

病原 DNA 识别及其诱导天然免疫 调节机制研究进展 *

邢雅玲 郑 洋 王 凯 陈晓娟 陈忠斌 **

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要 机体天然免疫系统拥有一系列可以探测和抵制微生物侵袭的机制。目前, 关于病原 RNA 的细胞内识别机制有了较为深入的研究和相关报道, 但细胞内病原 DNA 的识别和相应的天然免疫应答机制仍未完全被揭示。阐明上述机制有助于了解和治疗一系列微生物感染相关的疾病, 包括病毒和细菌感染类疾病、病毒相关的肿瘤、自身免疫性疾病等。近年来, 细胞内多个充当“DNA 传感器”的分子和干扰素调节分子被认为在细胞质 DNA 诱导宿主天然免疫反应过程中起着关键性调节作用。综述了对细胞内病原 DNA 的主要识别分子、信号通路以及相关的天然免疫调控机制。

关键词 病原 DNA, DNA 传感器, 天然免疫, 干扰素
学科分类号 Q27

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00135

病原体(病毒、细菌、真菌等)入侵宿主会引起天然免疫反应, 触发早期的宿主抵抗机制, 如生成 I 型干扰素(interferon, IFN)、激活获得性免疫反应(如 T 细胞活化、抗体产生)等^[1]。最近几年来, 病原微生物识别和天然免疫级联反应备受关注。激活天然免疫的关键分子由病原体衍生的核酸(如微生物基因组 DNA 和 RNA)组成, 这类物质属于病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)^[2], 可以被多种细胞所识别。

目前, 针对细菌胞壁成分和病毒 RNA 的识别机制有了较多的研究。例如: 细菌胞壁酰二肽(muramyl dipeptides)可以被细胞模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)之一 NLR(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat)家族成员 NOD1 和 NOD2 识别, 激活转录因子 NF- κ B, 引起炎症反应^[2-3]。病毒 RNA 可以被 RIG-I 样受体(RIG-I-like receptor, RLR)识别。RLR 也属于 PRR, 其成员包括: 维甲酸诱导基因 I (RIG-I)、黑色素瘤分化相关基因 5(MDA5)以及 LGP2^[4-5]。RLR 含有 DExD/H RNA 解旋酶结构域, 可以识别病毒双链 RNA(ds-RNA), 对几乎所有类型细胞的 IFN 产生都有调节作用。这些受体与病毒 RNA 相互作用, 诱导 TRAF3 和 IPS-1(又名 VISA、MAVS

或 Cardif, 是 RNA 诱导的天然免疫信号传导中必要的衔接蛋白)富集, 激活 TBK1、MAPK、IKK 相关激酶(IKK-related kinases)等多个分子^[1, 6], 经过 NF- κ B、AP-1 和 IRF3, 最终活化 IFN- β 启动子^[1, 7-8]。IFN 以自分泌或旁分泌的形式结合 I 型 IFN 受体(IFNAR), 激活 JAK/STAT 信号通路, 从而启动更多的 IFN 诱导基因共同发挥抗病毒作用^[9]。另一类识别病毒 RNA 的分子是 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)。已知的人类 TLR 约有 10 种, 分布于多种细胞, 识别不同的 PAMP(如 TLR4 识别革兰氏阴性菌脂多糖, TLR3 识别病毒双链 RNA), 诱导 IFN 和其他细胞因子的产生^[1, 7-8]。TLR 发挥正常功能通常需要辅助分子的参与, 如 MyD88、TRAF、TRIM、MAL 等^[10]。

目前, 关于微生物 DNA 的细胞识别和相应的天然免疫应答机制仍不甚清晰。随着一些激活 IFN

* 国家自然科学基金(30870536, 30972761, 81172799), 北京市自然科学基金(7092075), 国家科技重大专项(2008ZX10004-015)和教育部分留回国人员科研启动基金(2009)资助项目。

** 通讯联系人。Tel: 010-66930297, Fax: 010-88272105

E-mail: chenzhongbin@yahoo.com, chenzb@bmi.ac.cn

收稿日期: 2011-03-24, 接受日期: 2011-06-09

信号通路的致癌病毒、细菌、真菌和寄生虫 DNA 基因组的揭示, 上述领域吸引着越来越多研究者的关注, 已发现多个分子具有 DNA 传感器(DNA sensor)的功能, 与其他激酶、转录因子等信号调节分子共同作用, 参与机体的抗病毒免疫调控系统, 组成了复杂的调控网络^[11-12]. 本文拟对已经报道的 DNA 传感器、细胞内 DNA 识别方式以及由 DNA 触发的天然免疫信号通路进行综述.

