

# CpG DNA 激活的受体信号转导及其反馈调控

陈颖 项黎新 邵健忠\*

(浙江大学生命科学学院, 杭州 310058)

**摘要** CpG DNA 是指含有胞嘧啶-鸟嘌呤模体的未甲基化 DNA 片段, 常存在于细菌、病毒等的基因组以及质粒 DNA 中, 也可通过人工合成。它具有高效的免疫刺激活性, 当微生物感染时, CpG DNA 的释放向机体免疫系统提供了一种“危险信号”, 触发机体保护性免疫应答以清除外来病原体。CpG DNA 激活的细胞信号机制包括 CpG DNA 的内吞, 与 Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9) 特异性识别及其一系列信号级联反应, 从而诱导靶基因的表达, 并受到各种内源性因素的反馈调节。现对 CpG DNA 所激活的受体分子、与 TLR9 介导的信号转导与调节以及不同类型 CpG DNA 激活的分子机制等作一综述。

**关键词** CpG DNA; TLR9; 信号转导; 反馈调控

细菌 DNA 和含有 CpG (胞嘧啶-鸟嘌呤) 模体的人工合成未甲基化寡核苷酸(CpG ODNs)能被脊椎动物天然免疫系统所识别, 快速激活天然免疫反应。这种免疫刺激性 CpG DNA 促使机体产生 Th1 型细胞应答和分泌炎症因子, 在免疫佐剂、免疫保护剂、癌症治疗和抗过敏等方面的应用中有重要的开发前景。目前, 几种 CpG DNA 激活的受体机制和级联反应已成为细胞免疫学研究的热点, 本文就其激活的细胞信号转导及负调控的最新进展作一综述。

## 1 CpG DNA 的受体分子

激活高等动物天然免疫应答的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)广泛存在于病原体细胞表面, 识别 PAMPs 是以 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)家族介导的。细菌 DNA 作为一种 PAMPs 能被机体所识别, 其基因组中的未甲基化 CpG 模体的出现频率比在高等动物中高得多, 高等动物免疫系统通过 TLR9 来察觉病原体中的未甲基化 CpG 模体, 而不识别自身的 DNA。TLR9 是 TLR 家族的 I 型膜蛋白, 在 B 细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)等免疫细胞中表达, 由胞外区、跨膜区和胞内区组成, 胞外区有一个富含亮氨酸的重复序列(leucine-rich repeats, LRRs)和一个富含半胱氨酸的结构域(cysteine-rich repeats), 它们是 CpG DNA 与 TLR9 的直接作用位点; 而胞外区有 Toll/IL-1R 同源域(Toll/IL-1-receptor homologous region, TIR), 是 TLR9 在胞内的再定位

和激活后续反应所必需的<sup>[1]</sup>。TLR9 对 CpG DNA 的识别作用是 CpG 结构特异性的, 倒置或甲基化 CpG 模体会失去对 TLR9 的激活作用。TLR9 可介导 CpG 激活 DC、B 细胞、巨噬细胞(M $\phi$ )等, 并诱导细胞分泌炎症因子和 Th1 型细胞因子, 从而激活天然和适应性免疫应答。

某些富含 CpG 模体的 DNA 病毒通过 TLR9 激活小鼠 DC 和 M $\phi$ 。鼠巨细胞病毒、疱疹单纯病毒(HSV1, HSV2)刺激浆细胞样树突细胞(pDC)产生 I 型干扰素是 TLR9 依赖的<sup>[2]</sup>; 经脂质体包裹的杆状病毒 DNA 由 TLR9 介导, 并激活 M $\phi$  的核因子- $\kappa$ B (nuclear factor of kappa B, NF- $\kappa$ B)通路<sup>[3]</sup>。因此, 无论是细菌还是病毒 DNA, TLR9 作为 CpG DNA 激活的受体分子均扮演着关键性的角色。

