中国细胞生物学学报 Chinese Journal of Cell Biology 2025, 47(3): 403–411
DOI: 10.11844/cjcb.2025.03.0009
CSTR: 32200.14.cjcb.2025.03.0009

陈帅, 中山大学肿瘤防治中心教授、博士生导师, 华南恶性肿瘤防治全国重点实验室独立PI。2002年厦门大学本科毕业, 2007年于复旦大学获得博士学位。主要研究方向为天然免疫与炎症调控, 并在此基础上开发新的抗炎、抗肿瘤药物。作为负责人主持国家“973计划”课题、国家自然科学基金、广州市重点项目、广东省科技项目等多项。以第一或通信作者身份在*Nat Cell Biol*、*Nat Commun*、*Adv Sci*、*Cell Rep*等SCI杂志发表研究论文近30篇。

核酸天然免疫识别的研究进展

盛春姐　曾琪　姚辰　陈帅*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060)

摘要　免疫应答包括天然免疫和适应性免疫两种类型。天然免疫是机体非特异抵抗外界微生物入侵、识别机体损害的第一道防线。随着1996年Toll受体的模式识别功能在果蝇中得到鉴定, 发现新的模式识别受体、揭示其在生理和病理条件下的调控机制成为了生物医学研究的前沿领域。过去三十年陆续鉴定出了Toll样受体(TLRs)、RIG-I样受体(RLRs)、NOD样受体(NLRs)、环状GMP-AMP合成酶(cGAS)等一批新的模式识别受体和炎症小体, 其中核酸模式识别受体为开发新的疫苗佐剂和抗肿瘤药物提供了丰富的靶点, 许多候选药物目前也已进入了临床试验。核酸模式识别受体在识别病毒入侵和自身核酸方面发挥着重要作用。该文对核酸的模式识别机制和肿瘤免疫治疗药物开发的最新进展进行综述。

关键词　天然免疫; 模式识别受体; 炎症小体; 肿瘤免疫治疗

Advances in the Innate Immune Recognition of Nucleic Acids

SHENG Chunjie, ZENG Qi, YAO Chen, CHEN Shuai*

(*State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China*)

Abstract　There are two major types of immunity: innate immunity and adaptive immunity. Innate immunity is the first line of defense for the body’s non-specific resistance to microbial invasion and recognition of tissue damage. With the identification of the pattern recognition function of Toll receptor in *Drosophila* in 1996, the discovery of new PRRs (pattern recognition receptors) and the revelation of their regulatory mechanisms under physiological and pathological conditions have become cutting-edge fields in biomedical research. Over the past thirty years, a new batch of nucleic acid-sensing PRRs, including TLRs (Toll-like receptors), RLRs (RIG-I-like receptors), NLRs (NOD-like receptors), cGAS (cyclic GMP-AMP synthase), etc. and inflammasomes have been

收稿日期: 2024-12-08　　接受日期: 2025-01-17
*通信作者。Tel: 020-39333569, E-mail: chenshuai@sysucc.org.cn
Received: December 8, 2024　　Accepted: January 17, 2025
*Corresponding author. Tel: +86-20-39333569, E-mail: chenshuai@sysucc.org.cn

identified. Among them, many nucleic acid-sensing pattern recognition receptors are targets for the development of new vaccine adjuvants and anti-tumor drugs. Numerous candidate drugs have also entered clinical trials. Nucleic acid-sensing pattern recognition receptors play an important role in recognizing virus invasion and self nucleic acids. This article reviews the innate immune recognition mechanism of nucleic acids and the latest progress in the development of cancer immunotherapy drugs.

Keywords innate immunity; pattern recognition receptors; inflammasome; cancer immunotherapy

1989年免疫学家JANEWAY[1]推测细胞内存在一些胚系基因编码的受体，可识别微生物成分、诱导免疫应答，后人把这些受体称为模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)。JANEWAY[1]提出的模型被称为“感染–非自我模型”，即机体能够识别感染过程中的“非自我”成分，称为病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)。1994年MATZINGER[2]进一步推测“免疫系统不关心自我和非我，它主要检测和防范危险”，这被称为“危险模型”。机体损伤时释放的信号分子称为损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)。1996年HOFFMANN实验室[3]发现果蝇的Toll可以介导微生物感染诱导的抗真菌肽，为上述猜想提供了确切证据，并揭开了发现模式识别受体的“大航海时代”(图1)。