1 STING 参与胞内 DNA 识别及相关天然免疫调节信号通路

STING(stimulator of interferon genes)是新近报道的一种干扰素刺激因子, 又称 MITA、MPYS 或 ERIS, 在 2008~2009 年由 4 个课题组分别独立发现. 该分子被激活后能够诱导 NF- κ B 和 IRF3 的活化, 刺激 I 型 IFN 的表达^[13-15]. 该分子主要定位在内质网膜(ER)以及线粒体外膜, 是胞内 DNA 介导的 IFN 信号通路和 RIG- I 信号通路等天然免疫信号通路中的重要成员, 也可能是病毒抑制的靶标之一.

STING 氨基端含有多个跨膜结构域, 但并不存在 DNA 结合结构域, 提示 STING 分子本身不太可能直接与 DNA 相互作用, 而需要借助细胞内其他 DNA 传感器, PYHIN 蛋白家族就是这样一类 DNA 传感器. PYHIN 蛋白又名 p200 或 HIN200 蛋白, 与细胞增殖、存活及分化有关, 从结构上看至少含有一个 C 端 HIN 结构域和一个 N 端 pyrin 结构域. 人 PYHIN 家族成员中, IFIX (Pyhin1)、MNDA 和 AIM2(absence in melanoma 2)均含有一个 HIN 结构域和一个 pyrin 结构域, 而 IFI16(IFN inducible protein 16)含有两个 HIN 结构域; 小鼠体内的 p204 与 IFI16 具有同源性. 在胞质 DNA 的刺激下, IFI16 通过 HIN 结构域被激活, 而后经 STING/TBK1 途径激活 IRF3, 活化 NF- κ B, 最终调控 IFN- α/β 的表达^[16]. 缺失 STING 的细胞在 DNA 诱导下会丧失生成 I 型 IFN 的功能, 但 IFN- β 的产生(依赖于 AIM2)却并不受影响, 提示 STING 不依赖 AIM2 发挥作用^[17].

STING 对于树突状细胞(conventional DCs)、巨噬细胞以及小鼠的胚胎成纤维细胞(MEF)中 DNA 诱导的 I 型 IFN 产生必不可少, 但对转染 dsRNA 后细胞内 I 型 IFN 的产生却不是必需的^[1-2, 18]; 单链 DNA(ssDNA)则不能通过 STING 诱导 I 型 IFN 的产生^[13].

STING^{-/-}动物对于负链病毒(如水疱性口炎病毒, VSV)感染也很敏感, 说明 STING 可能会正调控 RIG- I 通路^[13]. 细胞线粒体与内质网关系紧密(内质网又名线粒体相关的膜结构), 线粒体或者过氧化物酶体均含有 RIG- I 信号通路所必需的 IPS-1, 因此位于内质网的 STING 与这两个细胞器有密切关联. STING 与定位在内质网的黄病毒属(flavivirus)蛋白有显著的同源性, 如黄热病病毒(YFV)、登革热病毒(DV)和丙型肝炎病毒(HCV)的 NS4 蛋白, DV NS4 还具有抑制 STING 的功能^[17, 19].

酵母双杂交和免疫共沉淀分析显示: STING 与易位子相关蛋白(Trap)复合体成员之一 SSR2/Trap β 相互作用. Trap 复合体以四聚体形式存在, 帮助翻译后的蛋白质进入内质网. Trap 复合体与易位子相互作用, 后者由 3 个亚基(SEC61 α 、SEC61 β 和 SEC61 γ)组成, 调控蛋白质的折叠和分泌. 敲除 Trap β 或 SEC61 β 能抑制 293T 细胞中 STING 过表达引起的 IFN- β 启动子激活^[11]. 易位子很可能与 exocyst 有关联, exocyst 是一高度保守的八聚体复合物, 促进蛋白质合成和分泌. exocyst 复合体的成员之一 Sec5 具有募集和激活 TBK1 的功能, TBK1 对 RNA 和 DNA 病原体诱导的 IRF3/7 激活和 I 型 IFN 产生十分必要, 敲除 Sec5 则降低 STING 激活 IFN- β 启动子的能力^[11]. 以上分析表明: STING 可能与 TBK1 发生相互作用, STING 可能通过 ER 或易位子与 exocyst 的相互作用将胞质 DNA 介导的信号转导与 TBK1 激活联系起来. DNA 病毒(如 I 型单纯疱疹病毒, HSV-1)感染之后, STING 迅速从 ER 经高尔基体移位到核周区域, TBK1 也经历了 STING 依赖的相似迁移, 这种移位过程涉及自噬相关基因 9a (Atg9a), 与 STING 的泛素化也有关^[17, 20-21]. 易位子和迁移到核周内涵体腔(endosomal compartment)的 STING 对于胞内 DNA 刺激 I 型 IFN 免疫信号通路是必不可少的. STING 在 TBK-1 的上游起作用, 并且是 TBK-1 被胞内 DNA 活化所必需的, TBK-1 在胞内 DNA 刺激 I 型 IFN 和 NF- κ B 依赖的通路、增进免疫反应方面起重要的作用^[11].