但近年来研究发现, TLR9 不一定是 CpG DNA 介导细胞激活的唯一受体。原始 B 细胞和经 TLR9 转染的人胚肾 293 细胞(Human embryonic cell 293, HEK293)均对 D 型 CpG ODNs (D ODNs)无反应, 表明 D ODN 激活信号转导可能需要 TLR9 的分子伴侣或共受体参与<sup>[4]</sup>。TLR<sup>+/+</sup>和 TLR<sup>-/-</sup>小鼠经含有 CpG 模体的质粒处理后, 表现出相似的免疫激活反应<sup>[5,6]</sup>; 细菌 DNA 激活人嗜中性粒细胞不依赖 TLR9 信号通路<sup>[7]</sup>, 因此推测除 TLR9 之外, 可能还有其他受体

收稿日期: 2005-12-14 接受日期: 2006-03-29

国家自然科学基金(No.30371096, No.30571423), 浙江省科技计划项目(No.2004C33098)资助

\* 通讯作者。Tel/Fax: 0571-88206582, E-mail: shaojz@zju.edu.cn

或信号通路介导 CpG DNA 作用。Dragoi<sup>[8]</sup>等发现 TLR9 缺陷的小鼠骨髓来源巨噬细胞在 CpG DNA 刺激下, 仍有微量的 DNA 依赖蛋白激酶催化亚基 (DNA-PKcs) 及丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Akt (或 PKB) 活化, 表明骨髓来源巨噬细胞中存在不依赖 TLR9 的 CpG DNA-(DNA-PKcs)-Akt/PKB 途径, 这一研究对 CpG DNA 的受体机制有了拓展性的认识。

## 2 CpG DNA 与 TLR9 介导的信号转导

CpG DNA 激活的细胞信号机制包括 CpG DNA 的内吞和运输, 与 TLR9 特异性识别及其一系列信号级联反应, 从而诱导靶基因的表达 (图 1)。

### 2.1 CpG DNA 的内吞、运输以及与受体的特异性识别

与某些 TLRs 不同, TLR9 在内质网上表达。在生理条件下, 外源 CpG DNA 经内吞作用非特异性地被免疫细胞所摄入, 迅速进入早期内体并促进内体成熟, 随后转移到溶酶体小室。与此同时, TLR9 由内质网重新分布到 CpG DNA 聚集的位点 (内体和溶酶体中), 特异性结合 CpG DNA, 同时招募 MyD88 (myeloid differentiation marker 88), 开始信号转导<sup>[9]</sup>。TLR9 对 DNA 的识别能力依赖于 DNA 序列的特异性, CpG ODNs 进入内体后自发形成以

CpG 模体为核心的二级结构, D ODN 的 3' 端 poly (G) 促进片段的多聚体化<sup>[10]</sup>, 不同 ODNs 序列产生明显差异的聚集体结构, 可能激活不同程度或路径的信号转导。

### 2.2 CpG DNA/TLR9 介导的信号通路

TLR9 介导的信号通路由 TIR 结构域招募的接头分子 MyD88 开始, 激活 IRAK (IL-1-receptor-associated kinase)-TRAF6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6)-TAK1 (TGF $\beta$ -activated kinase 1) 通路, 活化的 TAK1 激活下游级联反应包括促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 和 NIK (NF- $\kappa$ B-inducing kinase)-IKK-I $\kappa$ B 信号通路, 其中, MAPKs 通路涉及到 p38、JNK (c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase) 和 ERK1/2 (extracellular receptor kinase 1/2) 的活化。两信号通路分别诱导 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 等转录因子的活化, 启动下游基因表达。

磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) 在 CpG DNA 介导的内体成熟和信号通路中均起到关键性的作用。当 CpG DNA 进入内体时, Rab5 介导 III 型 PI3K [PI3K(III)] 在内体膜上产生 PI(3)P, PI(3)P、Rab5 与 EEA1 (early endosome antigen 1) 相互作用, 调节并促进早期内体的成熟; I 型 PI3K [PI3K(I)] 的产物 PI(3,4,5)P<sub>3</sub>, 作为第二信使, MyD88 依赖地激活 PDK1-Akt/PKB-(NF- $\kappa$ B) 通路<sup>[1]</sup>。这表明 CpG DNA/TLR9 可介导多条 MyD88 依赖的通路激活 NF- $\kappa$ B 等转录因子。