1 识别核酸的Toll样受体

1980年，德国科学家NÜSSLEIN-VOLHARD等[4]发现了一个影响果蝇的背腹侧分化的基因，并将其命名为*Toll*(在德语中是“好极了”、“了不起”的意思)。之后，研究人员发现Toll蛋白和白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)受体(IL-1 receptor, IL-1R)具有同源性，提示其可能与机体免疫有关[5]。1996年法国科学家HOFFMANN等[3]发现Toll在果蝇抗真菌感染中发挥重要作用，*Toll*突变的果蝇更容易因感染而死亡，由此确定了Toll受体的免疫学意义。1997年，MEDZHITOV等[6]克隆了第一个Toll的人同源蛋白，发现其为I型跨膜蛋白，能够诱导适应性免疫应答。1998年，一直在寻找细菌内毒素即脂多糖受体的美国科学家BEUTLER等[7]在小鼠中找到了Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)，并证实了其在天然免

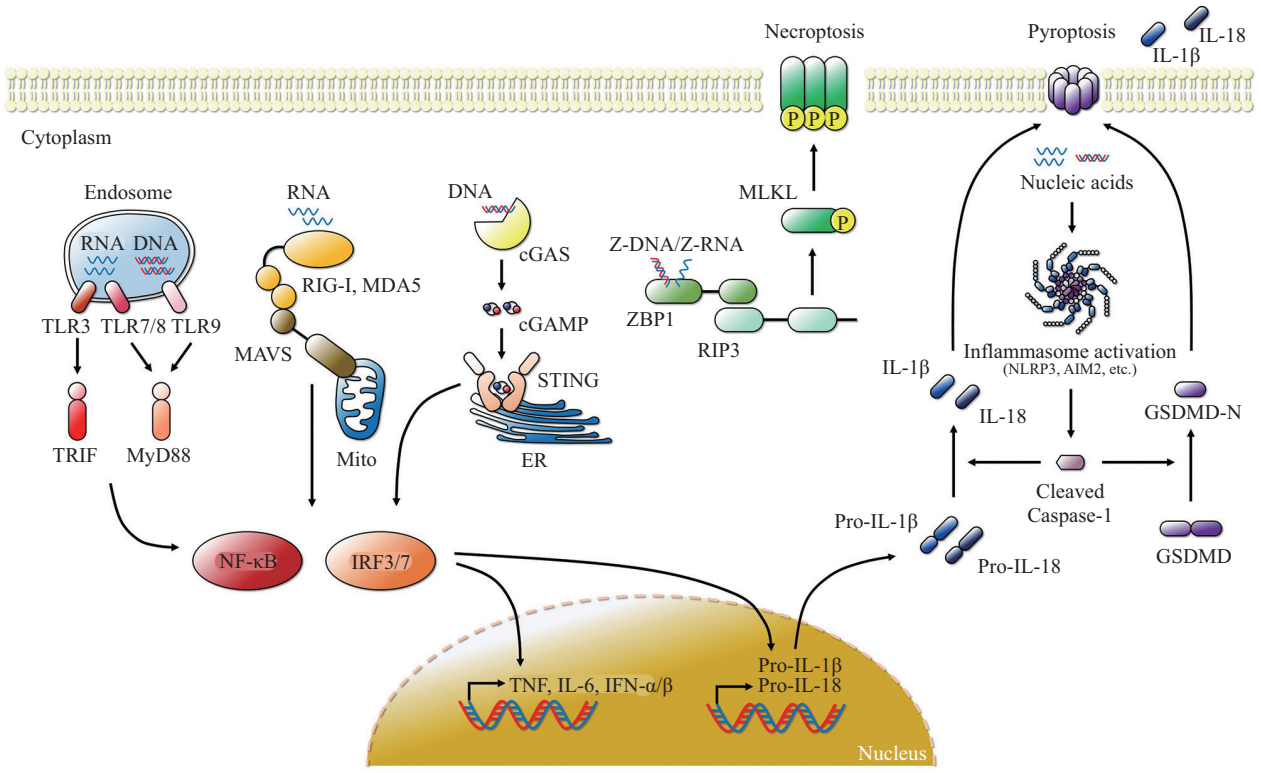

图1 细胞内主要的核酸天然免疫识别受体

Fig.1 Main cytoplasmic innate immune recognition receptors sensing nucleic acids

疫中的重要作用。HOFFMANN和BEUTLER两位科学家因发现TLRs在先天免疫激活的机制与发现树突状细胞的美国科学家STEINMAN共享了2011年诺贝尔生理学或医学奖[8]。