STING 在外界刺激下发生二聚化或寡聚化、泛素化以及磷酸化等修饰. 二聚化是 STING 激活干扰素通路的前提. 我们课题组发现, 冠状病毒 NL63 的木瓜样蛋白酶(papain-like protease, PLP)的 PLP2-TM 结构域可以抑制 STING 的二聚化, 使之丧失激活 IFN 信号通路的活性^[22].

STING 对于 DNA 介导的适应性免疫(如接种 DNA 疫苗或者感染 DNA 病毒)起重要调节作用^[17]. 刺激 STING 信号通路可能为改进 DNA 疫苗的功能提供一种新途径.

2 RNA 聚合酶 III 参与胞内 DNA 识别及相关天然免疫调节信号通路

2009 年, 报道了一种新的 DNA 识别机制, 即通过依赖 DNA 的 RNA 聚合酶 III (DNA-dependent RNA polymerase III, Pol-III) 途径诱导 I 型 IFN 的产生^[23]. Pol-III 作为胞质 DNA 传感器主要通过 RIG-I 途径调控 I 型 IFN 的产生. Poly(dA:dT) (即富含 AT 的 dsDNA) 被转染入细胞后, 在 Pol-III 作用下转录为 RIG-I 的配体 5'-ppp-dsRNA, 激活 RIG-I 使之与 IPS-1 相互作用, 再分别通过 FADD/RIP1 和 TBK1 活化 NF- κ B 和 IRF3, 调控 IFN- β 生成. 通过 RNAi 敲除 POL3RF (Pol-III 的一个组分) 或者通过药理学方法抑制 Pol-III 后, poly (dA:dT) 诱导的 dsRNA 产生被抑制, 外源性 DNA 诱导 IFN 的生成也被阻碍^[23-25].

STING 存在于 RIG-I /IPS-1 介导的信号通路中, 然而, 缺失 STING 的细胞在应答负链 RNA 病毒感染时仍然保留了部分生成 IFN- β 的能力^[13]. 在缺失 STING 的 MEF 细胞中, 免疫抑制剂 (ISD, immunosuppressive drug)、HSV-I、利斯特菌或者质粒 DNA 介导的 IFN- β 产生被完全拮抗, 而在转染 poly (dA:dT) 后, 这类细胞产生的 IFN- β 数量有所降低, 但仍然可以检测到^[17]. 以上研究说明, poly (dA:dT) 诱导的、RNA 聚合酶 III 调控的信号通路不完全依赖 STING.

ZBP1 (Z DNA binding protein 1) 又称 DAI (DNA-dependent activator of IRFs), 参与 DNA 病毒(如 HSV-1)诱导的 IFN- β 生成, 在 poly(dA:dT) 诱导的 IRF3 活化过程中也发挥重要调节作用. ZBP1 信号通路依赖 STING 而不依赖 IPS-1, 可以激活 TBK1、磷酸化 DDX3 和 IRF3、促使 IFN- β 转录, 而 IFN- β 的合成与分泌也刺激 JAK/STAT 通路, 调控 ZBP1 表达^[26].