在人和小鼠的 pDC 中, D ODNs 和 DNA 病毒通过 TLR9 诱导高水平的 I 型干扰素 (IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$ ) 分泌<sup>[2-4]</sup>。近期发现, 干扰素调节因子 7 (interferon regulatory factor 7, IRF-7) 是 D ODN 和 DNA 病毒诱导 IFN- $\alpha$ /IFN- $\beta$  基因表达所必需的<sup>[11]</sup>。TLR9 介导的 IRF-7 通路依赖于 TIR 结构域及其接头分子 MyD88: TLR9 受 D ODN 激活后, MyD88 通过死亡域 (death domain) 招募 IRF-7 的抑制区域并与其在内体中相互作用, 进而与 IRAK、TRAF6 结合形成复合物, 称为 CTPP (cytoplasmic transductional-transcriptional processor)。CTPP 可能处于动态变化中, IRF-7 低水平表达时, CTPP 快速进入溶酶体小室, 转向 NF- $\kappa$ B 通路; 高水平表达的 IRF-7 则使 CTPP 长久停留于内体并激活 IRF7, 诱导 I 型干扰素基因的表达<sup>[12-14]</sup>。因此, IRF-7 和 NF- $\kappa$ B 通路是 TLR9 依赖的 MyD88-IRAK4-TRAF6 信号转导的两个相互抵触的下游分支。

Yamamoto 等<sup>[15]</sup>发现可诱导核因子 I $\kappa$ B $\zeta$  (又称

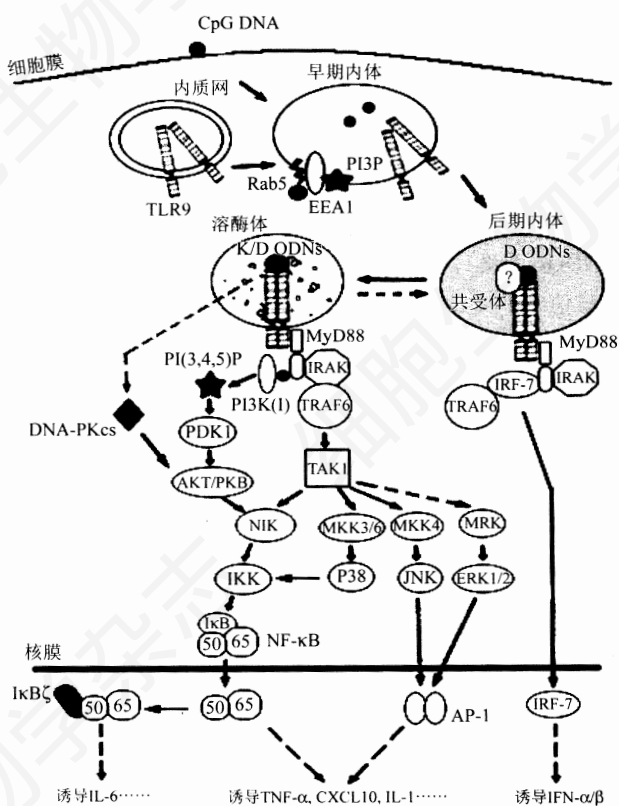


图 1 CpG DNA 激活的信号转导示意图 (部分摘录于文献<sup>[1]</sup>)

INAP/MAIL)对于TLRs/IL-1R信号通路的一些下游基因表达是必不可少的。I $\kappa$ B $\zeta$ 是与Bcl-3高度相似的I $\kappa$ B家族成员,可受CpG DNA刺激所诱导,是CpG诱导IL-6分泌所必需的,但不影响TNF- $\alpha$ 的分泌。可能的作用机制是,内源性I $\kappa$ B $\zeta$ 与NF- $\kappa$ B的p50亚基特异性结合,同时受IL-6启动子的NF- $\kappa$ B结合位点招募,活化并刺激IL-6分泌。通过I $\kappa$ B $\zeta$ 的调控作用,可能至少需要两步才完成TLR9介导的基因表达过程。