TLRs是一类重要的模式识别受体, 通过识别不同的PAMPs或DAMPs激活机体产生免疫应答[9]。在哺乳动物中已经发现的TLRs家族成员有13个: 人的TLRs家族有10个成员, 分别是TLR1~10; 小鼠TLRs成员有12个, 包括TLR1~9、TLR11、TLR12和TLR13。定位于细胞膜的TLRs负责识别胞外病原相关分子; 胞内TLRs均定位于内体, 包括TLR3、TLR7、TLR8和TLR9, 主要识别核酸相关产物[10]。

TLRs属于I型跨膜蛋白, 由胞外区、跨膜区和胞内区三部分组成。胞外区含有亮氨酸富集重复区(leucine-rich repeat, LRR), 负责与PAMPs和DAMPs结合; 胞内区含有与IL-1R结构高度类似的Toll/IL-1受体(Toll/IL-1 receptor, TIR)结构域, 与同样含有TIR结构域的衔接蛋白结合并向下游传递信号。TLRs下游信号转导途径主要由含有TIR结构域的髓样分化因子88(myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88)或TIR结构域衔接蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon-β, TRIF)介导。除TLR3外, 所有TLRs都由MyD88介导, 即MyD88依赖型信号通路: TLR3则可通过TRIF依赖途径参与抗病毒免疫应答[10-13]。除了抗病毒免疫外, I型干扰素还参与调控免疫细胞活性, 如增强细胞毒性T细胞免疫应答, 影响树突状细胞的抗原提呈能力, 介导抗肿瘤反应[14-15]。

1.1 TLR3/7/8及其对RNA的识别

负责识别核酸的TLR3/7/8/9均定位于内体, 也被称为核酸传感器, 其中TLR3识别病毒短dsRNA(double-stranded RNA, dsRNA), 是第一个发现的识别病毒成分的Toll样受体; TLR7和TLR8识别病毒单链RNA(single-stranded RNA, ssRNA), TLR9则识别病毒或细菌的非甲基化CpG-DNA[10]。TLR3广泛分布在各种上皮细胞, 主要在髓样树突状细胞特异性表达。TLR3通过胞外区的LRR结构域识别dsRNA或其模拟物poly(I:C), 胞内区的TIR结构域与含有TIR结构域的接头蛋白TRIF结合, 招募下游蛋白肿瘤坏死因子受体相关因子3(tumor necrosis factor receptor-associated factor 3, TRAF3), TRAF3进一步活化下游TRAF家族成员相关的NF-κB激活蛋白(TRAF family member-associated NF-κB activator, TANK)结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1)和κB抑制因子激酶ε(inhibitor of κB kinase ε, IKKε), 从而磷酸化干扰素调节因子-3(interferon regulatory factor-3, IRF-3), 入核启动I型干扰素-α/β(interferon-α/β, IFN-α/β)的表达, 发挥抗病毒作用[11-12]。*Tlr3*缺陷的小鼠对小鼠巨细胞病毒感染更敏感, *TLR3*缺陷的人群也对人类单纯疱疹病毒1型更易感[13]。除了抗病毒免疫, I型干扰素还参与调控免疫细胞活性, 如增强细胞毒性T细胞免疫应答, 影响树突状细胞的抗原提呈能力, 介导抗肿瘤反应[13-15]。

识别ssRNA的TLR7和TLR8在发育和结构上都非常相似, TLR7主要在浆细胞样树突状细胞和B细胞中表达, TLR8主要在髓系树突状细胞和单核细胞中表达。TLR7/8与ssRNA结合后, 通过MyD88依赖性途径向下游传递信号。MyD88与TLRs结合后, 招募IL-1R相关受体激酶4(interleukin-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4)和IRAK1, 磷酸化的IRAK1/4, 将进一步激活TRAF6和下游转化生长因子-β激活激酶1(transforming growth factor-β-activated kinase 1, TAK1), 活化后的TAK1将导致NF-κB和IRF7入核, 诱导相关细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-6、IL-1β和IFN-α/β等表达[10,12]。