3 炎性体参与胞内 DNA 识别及相关天然免疫调节信号通路

2009 年, 研究人员发现细胞质 DNA 也可以诱导依赖于炎性体 (inflammasome) 的天然免疫信号通路^[27-29]. 一些病原体 and 内源性信号会刺激炎性体,

引起 caspase-1 聚集和活化, 使 IL-1 β 、IL-18 前体向成熟体转化, 诱导炎性细胞因子分泌, 引发炎症反应. 炎性体应答 dsDNA 需要调节蛋白的协助, 即 ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain), 此蛋白质含有一个 pyrin 结构域和一个 CARD (caspase recruitment domain) 结构域. AIM2 (PYHIN 家族成员) 就通过这一途径发挥 DNA 传感器的功能: 其 HIN 结构域与细胞内 dsDNA 结合, 而 pyrin 结构域活化 ASC/caspase-1 介导的 IL-1 β 分泌^[27-30]. 在应答细胞质 dsDNA 过程中, AIM2 炎性体对于 caspase-1 活化是必需的, 但不参与 I 型 IFN 产生, 也不依赖 STING. 另一个依赖炎性体的 DNA 传感器是 NALP3, 也叫 cryopyrin, 能够应答腺病毒感染, 刺激炎性体, 激活 ASC/caspase-1 介导的 IL-1 β 分泌^[29].

4 TLR 介导胞内 DNA 识别及相关天然免疫调节信号通路

TLR 是一类在天然免疫系统发挥重要作用的受体, 因其与 Toll 基因的相似性而得名, 发现于 1990 年, 属于典型的 PRR, 识别 PAMP, 与白介素 1 受体组成一个受体超家族, 即 Toll 样 / 白介素 1 受体超家族 (toll-like / interleukin-1 receptor superfamily, TIR). TLR 能够启动和传导与感染、炎症和天然免疫相关的多条细胞信号通路.

已有 4 个 TLR 成员具有识别核酸类物质的功能. TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9^[12], 分布于不同的免疫细胞. TLR3 是被最先报道具有病毒核酸识别功能的 TLR, 能够识别长度大于 40 bp 的双链 RNA (dsRNA) 以及合成的 RNA, 如 poly (I:C) 和 poly (U). TLR3 不仅可以识别病毒颗粒内的 dsRNA, 也能识别感染后被吞噬的、已经发生凋亡的细胞内部的病毒核酸, 而且, TLR3 在宿主抵抗 DNA 病毒过程中也发挥作用^[12]. TLR7 也分布于 pDC 并且参与 I 型 IFN 的生成, 但 TLR7 和 TLR8 (主要分布于巨噬细胞和 DC) 主要识别 RNA 配体.

TLR9 能够识别病原 DNA 并且研究得较为深入. TLR9 是一个 I 型细胞膜糖蛋白, 包含富含亮氨酸的重复模序 (motif) 和 Toll/IL-1 样受体同源区域^[3,31], 能够识别病毒和细菌中广泛存在的 CpG DNA, 主要在 pDC 细胞 (树突状细胞的亚型, 在 CpG DNA 或病毒 RNA 刺激下产生 IFN) 表达, 在宿主针对 DNA 病毒的天然免疫反应中起着非常重要的作用^[3,8,17].

正常情况下, TLR9 位于静息状态 pDC 细胞的内质网, 当细胞受到 CpG DNA 的刺激后, 成熟的 TLR9 发生移位, 进入内吞小体区室(endolysosomal compartments), 而 CpG DNA 被内吞入细胞后也进入同一区域, 与活化的 TLR9 发生作用^[1-2, 13]. TLR9 的移位受控于 UNC93B, 这是一个 12 个氨基酸的内质网跨膜蛋白, 与 TLR9 发生直接的相互作用^[14]. 在内吞小体内部, TLR9 对 CpG DNA 的识别过程需要 MyD88 的参与, 这一蛋白质分子与白介素 1 受体相关激酶 1(IL-1R-associated kinase 1, IRAK-1)、IRAK4 以及 IRF7 相互作用, 引起 TRAF6 富集, 激活 TAK1 和 MAPK, 最终活化 NF- κ B^[2, 18]. 雷帕霉素敏感性 PI(3)K-mTOR-p70S6K 通路也参与对 TLR9 的活性调节^[32].

TLR 识别 PAMP 不要求细胞被感染, 含有 TLR 的免疫细胞可以在未发生感染样病变时即可感知病原. 而其他细胞质 PRR 则只能检测已进入细胞质的核酸, 即在细胞被感染后发挥识别作用^[12].

TLR 类 DNA 传感器也可被用于提高 DNA 疫苗的功能和治疗自身免疫疾病. 已经有合成的寡聚脱氧核苷酸(oligodeoxynucleotide, ODN)配体(如活化 TLR9 的 CpG ODN)被用作免疫佐剂. 了解这些通路能够帮助人们设计新型佐剂、提高疫苗性能, 也有助于对自身免疫类疾病的认识和治疗.