### 3 CpG DNA信号转导的负调控机制

CpG DNA通过激活信号通路,诱导免疫基因的表达,并促进促炎症因子、NO、环氧化酶等的分泌。但这些分子的过度分泌可能加速或导致炎症疾病和自身免疫疾病的发生,以及增加对中毒性休克的敏感性<sup>[16]</sup>。免疫系统通过各种内源性因子的反馈调节不断保持机体内环境稳定,防止CpG DNA激活有害的免疫应答(表1)。

#### 3.1 细胞内的负调控因子

CpG DNA信号通路在胞内水平受多种蛋白质的反馈调控。IRAK-M(IL-1-receptor-associated kinase M)、细胞因子信号转导抑制因子1(suppressor of cytokine signaling 1, SOCS-1)、PI3K、A20以不同时空和方式,不同程度地反馈调节CpG DNA/TLR9介导的信号通路。

IRAK家族成员IRAK-1、IRAK-4是MyD88依赖通路的接头分子,而IRAK-M能阻止IRAK-1、

IRAK-4从MyD88上解离,从而抑制IRAK-TRAF6复合物的形成,阻碍炎症因子的分泌和机体炎症应答<sup>[17]</sup>,因此它可能是终止TLR9通路激活的调节因子。SOCS家族的SOCS-1可由CpG DNA诱导,阻碍信息转导和转录激活因子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT-1)酪氨酸磷酸化激活,抑制IP-10分泌,从而间接抑制I型干扰素自分泌和旁分泌途径,但不影响NF- $\kappa$ B和MAPKs通路的激活<sup>[18]</sup>。I $\alpha$ 型PI3K调节机制尚不清楚,在小鼠DC中,其p85 $\alpha$ 调节亚基抑制TLR9触发的IL-12分泌,防止过多的Th1反应<sup>[19]</sup>。上文提到,PI3K也是TLR9信号转导的重要因子,因此它在CpG DNA应答中发挥着促炎症和抗炎症的双重作用。从调控时段上比较三者,IRAK-M、SOCS-1在再次或后续免疫应答中发挥功能,而PI3K在信号转导的早期调控初始激活<sup>[19]</sup>,所以,细胞内调节因子IRAK-M、SOCS-1、PI3K在CpG DNA激活细胞的不同时期分别控制机体Th1/Th2应答的平衡和避免过多的天然免疫应答。

另外,细胞内信号分子与泛素结合是调节TLRs应答的重要机制,例如TRAF6必须经泛素化才能被激活。去泛素化酶A20是肿瘤坏死因子(TNF)诱导的锌指蛋白,能抑制TNF介导的信号通路。在对CpG DNA的应答中,它能去除连接于TRAF6上的泛素,使TRAF6失活,从而阻滞TRAF6下游的NF- $\kappa$ B通路<sup>[20,21]</sup>。

#### 3.2 跨膜蛋白的反馈调控

跨膜蛋白ST2、单免疫球蛋白IL-1受体相关分子(single immunoglobulin IL-1R-related molecule, SIGIRR/Tir8)、DAP12通过与胞内结构域相互作用调节信号转导。TLR超蛋白家族是胞内含有TIR结构域的一类跨膜蛋白,通常能激活NF- $\kappa$ B通路并启动天然免疫。ST2、SIGIRR是TLR超家族的孤儿受体,不能诱导NF- $\kappa$ B分泌,相反的,它下调NF- $\kappa$ B通路的激活。ST2是I型跨膜蛋白,其ST2L亚基在胞内有TIR结构域,通过其TIR域扣押MyD88以减弱MyD88下游的信号传递,抑制IL-12分泌并增强Th2细胞应答<sup>[22]</sup>。SIGIRR含有单个胞外Ig样结构域和一个胞内TIR结构域,并可能与IRAK、TRAF6等信号转导受体复合物结合从而阻止TLR9发挥作用<sup>[23]</sup>。SIGIRR缺陷的小鼠DC经CpG DNA处理,促炎症因子(IL-6, CXCL10, IL-12, IL-10)的分泌水平显著提高。它高表达于DC和黏膜上皮细胞中,而非M $\phi$ 中,因此对胃肠道的炎症反应有关