体外合成的mRNA被TLR7等受体识别后会诱发机体强烈的炎症反应。2005年美国宾夕法尼亚大学的KARIKÓ等[16]发现其机制在于mRNA中存在尿嘧啶核苷酸(uridine, U), 如果用假尿嘧啶核苷(Pseudouridine, Ψ)替代U形成修饰的mRNA, 则有效避免了炎症反应, 还可以提高mRNA的稳定性和蛋白表达产量。该发现对于推动mRNA的应用具有里程碑式意义。2019年新冠疫情的爆发, 推动了mRNA疫苗研发的进程。2023年, KARIKÓ和WEISSMAN凭借假尿嘧啶修饰在免疫学方面的奠基性发现, 以及COVID-19的mRNA疫苗成功开发, 获得了诺贝尔生理学或医学奖[17]。

1.2 TLR9及其识别DNA的机制

2000年, 免疫学家AKIRA等[18]发现TLR9可以识别病原体来源的非甲基化磷酸胞苷鸟苷DNA(CpG-DNA), 主要表达在浆细胞样树突状细胞和B细胞。TLR9介导的信号通路与TLR7/8类似, 为MyD88依赖型。当TLR9与CpG DNA结合后, TLR9招募衔接蛋白MyD88, 促进IRAK1/4的自磷酸化, 进

一步活化下游TRAF6, 最终激活NF-κB通路和I型IFN通路, 启动相关基因转录, 参与抗病毒和抗肿瘤免疫应答[10,12]。

2 胞质RNA的识别机制

当病毒核酸进入细胞质之后, 会有一系列的受体感知其存在。能够识别胞质RNA的模式识别受体主要包括维甲酸诱导基因蛋白I(retinoic acid-inducible gene-I, RIG-I)样受体(RIG-I-like receptors, RLRs)、2'-5'寡聚腺苷酸合成酶(2'-5' oligoadenylates synthesis, OAS)等, 主要通过识别病毒RNA启动抗病毒免疫反应。

2.1 RIG-I样受体

RLRs是在2000年代初期作为抗病毒免疫中的胞质受体被发现的。2004年FUJITA等[19]发现了RIG-I能够识别dsRNA, 揭示了细胞具有识别胞质中病毒复制中间体的特定机制, 这与TLRs在细胞膜或内体中识别病毒的机制不同。后续研究发现了RLR家族的其他两位重要成员抗黑色素瘤分化相关基因蛋白5(melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)、遗传学和生理学实验室蛋白2(laboratory of genetics and physiology 2, LGP2)。MDA5被证实能够识别由某些病毒产生的长dsRNA[20], 而LGP2则在RIG-I和MDA5介导的反应中起调节作用, 研究表明LGP2可通过其ATP酶结构域促进RIG-I和MDA5对病毒RNA的识别[21-22]。

2.1.1 *RIG-I样受体的结构与功能* RIG-I样受体具有三个主要结构域: N末端的两个半胱天冬酶(cysteinyl aspartate specific proteinase, Caspase)招募结构域(caspase-recruitment domains, CARDs)、中央的DExD/H-box RNA解旋酶结构域和C末端的调控结构域。CARDs负责通过与线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)的相互作用来传递下游信号, 而解旋酶和调控结构域则参与RNA的结合与特异性识别[23]。在病毒感染细胞的细胞质中, RIG-I主要识别由病毒(如流感病毒和仙台病毒)产生的短dsRNA或5'-三磷酸RNA, 而这样的结构在细胞自身RNA中是缺乏的[24]。MDA5与RIG-I的功能相似, 但更倾向于结合长dsRNA, 如在小RNA病毒感染中产生的RNA。与RIG-I不同, MDA5沿着dsRNA形成长丝状结构, 促进其激活[24], 而MDA5的功能获得型(gain-of-function)突变也会由于产生过量的I型干扰素而导致自身免疫病发生[25]。LGP2虽缺乏CARDs, 无法直接发起信号传递, 但可通过结合RNA调节RIG-I和MDA5的活性[21]。RIG-I的活性受到多种翻译后修饰的调控, 同时也有研究表明长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)也能通过稳定RIG-I与三结构域蛋白25(tripartite motif 25, TRIM25)形成的复合物来促进抗病毒天然免疫应答[26]。