5 参与胞内 DNA 识别的其他蛋白质

HMGB(high mobility group box)蛋白是最近发现的参与胞内 DNA 识别的另一类重要蛋白质, 属于 HMG(high mobility group)蛋白超家族, 因其结构中含有一个或多个 DNA 结合域 HMG-box 而得名. 已经发现的蛋白质中, mtTF1、ABF2、TCF/LEF1、TOX、BAF57 等都属于 HMGB. 哺乳动物基因组中共有 4 种 HMGB, 即 HMGB1~4, 表达丰度高、分布范围广, 可作为 DNA 分子伴侣参与染色质复制、转录、重组、DNA 修复以及基因组稳定性调节等过程. 体外实验发现, HMGB 通过 HMG-box 实现与 DNA 的结合, 并且可以同一些非经典的 DNA-蛋白质相互作用结构(如 ssDNA, 含十字或弯曲结构的 DNA, 超螺旋 DNA, Z-DNA 等)相结合, 而同 B 型 DNA(线型 DNA)则仅在特定条件下发生微弱和短暂的结合^[33]. HMGB 在体内的 DNA 结合位点尚且不明^[34]. HMGB 可以同几乎所有的病原核酸相结合, 而后分别通过 TLR 途径或

RIG-I、MDA5、AIM2 等途径介导天然免疫信号的传递, 因此, HMGB 在天然免疫系统识别病原 DNA 过程中发挥重要作用. *Hmgb1*^{-/-} 和 *Hmgb2*^{-/-} 小鼠在受到病原 DNA/RNA 刺激的情况下体内 I 型 IFN 和细胞因子的生成出现缺损; 在 HMGB 表达受抑制的细胞中, 上述缺损尤为显著, 且 IRF3、NF- κ B 的活化亦受到负性影响. HMGB 的缺失还可使 TLR3、TLR7、TLR9 的活化受到负性影响^[35].

另一类重要的 RNA/DNA 传感器 DEAH-box helicase 是拥有 DEAH 结构域的解旋酶家族. 研究发现, 在 pDC 细胞内, 该家族成员 DHX36 通过 DEAH 结构域同 CpG-A 结合, 参与其激活 IRF7、诱导 IFN- α 的过程, 而 DHX9 则通过 DUF 区域结合 CpG-B, 参与其激活 NF- κ B、诱导 TNF- α 和 IL-6 的过程. 敲除 DHX36 或 DHX9 后, pDC 细胞应答 DNA 病毒、生成免疫细胞因子的功能明显受损, 但对 RNA 病毒的免疫应答则不受影响^[36]. RNA 解旋酶 A(RNA helicase A, RHA)又名核 DNA 解旋酶 II(nuclear DNA helicase II, NDH II), 也属于 DEAH-box helicase, 参与 HIV、HCV 等多种 RNA 病毒的免疫识别^[37]. 在 EGF 受体介导的转录活化过程中, RHA 充当 DNA 结合伴侣, 与 EGF 受体形成复合体, 通过 RHA 与靶基因的富含 AT 区域结合而使靶基因被激活并发生转录^[38], 提示 DEAH-box helicase 是参与胞内 DNA 识别的另一类重要蛋白质.

由于宿主天然免疫系统的复杂性和自然界微生物系统的多样性, 可以肯定, 在不久的将来会有更多新的识别细胞内病原 DNA 的蛋白质被发现, 我们课题组正在这一领域进行积极探索.

6 DNA 识别异常与自身免疫

I 型 IFN 是宿主抵御逃逸性病原体的必要因子, 但是 I 型 IFN 的不适当产生能引起自身免疫疾病(如系统性红斑狼疮, SLE). 在真核细胞中, 自身 DNA 只定位于细胞核和线粒体, 从而与胞质 DNA 区分开来. 在凋亡小体、细胞间隙、胞质和内体中的异常自身 DNA 可以被胞内 DNA 酶清除, 如果清除不完全就会导致 TLR 免疫信号通路的活化以及 I 型 IFN 的不适当产生, 这与自身免疫性疾病密切相关. 例如, 小鼠和人 DNase I 的缺陷或突变与 SLE 有关^[39]. DNase II 缺陷小鼠会发生 I 型 IFN 产生异常, 诱发慢性多关节炎甚至过早死亡, 而上述易感小鼠与 I 型 IFN 受体缺陷小鼠杂交可以

