胞的发现和意义; 2011年诺贝尔生理学或医学奖成果和相关研究简介 [J]. *生命科学*, 2011, 23(12): 1147-1161.
- [31] Zhang J, Hu MM, Wang YY, et al. TRIM32 protein modulates type I interferon induction and cellular antiviral response by targeting MITA/STING protein for K63-linked ubiquitination [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(34): 28646-28655.
- [32] Zhong B, Zhang L, Lei C, et al. The ubiquitin ligase RNF5 regulates antiviral responses by mediating degradation of the adaptor protein MITA [J]. *Immunity*, 2009, 30(3): 397-407.
- [33] Zheng Z, Li H, Zhang Z, et al. Enterovirus 71 2C protein inhibits TNF- α -mediated activation of NF- κ B by suppressing I κ B kinase β phosphorylation [J]. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2202-2212.
- [34] Chen W, Han C, Xie B, et al. Induction of siglec-G by RNA viruses inhibits the innate immune response by promoting RIG-I degradation [J]. *Cell*, 2013, 152(3): 467-478.
- [35] Yoneyama M, Fujita T. Recognition of viral nucleic acids in innate immunity [J]. *Rev Med Virol*, 2010, 20(1): 4-22.
- [34] 何小兵, 房永祥, 贾怀杰, 等. Toll样受体介导的先天性抗病毒免疫反应研究进展 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(6): 709-712.
- [37] Burdette DL, Monroe KM, Sotelo-Troha K, et al. STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP [J]. *Nature*, 2011, 478(7370): 515-518.
- [38] Delale T, Paquin A, Asselin-Paturel C, et al. MyD88-dependent and -independent murine cytomegalovirus sensing for IFN- α release and initiation of immune responses *in vivo* [J]. *J Immunol*, 2005, 175(10): 6723-6732.
- [39] Tabeta K, Georgel P, Janssen E, et al. Toll-like receptors 9 and 3 as essential components of innate immune defense against mouse cytomegalovirus infection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(10): 3516-3521.
- [40] DeFilippis VR, Alvarado D, Sali T, et al. Human cytomegalovirus induces the interferon response via the DNA sensor ZBP1 [J]. *J Virol*, 2010, 84(1): 585-598.
- [41] Hayashi T, Nishitsuji H, Takamori A, et al. DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors enhances the transcription of HIV-1 through NF- κ B [J]. *Microbes Infect*, 2010, 12(12): 937-947.
- [42] Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC [J]. *Nature*, 2009, 458(7237): 514-518.
- [43] Ru H, Ni X, Zhao L, et al. Structural basis for termination of AIM2-mediated signaling by p202 [J]. *Cell Res*, 2013, 23(6): 855-858.
- [44] Unterholzner L, Keating S E, Baran M, et al. IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(11): 997-1004.
- [45] Chiu YH, MacMillan JB, Chen ZJ. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway [J]. *Cell*, 2009, 138(3): 576-591.
- [46] Ablasser A, Bauernfeind F, Hartmann G, et al. RIG-I-dependent sensing of poly(dA: dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(10): 1065-1072.
- [47] Yang P, An H, Liu X, et al. The cytosolic nucleic acid sensor LRRFIP1 mediates the production of type I interferon via a [beta]-catenin-dependent pathway [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(6): 487-494.
- [48] Shayakhmetov DM. Virus infection recognition and early innate responses to non-enveloped viral vectors [J]. *Viruses*, 2010, 2(1): 244-261.
- [49] Zhang X, Brann T W, Zhou M, et al. Cutting edge: Ku70 is a novel cytosolic DNA sensor that induces type III rather than type I IFN [J]. *J Immunol*, 2011, 186(8): 4541-4545.
- [50] Parvatiyar K, Zhang Z, Teles RM, et al. The helicase DDX41 recognizes the bacterial secondary messengers cyclic di-GMP and cyclic di-AMP to activate a type I interferon immune response [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(12): 1155-1161.
- [51] Iliev ID, Funari VA, Taylor KD, et al. Interactions between commensal fungi and the C-type lectin receptor Dectin-1 influence colitis [J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1314-1317.
- [52] Kerrigan AM, Brown GD. Syk-coupled C-type lectin receptors that mediate cellular activation via single tyrosine based activation motifs [J]. *Immunol Rev*, 2010, 234(1): 335-352.
- [53] Redelingshuys P, Brown GD. Inhibitory C-type lectin receptors in myeloid cells [J]. *Immunol Lett*, 2011, 136(1): 1-12.
- [54] Lee MS, Kim YJ. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk [J]. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76: 447-480.
- [收稿日期] 2013-05-15 [修回日期] 2013-07-20
- [本文编辑] 黄静怡