2.1.2 *衔接蛋白MAVS的功能* 2005年, 美国西南医学中心陈志坚团队[27]鉴定出蛋白质MAVS。同期其他三个实验室也发现了该蛋白, 分别将其命名为IPS-1[28]、VISA(我国武汉大学舒红兵团队报道)[29]和Cardif[30]。MAVS定位于线粒体外膜, 与已激活的RIG-I和MDA5的CARDs相互作用, 是连接这两个胞内RNA受体与下游信号的重要衔接蛋白[27-30]。RIG-I在与病毒RNA结合后, 会发生构象变化, 解除自抑制状态, 使CARDs能够与MAVS相互作用, 当RIG-I或MDA5被激活后, MAVS在线粒体上发生寡聚化, 这一过程对于招募下游信号蛋白如TRAF3、TRAF6和IKKε至关重要[31]。这些分子进一步激活转录因子IRF3、IRF7和NF-κB, 最终诱导I型干扰素和促炎细胞因子的产生[31]。同时, 最近的一项研究表明, MAVS的活化也依赖于与细胞内的某些mRNA结合[32], 这也展示了RLR-MAVS系统与RNA之间复杂的互动关系。

2.2 其他胞质RNA受体

除了RLRs外, 胞质中还存在其他一些能够感知RNA的受体, 如OAS识别病毒dsRNA后, 会产生第二信使2'-5'-连接的寡腺苷酸(2'-5'-linked oligoadenylates, 2-5A), 激活核糖核酸酶L(ribonuclease L, RNaseL), 切割病毒dsRNA并诱导感染细胞的死亡[33]; dsRNA依赖的蛋白激酶(doublestranded RNA-dependent protein kinase, PKR)识别dsRNA后, 能够磷酸化真核生物转录起始因子2a(eukaryotic initiation factor 2a, eIF2a)并抑制其活性, 阻止病毒和细胞的蛋白翻译, 发挥抗病毒的功能[34]。这些受体并非简单的功能冗余, 体现了机体识别内外源RNA的复杂性和多样性。

3 胞质DNA的天然免疫识别

3.1 cGAS-STING信号通路

2008年BARBER实验室[35]和武汉大学舒红兵实验室[36]分别独立报道了一个能够激活I型干扰素表达的内质网定位蛋白, 将其称为干扰素基因刺激因子

(stimulator of interferon genes, STING)。2009年北京大学蒋争凡实验室[37]也报道了该蛋白, 将其命名为ERIS。STING在DNA应答中发挥重要作用, 但具体机制不明。在这期间, 人们发现细菌分泌的一些环二核苷(cyclic dinucleotides, CDNs)如c-di-GMP/c-di-AMP能够激活宿主的免疫反应, 尤其是I型干扰素应答, 具体的胞内靶点不明[38-40]。随后VANCE实验室[41-42]通过正向和反向遗传筛选, 均发现STING是c-di-GMP的受体, 它结合c-di-GMP后在内质网上发生二聚化, 从而招募TBK1并磷酸化IRF3, 后者入核启动I型干扰素表达。

虽然STING能够结合CDNs, 但是它并不是一个DNA结合蛋白。2013年陈志坚实验室[43-44]在*Science*杂志同期刊发两篇论文, 发现胞质DNA被环磷酸鸟苷–腺苷酸合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)识别后, 合成第二信使cGAMP, 再结合并激活STING, 从而解决了DNA模式识别领域长期悬而未决的问题。陈志坚也因此在2024年获得拉斯克奖基础医学奖。除此之外, cGAS也存在一些非经典功能, 比如当细胞发生DNA损伤时cGAS可入核, 并聚集在DNA损伤位点抑制DNA同源重组修复而促进肿瘤发生[45]; 基因组DNA损伤修复过程中减数分裂重组核酸酶11(meiotic recombination 11, MRE11)可以协助cGAS摆脱核小体的束缚, 感知损伤的dsDNA并进一步通过Z-DNA结合蛋白1(Z-DNA binding protein 1, ZBP1)依赖的细胞程序性坏死实现肿瘤抑制[46]。可见cGAS在肿瘤发生发展过程中发挥着“双刃剑”的作用。

3.2 ZBP1受体

在cGAS被鉴定出来之前, ZBP1(又名DAI)是第一个被找到的潜在胞质DNA感受器[47]。但在随后发现*ZBP1*基因敲除并不影响DNA疫苗的免疫原性和T、B细胞对特定抗原的应答, 提示ZBP1并不是主要的胞内DNA受体[48]。