挽救前者生命, 表明在前期发病过程中 IFN 的过度产生起着非常重要的作用^[40]。

最近多项研究指出: 细胞内 Trex1 (3'-repair exonuclease 1) 可以调控 DNA 的体内稳态, 它的缺失会引起自身免疫性疾病。人类 Trex1 基因的突变会引发 SLE 和 AGS (Aicardi-Goutieres syndrome) 等, Trex1 缺陷型小鼠会由于 I 型 IFN 和自身抗体的生成过量而引起致死性自身免疫^[41]。敲除 IRF3 或 IFN 受体基因可以使 Trex1 缺陷小鼠免于死亡, 表明 Trex1 缺陷小鼠的自身免疫症状与 IRF3 介导的 IFN 产生有关, 源于内源性反转录的 ssDNA 会在 Trex1 缺陷型小鼠细胞中蓄积^[42]。

另据报道, TREX1 有助于 HIV-1 逃避宿主的天然免疫 DNA 识别通路。HIV-1 侵入细胞后, 其 ssRNA 在逆转录酶作用下最终会转变为 dsDNA, 而 ssDNA 或 dsDNA 可能成为胞内 DNA 传感器的潜在靶点。宿主细胞内的 TREX1 能够降解 HIV-1 ssDNA/dsDNA, 阻止 DNA 传感器对它的识别。未被识别的 HIV-1 dsDNA 整合到宿主基因组中, 从而感染细胞。利用 RNAi 沉默 TREX1 将导致 DNA 的蓄积, 进而触发未知的 DNA 传感器、激活 STING、活化 TBK1 并使 IRF3 磷酸化。磷酸化的 IRF3 发生二聚化并转移到细胞核中, 诱导 IFN 应答, 从多个层次抵御 HIV-1 感染^[43]。

TLR9 也能识别自身 DNA 并诱导 I 型 IFN 产生。TLR9 的细胞内定位对于防止识别自身 DNA 是必需的。例如, LL37 是一种银屑病患者皮肤上产生的抗生物肽, 与之相关的 DNA 被固定在 pDC 的早期内颗粒中, 促使 TLR9 活化从而诱导 I 型 IFN 产生。SLE 患者血液中发现的抗 DNA 抗体可以结合自身 DNA, 并通过与 pDC 内 TLR9 和 CD32 相互作用而诱导 I 型 IFN 产生^[44]。但是, Barton 等^[44]设计了一种定位于细胞表面的嵌合型 TLR9N4C (chimeric TLR9) 受体, 发现该受体能够应答合成的 CpG DNA 和细胞自身 DNA, 却不能应答病毒 DNA, 表明 TLR9 的细胞内定位是阻止识别自身 DNA 所必需的。

7 展 望

宿主对病原 DNA 的识别在病原体入侵、致病及宿主免疫逃逸过程中发挥重要作用。认识 DNA 激活的天然免疫反应有助于寻找治疗靶点, 拓展抗病毒治疗的手段, 提高人类对病毒感染、自身免疫

等疾病的认识和新型治疗手段的推进。

目前, 人们对 TLR9 参与的 DNA 识别有了较深入的认识, 但自然界还存在胞质 DNA 介导的、不依赖 TLR 的其他天然免疫信号通路, 其构成和作用机制尚不清楚。近年来的许多研究逐步阐释了胞内 DNA 介导免疫反应的分子机制, 该机制涉及多个分子、多条信号通路, 是一个复杂的信号调控网络。

我们课题组在研究人类冠状病毒 NL63 的木瓜样蛋白酶 (papain-like protease, PLP) 调控宿主抗病毒天然免疫反应及其分子机制方面取得了一系列研究结果, 发现该蛋白酶的核心结构域是一种病毒编码的去泛素化酶, 同时也是病毒编码的 IFN 拮抗蛋白, 可以抑制病毒诱导下 RIG-I 和 STING 介导的 IFN- β 产生, PLP2-TM 结构域可以抑制 STING 的二聚化, 使之丧失激活 IFN 信号通路的活性^[20, 45], 同时发现 SARS 的 PLP 也同样是病毒编码的去泛素化酶和 IFN 拮抗蛋白。