表1 内源性因子对CpG DNA/TLR9介导的信号通路的反馈调节

| 调控水平   | 负调控因子                    | 细胞表达         | 可能调控机制                             |
|--------|--------------------------|--------------|------------------------------------|
| 细胞内    | IRAK-M                   | M $\phi$     | 阻碍IRAK- TRAF6复合物形成                 |
|        | SOCS-1                   | M $\phi$     | 抑制I型干扰素信号通路                        |
|        | PI3K                     | 均表达          | 尚不清楚                               |
|        | A20                      | M $\phi$     | 去除连接于TRAF6上的泛素                     |
| 跨膜     | ST2                      | M $\phi$     | 扣押MyD88                            |
|        | SIGIRR/Tir8              | DC、上皮细胞      | 与IRAK、TRAF6等结合使其失活                 |
|        | DAP12                    | M $\phi$ 、NK | 缓冲ERK1/2激活                         |
| TLR9表达 | Triad3A                  | 均表达          | 催化TLR9胞内结构域泛素化降解                   |
|        | c-Jun, NF- $\kappa$ Bp65 | 均表达          | 阻碍C/EBF $\alpha$ 等转录因子与TLR9基因启动子结合 |
|        | CSF-1                    | M $\phi$     | 下调TLR9 mRNA表达                      |
|        | IL-10                    | pDC          | 下调TLR9 mRNA表达                      |

键性的调节作用<sup>[24]</sup>。

信号接头分子 DAP12 存在于髓样细胞和 NK 中,胞内含有免疫受体酪氨酸活化模体(immuno-receptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。DAP12 缺陷的 M $\phi$  经 CpG DNA 处理, ERK1/2 磷酸化水平升高,并引起高浓度炎症因子的分泌;而 DAP12 缺陷的 M $\phi$  转染 ITAM 突变的 DAP12 基因后, TNF 的分泌水平恢复正常;脾酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, Syk)是 DAP12 的下游信号分子, Syk 缺陷和 DAP12 缺陷的 M $\phi$  经 CpG DNA 刺激后产生相似的免疫应答<sup>[25]</sup>。由上推论,由 DAP12 的 ITAMs 结构域介导的, Syk 依赖的信号途径能缓冲 M $\phi$  的 ERK1/2 激活。并且, ITAMs 能与多种受体配对,暗示与 DAP12 结合的一种或几种受体极可能是 TLR9 信号途径的负调节因子。

### 3.3 TLR9 的表达调控

降低 TLR9 的表达水平是 CpG DNA 激活途径的另一重要负调控机制。通常,泛素化酶以催化蛋白质降解的方式调节细胞膜受体功能。Triad3A 是指环(ring-finger) E3 连接酶 Triad3 家族成员之一,它能结合 TLR9 胞内结构域,促使其泛素化降解。Triad3A 的过表达显著下调 NF- $\kappa$ B 通路的激活,而 Triad3A 基因经 siRNA 抑制后促进 TLR9 的表达和活化<sup>[20,26]</sup>。由此表明, Triad3A 的泛素化选择性地调节 TLR9 功能,从而控制 TLR9 信号通路的强度和持续时间。