生物体内的DNA存在不同的构型。B-DNA是DNA在生理状态下最常见的天然构型, 而左手螺旋形式的Z-DNA是某些DNA序列(如富含G-C, 且嘌呤和嘧啶交替出现)在特定环境中的构型。环境条件发生变化时, DNA的构型可以发生B-型到Z-型的转变[49]。ZBP1的N-端包含两个Z-DNA结合结构域, 其中Zβ结构域能够结合Z-DNA, 并微弱结合B-DNA, 提示ZBP1只能识别特定构象的核酸分子[50]。除此之外, ZBP1通过其受体相互作用蛋白激酶同型结构域(receptor-interacting protein kinase homotypic interaction motif, RHIM)与受体相互作用蛋白3(receptor-interacting protein 3, RIP3)形成复合物, 促进混合谱系激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein, MLKL)磷酸化并在细胞膜上打孔, 在细胞程序性坏死过程中发挥重要作用[51]。最近的研究发现, Z-DNA和Z-RNA都能激活ZBP1从而诱导细胞坏死性凋亡和炎症[52], 体现了ZBP1对于核酸构象的选择性要强过对核酸类型的选择性。

3.3 其他胞质DNA受体

干扰素诱导蛋白16(interferon inducible protein 16, IFI16)属于包含Pyrin和造血干扰素诱导性核蛋白结构域(hematopoietic interferon-inducible nuclear domain, HIN)的PYHIN蛋白家族(又称HIN-200蛋白家族)成员, 能够感知外来或受损DNA并诱导I型干扰素, 是防御病毒感染和基因组完整性威胁的关键角色[53]。IFI16与其他PYHIN家族成员的区别在于拥有两个HIN(HIN-A和HIN-B)结构域。IFI16在细胞核和细胞质中均有定位, 其活性也受到相分离的调控[54]。IFI16还能直接识别流感病毒的RNA来限制其感染[55]。DNA-PK是一种三聚体复合物, 由催化亚基DNA-PKcs和DNA结合亚基Ku70、Ku80组成, 能维持基因组稳定性。在非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)途径中, Ku70和Ku80与DNA断裂结合, 将DNA-PKcs招募到损伤部位以启动修复。除此之外, DNA-PK还是识别DNA的PRR, Ku70特异性识别dsDNA并诱导干扰素激活。这种在DNA修复和免疫信号转导中的双重作用体现了其在细胞防御机制中的多功能性和重要性[56]。除此之外, 抑制DNA-PK还可以与溶瘤病毒发挥协同抗肿瘤的作用[57]。

4 炎症小体与核酸识别

早在2001年, 核苷酸寡聚化结构域(nucleotide binding oligomerization domain, NOD)样受体(NOD-like receptors, NLRs)家族成员NLRC4(又名IPAF)被发现能够激活Caspase-1并诱导细胞死亡[58]。随着参与该过程的成员越来越多地被发现, 人们意识到细胞内存在一类能够激活Caspase-1来加工IL-1β/IL-18并诱导炎症和细胞死亡的蛋白质机器, 将其命名为炎症小体(inflammasome)[59]。经典炎症小体的组成通常包