病原 DNA 的识别和对天然免疫的调节作用是一个非常有意义、值得深入探讨的领域, 我们期待着在这一领域取得新的研究成果。

参 考 文 献

- [1] Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*, 2010, **327**(5963): 291-295
- [2] Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int Immunol*, 2009, **21**(4): 317-337
- [3] Muruve D A, Petrilli V, Zaiss A K, *et al.* The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature*, 2008, **452**(7183): 103-107
- [4] Baum A, Sachidanandam R, García-Sastre A. Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(37): 16303-16308
- [5] Yoneyama M, Fujita T. RNA recognition and signal transduction by RIG-I-like receptors. *Immunol Rev*, 2009, **227**(1): 54-65
- [6] Sun Q, Sun L, Liu H H, *et al.* The specific and essential role of MAVS in antiviral innate immune responses. *Immunity*, 2006, **24**(5): 633-642
- [7] Nagata S, Hanayama R, Kawane K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. *Cell*, 2010, **140**(5): 619-30
- [8] Rouse B T, Sehrawat S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome?. *Nat Rev Immunol*, 2010, **10** (7): 514-526
- [9] Randall R E, Goodbourn S. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol*, 2008, **89**(part 1): 1-47

- [10] 邢雅玲, 任乐宇, 陈晓娟, 等. 人 Toll 样受体靶向药物研究进展. 中国生物工程杂志, 2010, **30**(10): 60–65
Xing Y L, Ren L N, Chen X J, *et al.* China Biotechnology, 2010, **30**(10): 60–65
- [11] Ishikawa H, Barber G N. The STING pathway and regulation of innate immune signaling in response to DNA pathogens. *Cell Mol Life Sci*, 2011, **68**(7): 1157–1165
- [12] Barbalat R, Ewald S E, Mouchess M L, *et al.* Nucleic acid recognition by the innate immune system. *Annu Rev Immunol*, 2011, **29**: 185–214
- [13] Ishikawa H, Barber G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature*, 2008, **455**(7213): 674–678
- [14] Zhong B, Yang Y, Li S, *et al.* The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity*, 2008, **29**(4): 538–550
- [15] Sun W, Li Y, Chen L, *et al.* ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(21): 8653–8658
- [16] Goubau D, Rehwinkel J, Sousa C R. PYHIN proteins: center stage in DNA sensing. *Nature Immunology*, 2010, **11**(11): 984–986
- [17] Ishikawa H, Ma Z, Barber G N. STING regulates intra-cellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature*, 2009, **461**(7265): 788–792
- [18] Blasius A L, Beutler B. Intracellular Toll-like receptors. *Immunity*, 2010, **32**(3): 305–315
- [19] Dixit E, Boulant S, Zhang Y, *et al.* Peroxisomes are signaling platforms for antiviral innate immunity. *Cell*, 2010, **141**(4): 668–681
- [20] Zhong B, Yang Y, Li S, *et al.* The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity*, 2008, **29**(4): 538–550
- [21] Saitoh T, Fujita N, Hayashi T, *et al.* Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(49): 20842–20846
- [22] Chen Z B, Sun L, Liu D B, *et al.* Human coronavirus papain-like proteases negatively regulate antiviral defences through disruption of MITA-mediated signaling//The 3rd Wuhan International Symposium on Modern Virology. Wuhan: State Key Laboratory of Virology, 2009: 31
- [23] 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. *Nat Immunol*, 2009, **10**(10): 1065–1072
- [24] Chiu Y H, Macmillan J B, Chen Z J. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG- I pathway. *Cell*, 2009, **138**(3): 576–591
- [25] Chiu Y H, MacMillan J B, Chen Z J. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG- I Pathway. *Cell*, 2009, **138**(3): 1–16
- [26] DeFilippis V R, Alvarado D, Sali T, *et al.* Human cytomegalovirus induces the interferon response *via* the DNA sensor ZBP1. *J Virol*, 2010, **84**(1): 585–598
- [27] Burckstummer T, Baumann C, Bluml S, *et al.* An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. *Nat Immunol*, 2009, **10**(3): 266–272
- [28] Roberts T L, Idris A, Dunn J A, *et al.* HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science*, 2009, **323**(5917): 1057–1060
- [29] Fernandes-Alnemri T, Yu J W, Datta P, *et al.* AIM2 activates the inflammasome and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature*, 2009, **458**(7237): 509–513
- [30] Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, *et al.* AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*, 2009, **458**(7237): 514–518
- [31] Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, *et al.* A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 2000, **408**(6813): 740–745
- [32] Cao W, Manicassamy S, Tang H, *et al.* Toll-like receptor-mediated induction of type I interferon in plasmacytoid dendritic cells requires the rapamycin-sensitive PI(3)K-mTOR-p70S6K pathway. *Nat Immunol*, 2008, **9**(10): 1157–1164
- [33] Zimmerman J, Maher L J. Transient HMGB protein interactions with B-DNA duplexes and complexes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **371**(1): 79–84
- [34] Stros M. HMGB proteins: interactions with DNA and chromatin. *Biochim Biophys Acta*, 2010, **1799**(1–2): 101–113
- [35] Yanai H, Ban T, Wang Z, *et al.* HMGB proteins function as universal sentinels for nucleic-acid-mediated innate immune responses. *Nature*, 2009, **462**(7269): 99–103
- [36] Kim T, Pazhoor S, Bao M, *et al.* Aspartate-glutamate-alanine-histidine box motif (DEAH)/RNA helicase A helicases sense microbial DNA in human plasmacytoid dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(34): 15181–15186
- [37] Liu Z, Kenworthy R, Green C, *et al.* Molecular determinants of nucleolar translocation of RNA helicase A. *Exp Cell Res*, 2007, **313**(17): 3743–3754
- [38] Huo L, Wang Y N, Xia W, *et al.* RNA helicase A is a DNA-binding partner for EGFR-mediated transcriptional activation in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(37): 16125–16130
- [39] Fenton K, Fisman S, Hedberg A, *et al.* Anti-dsDNA antibodies promote initiation, and acquired loss of renal Dnase1 promotes progression of lupus nephritis in autoimmune (NZBxNZW)F1 mice. *PLoS One*, 2009, **4**(12): e8474
- [40] Kawane K, Ohtani M, Miwa K, *et al.* Chronic polyarthritis caused by mammalian DNA that escapes from degradation in macrophages. *Nature*, 2006, **443**(7114): 998–1002
- [41] Nickerson K M, Christensen S R, Shupe J, *et al.* TLR9 regulates TLR7- and MyD88-dependent autoantibody production and disease in a murine model of lupus. *J Immunol*, 2010, **184**(4): 1840–1848
- [42] Stetson D B, Ko J S, Heidmann T, *et al.* Trex1 prevents cell-intrinsic initiation of autoimmunity. *Cell*, 2008, **134**(4): 587–598
- [43] Geijtenbeek T B H. Host DNase TREX1 hides HIV from DNA sensors. *Nature Immunology*, 2010, **11**(11): 979–980
- [44] Barton G M, Kagan J C, Medzhitov R. Intracellular localization of