人 TLR9 基因转录受 4 个启动子元件的调控, cAMP 应答元件、5'-PU 区、3'-PU 区和 C/EBP 位点, c-Jun 和 NF- $\kappa$ B 的 p65 亚基能阻碍 C/EBF $\alpha$  等转录因子与 TLR9 基因启动子的结合,从而介导 TLR9 基因的转录抑制<sup>[27]</sup>。一些抗炎症因子或许也通过抑制转录因子的活性,对 CpG DNA 介导的 TLR9 基因转录产生抑制作用: BMDMs 的集落刺激因子-1 下调 TLR9 的 mRNA 表达<sup>[1]</sup>; IL-10 抑制 CpG 激活的 pDC 成熟和炎症因子分泌<sup>[28]</sup>。另外,不同免疫细胞受不同 CpG 模体的 DNA 激活时, TLR9 表达调控机制有所差异,这使多种免疫细胞“各尽其能”,多方面地调节机体免疫应答。

## 4 不同类型 CpG ODNs 激活的分子机制

至今,已发现 3 种不同结构类型的 CpG ODNs 能有效刺激细胞表达 TLR9。K ODNs (即 CpG-B) 在硫代磷酸骨架上编码多种 CpG 模体,触发 APCs

分化,刺激 B 细胞、单核细胞增殖以及 IgM、IL-10、IL-6 分泌。D ODNs (即 CpG-A)以硫代和非硫代/磷酸为骨架,含有单个回文结构(PuPuCGPyPy)和 3'poly(G)尾巴,诱导 pDC 分泌 I 型干扰素,不直接活化 B 细胞<sup>[16]</sup>。

K 和 D 型 ODNs 的不同免疫机制主要体现在激活 pDC 的差异性上。K/D ODNs 被 pDC 所摄入,均通过 TLR9-MyD88 依赖的 MAPKs 和 NF- $\kappa$ B 通路激活信号转导, TLR9 对 D ODNs 的识别可能还需要额外的共受体或接头分子。K ODNs 迅速诱导 pDC 成熟,上调细胞 CD83、CD86、MHC II 表达并促进 IL-8 和 TNF- $\alpha$  分泌;而 D ODNs 还经 IFR7 依赖的信号通路刺激 pDC 分泌 IFN- $\alpha$  并减弱 pDC 成熟(共刺激因子和 MHC II 表达量下降), pDC 的不成熟化延长了 IFN- $\alpha$ R 依赖的 IFN- $\alpha$  自分泌和旁分泌回路,从而诱导高水平的 I 型干扰素分泌<sup>[4]</sup>。D ODNs 激活与经典 ODNs (K ODNs)不同的免疫应答,可能原因是 D ODNs 被受体识别时形成更高级的聚集体结构。D ODNs 回文结构和 poly(G)尾巴的存在,促进核苷酸链形成 G-四分体和 ODN 簇,并自我装配成更加稳定而有序的三级结构,而这种三级结构使 ODNs 形成约病毒大小的纳米颗粒<sup>[29]</sup>。由于 D ODNs 和 DNA 病毒激活机体相似的炎症反应,可以推测 D ODNs 可能模拟病毒颗粒触发细胞分泌高水平的 IFN- $\alpha$ ,从而促进机体抗病毒能力。

C ODNs 结合了 K ODNs 和 D ODNs 的结构元件。它以硫代磷酸为骨架,包含 5'-TCGTCG、GTCGTT (ODN 2006)和 CpG 回文序列(ODN 2216),它既能诱导 pDC 产生 IFN- $\alpha$ ,还能直接活化 B 细胞分泌 IgM、IL-6<sup>[16]</sup>。由此推测, C ODNs 兼备 K ODNs 和 D ODNs 的免疫刺激活性,诱导免疫基因表达。

## 5 小结与展望

CpG DNA 激活细胞信号转导的研究具有重要的生物学和临床意义。它解释了原核生物 DNA 为何激活高等动物抗感染的原因;阐述了 CpG 如何激活机体天然和特异性免疫应答的机制;还有助于指导 CpG 佐剂、抗过敏剂等免疫应用和临床安全性检测的研究等。CpG DNA 激活机制已成为细胞免疫学研究的一大热点,未来的研究将着重于 CpG DNA 的内吞原理、D ODNs 抗病毒机制、TLR9 通路的调控方式以及不依赖 TLR9 的信号通路等。随着研