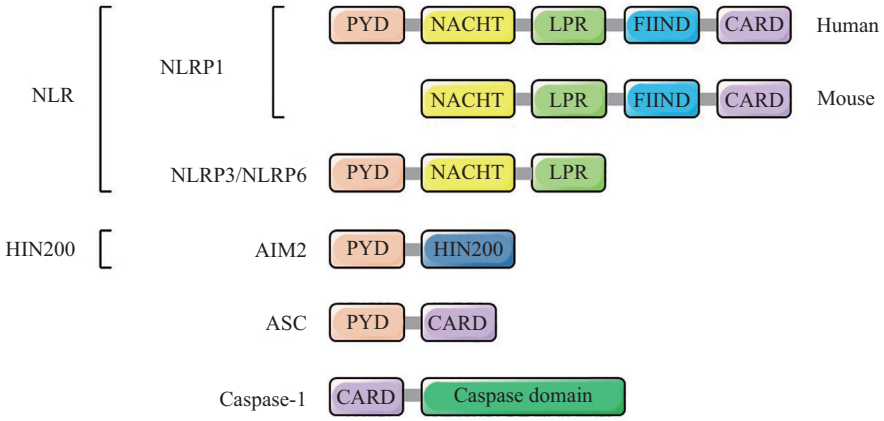

图2　识别核酸的炎症小体成员

Fig.2　Inflammasome members sensing nucleic acids

括模式识别受体(通常为NLR家族蛋白，也包括一些非NLR家族成员)、凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)和Caspase-1。活化后的炎症小体招募Caspase-1和相关蛋白在细胞内形成复合物，激活Caspase-1的自我切割和对前体IL-1β及IL-18的切割，促进其成熟和释放；此外，Caspase-1也可以切割焦孔素D(gasdermin D, GSDMD)，促进其N-端至质膜上聚合打孔，诱发细胞焦亡[60]。炎症小体识别何种PAMP/DAMP取决于其中的模式识别受体，比如说NLRP1和NLRP6识别RNA[61-62]，NLRP3和黑色素瘤缺乏因子2(absent in melanoma 2, AIM2)识别DNA[63-64]。当然，这种识别往往也不是专一的，比如NLRP3还能被尿酸结晶激活[65]，近期一项全基因组关联分析的研究也报道了*NLRP3*是痛风的易感基因[66]。这些识别核酸的炎症小体成员结构见图2。

4.1　NLRP1和NLRP6

NLRP1是第一个被发现能参与炎症小体组装的NLRP成员[59]。NLRP1的未知功能结构域(function-to-find domain, FIIND)能够被蛋白酶解切割，产生两个蛋白片段，这个过程对于NLRP1炎症小体的激活是必需的。小鼠中NLRP1的同源蛋白有三个，分别为Nlrp1a、Nlrp1b和Nlrp1c，它们都缺乏N-端的Pyrin结构域(Pyrin domain, PYD)。NLRP1能够被包括病毒dsRNA、病毒蛋白酶、紫外线、活性氧(reactive oxygen species, ROS)等因素激活，这些因素通过一系列信号转导途径最终都会导致NLRP1的N-端发生切割和降解，释放出能够形成炎症小体的C-端，与ASC和pro-Caspase-1完成炎症小体的组装[67]。

NLRP6在肠上皮中高表达，对于维持肠道微生态具有重要的作用。在RNA病毒感染过程中，NLRP6能够感知病毒RNA并促进下游IFN和NF-κB应答[68]。液–液相分离对NLRP6炎症小体识别病毒RNA及活化过程具有重要的作用[62]。

4.2　NLRP3和AIM2

NLRP3在髓系细胞中高表达，是炎症小体中研究得最为透彻的感受器。NLRP3炎症小体可以被钾离子外流、溶酶体损伤及线粒体来源的ROS等途径激活。同时，NLRP3也能够结合dsDNA并在cGAS-STING通路的作用下促进裂解性细胞死亡。如此多种多样的活化机制使得NLRP3成为感受细胞代谢变化的重要分子[69]。

AIM2最初是作为抑癌基因被发现的，后续研究表明AIM2能够结合胞质中的dsDNA。AIM2属于HIN-200蛋白家族，其N-端的PYD结构域和C-端的HIN-200结构域能结合并处于自抑制状态。当HIN-200结构域结合DNA后，这种自抑制状态被解除，其PYD结构域招募ASC和pro-Caspase-1完成炎症小体的组装及后续激活。与NLRP3类似，AIM2炎症小体与其他DNA感受器如cGAS-STING、DNA-PK等也存在交互作用，调节包括干扰素表达、细胞死亡等过程[70]。

5　线粒体核酸的释放和识别

真核生物的线粒体起源于古细菌，含有双链环状的线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)，并在转录时形成大量的双链环状线粒体RNA(mitochondrial RNA, mtRNA)。当细胞发生

应激时, ROS等能够破坏线粒体膜, 向细胞质释放出mtDNA和mtRNA[71]。这些内源性的DAMP分子能够被定位于细胞质的核酸模式识别受体所感知, 比如cGAS识别mtDNA[72-73], MDA5和RIG-I识别mtRNA[74-75], 进而启动I型干扰素的产生, 在抗病毒和抗肿瘤免疫中发挥重要作用。

6 模式识别受体激动剂在抗肿瘤药物开发中的应用

模式识别受体的激动剂在抗肿瘤和抗感染药物开发中具有潜在应用价值, 其中一些已经获得了批准, 比如TLR7激动剂咪喹莫特(R837)已被批准用于治疗生殖器疣和基底样皮肤癌, TLR7/8激动剂雷西莫特(R848)也是一种很有潜力的抗病毒和抗肿瘤药物[76]。

在DNA识别受体方面, TLR9激动剂如HP007、Vidutolimod、Tilsotolimod、D-101等目前正在进行临床试验, 联合使用TLR9激动剂与免疫检查点抑制剂如程序性死亡受体1(programmed death receptor 1, PD-1)抗体已在肿瘤免疫治疗中显现出良好的疗效[77-78]。新近的研究发现, 使用靶向组蛋白的小分子化合物CBL0137可以刺激细胞产生Z-DNA, 从而激活ZBP1诱导的细胞程序性坏死、逆转肿瘤对免疫检查点抑制剂的治疗抵抗[79]。