- Toll-like receptor 9 prevents recognition of self DNA but facilitates access to viral DNA. *Nat Immunol*, 2006, **7**(1): 49–56
- [45] 孙 莉, 杨宇东, 刘殿波, 等. NL63 冠状病毒木瓜蛋白酶去泛素化酶活性和对宿主抗病毒天然免疫反应调节作用. *生物化学与生物物理进展*, 2010, **37**(8): 871–880
- Sun L, Yang Y D, Liu D B, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2010, **37**(8): 871–880

The Cellular Recognition of Pathogenic DNA and The Related Regulation of Innate Immunity*

XING Ya-Ling, ZHENG Yang, WANG Kai, CHEN Xiao-Juan, CHEN Zhong-Bin**

(Division of Infection and Immunity, Department of Electromagnetic and Laser Biology,
Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract The innate immune system may be the first defence line to detect and counter viral and microbial invasion. There are many mechanisms working in innate system, which would be helpful to understand the pathogenesis of infectious diseases, virus-related cancers and autoimmune diseases. Despite of the understanding about the recognition signaling in response to cellular RNA, the recognition mechanisms and related innate immunological response of pathogen DNA still remain largely unclear. Recently, a few molecules in the cell were discovered to function as DNA sensors which play key roles during DNA mediated IFN production. Besides, some molecules that could regulate IFN signaling were isolated and shown to be critical for DNA mediated innate immunity. Recent progress about the detection and recognition of pathogenic DNA, as well as its regulation of innate immunity were summarized.

Key words pathogenic DNA, DNA sensor, innate immunity, IFN

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00135

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30870536, 30972761, 81172799), The Beijing Municipal Natural Science Foundation (7092075), National Science Technology Major Project (2008ZX10004-015) and The Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, State Education Ministry(2009).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-66930297, Fax: 86-10-88272105, E-mail: chenzhongbin@yahoo.com, chenzb@bmi.ac.cn

Received: March 24, 2011 Accepted: June 9, 2011