究的不断深入, 进一步探讨将加深人们理解 CpG DNA 激活的免疫机制及调控。

### 参考文献 (References)

- [1] Takeshita F *et al. Semin Immunol*, 2004, **16**: 17
- [2] Wagner H. *Trends Immunol*, 2004, **25**: 381
- [3] Abe T *et al. J Virol*, 2005, **79**: 2847
- [4] Gursel M *et al. J Leukoc Biol*, 2002, **71**: 813
- [5] Spies B *et al. J Immunol*, 2003, **171**: 5908
- [6] Babiuk S *et al. Immunology*, 2004, **113**: 114
- [7] Trevani AS *et al. Eur J Immunol*, 2003, **33**: 3164
- [8] Dragoi AM *et al. EMBO J*, 2005, **24**: 779
- [9] Latz E *et al. Nat Immunol*, 2004, **5**: 190
- [10] Wu CC *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 33071
- [11] Honda K *et al. Nature*, 2005, **434**: 772
- [12] Honda K *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 15416
- [13] Honda K *et al. Nature*, 2005, **434**: 1035
- [14] Kawai T *et al. Nat Immunol*, 2004, **5**: 1061
- [15] Yamamoto M *et al. Nature*, 2004, **430**: 218
- [16] Klinman DM. *Nat Rev Immunol*, 2004, **4**: 249
- [17] Kobayashi K *et al. Cell*, 2002, **110**: 191
- [18] Baetz A *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 54708
- [19] Fukao T *et al. Trends Immunol*, 2003, **24**: 358
- [20] Dunne A *et al. FEBS Lett*, 2005, **579**: 3330
- [21] Boone DL *et al. Nat Immunol*, 2004, **5**: 1052
- [22] Brint EK *et al. Nat Immunol*, 2004, **5**: 373
- [23] Wald D *et al. Nat Immunol*, 2003, **4**: 920
- [24] Garlanda C *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 3522
- [25] Hamerman JA *et al. Nat Immunol*, 2005, **6**: 579
- [26] Chuang TH *et al. Nat Immunol*, 2004, **5**: 495
- [27] Takeshita F *et al. J Immunol*, 2004, **173**: 2552
- [28] Duramad O *et al. Blood*, 2003, **102**: 4487
- [29] Kerkmann M *et al. J Biol Chem*, 2005, **280**: 8086

## Signal Transduction and Negative Regulation Activated by CpG DNA

Ying Chen, Li-Xin Xiang, Jian-Zhong Shao\*

(College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**Abstract** CpG DNA containing unmethylated CpG dinucleotides in particular base contexts (CpG motifs) have characteristic immunostimulatory effects. The release of unmethylated CpG DNA during infection provides a 'dangerous signal' to the innate immune system, triggering a protective immune response that enhances the ability of the host to eliminate the pathogen. The signal transduction activated by CpG DNA includes the cellular internalization of CpG DNA, the interaction with Toll-like receptor 9 (TLR9) and the subsequent signal cascade reaction. The intensity and duration of CpG DNA/TLR9 signaling can be negatively modulated by intracellular regulators, transmembrane proteins regulators and the reduction of TLR9 expression. In addition, three structurally distinct classes of CpG ODNs representing differential immunomodulatory activities are capable of stimulating cells through differential signaling. Above all, the study of the signaling mechanism of CpG DNA may provide a deep understanding toward CpG-mediated immune response.

**Key words** CpG DNA; TLR9; signal transduction; negative regulation

Received: December 14, 2005 Accepted: March 29, 2006

This work was supported by the National Natural Sciences Foundation of China (No.30371096, No.30571423), the Science and Technology Project of Zhejiang Province (No.2004C33098)

\*Corresponding author. Tel/Fax: 86-571-88206582, E-mail: shaojz@zju.edu.cn