随着cGAS-STING信号通路的功能越来越多地得到揭示, 设计和筛选其激动剂成为疫苗佐剂研究的热门方向[80]。北京大学蒋争凡实验室[81]在前人发现锰离子可以激活I型干扰素表达的基础上, 进一步发现病毒感染可以使线粒体、高尔基体等贮锰细胞器中的锰离子被释放。锰离子既可以结合cGAS并显著提升其感受dsDNA的灵敏性及合成cGAMP的能力, 也可作用于STING并增强其与多种CDNs的亲和力, 从而整体提升cGAS-STING通路对细胞质中的dsDNA的响应灵敏度。在I期临床试验中, 锰佐剂联合PD-1抗体也表现出了良好的肿瘤免疫治疗效果[82]。随着越来越多的STING激动剂被设计出来, 更多的候选药物也进入了临床试验阶段。

7 结语与展望

机体如何区分“自我”、“非我”和“异我”是免疫学的核心问题之一。从分子生物学的角度来看, 其决定性因素在于不同受体对外界微生物成分和自身损伤后释放物质的感知。核酸就是这样一类重要的物质, 它既能储存和传递遗传信息, 又能在异常出现时给机体预警。细胞对核酸这个“危险信号”的响应机制也多种多样, 从简单的直接响应, 到产生第二信使, 甚至组装炎症小体这种复杂的蛋白质机器。当我们需要强化这种识别时, 可以通过各种模拟物来激活相应的受体, 诱发强烈的免疫反应来抗病毒、抗肿瘤; 而当我们需要削弱这种识别, 比如开发mRNA疫苗时, 则可以通过对核酸的修饰来避免过度的炎症反应。期待未来更多的药物能够进入临床, 造福人类健康!

参考文献 (References)

[1] JANEWAY C A, Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology [J]. Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 1989, doi: 10.1101/sqb.1989.054.01.003.

[2] MATZINGER P. Tolerance, danger, and the extended family [J]. Annu Rev Immunol, 1994, 12: 991-1045.

[3] LEMAITRE B, NICOLAS E, MICHAUT L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette spätzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults [J]. Cell, 1996, 86(6): 973-83.

[4] NÜSSLEIN-VOLHARD C, WIESCHAUS E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila* [J]. Nature, 1980, 287(5785): 795-801.

[5] HASHIMOTO C, HUDSON K L, ANDERSON K V. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein [J]. Cell, 1988, 52(2): 269-79.

[6] MEDZHITOV R, PRESTON-HURLBURT P, JANEWAY C A JR. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity [J]. Nature, 1997, 388(6640): 394-7.

[7] POLTORAK A, HE X, SMIRNOVA I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene [J]. Science, 1998, 282(4): 2085-8.

[8] NÜSSLEIN-VOLHARD C. The Toll gene in *Drosophila* pattern formation [J]. Trends Genet, 2022, 38(3): 231-45.

[9] LEMAITRE B. The road to Toll [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(7): 521-7.

[10] KAWAI T, IKEGAWA M, ORI D, et al. Decoding Toll-like receptors: recent insights and perspectives in innate immunity [J]. Immunity, 2024, 57(4): 649-73.

[11] DAS A, MIDDLETON A J, PADALA P, et al. The structure and ubiquitin binding properties of TRAF RING heterodimers [J]. J Mol Biol, 2021, 433(8): 166844.

[12] HAMERMAN J A, BARTON G M. The path ahead for understanding Toll-like receptor-driven systemic autoimmunity [J]. Curr Opin Immunol, 2024, 91: 102482.

[13] GAO D, CIANCANELLI M J, ZHANG P, et al. TLR3 controls constitutive IFN-β antiviral immunity in human fibroblasts and cortical neurons [J]. J Clin Invest, 2021, 131(1): e134529.

[14] BORDEN E C. Interferons α and β in cancer: therapeutic opportunities from new insights [J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(3): 219-34.
[15] DUONG E, FESSENDEN T B, LUTZ E, et al. Type I interferon activates MHC class I-dressed CD11b^{+} conventional dendritic cells to promote protective anti-tumor CD8^{+} T cell immunity [J]. Immunity, 2022, 55(2): 308-23.
[16] KARIKÓ K, BUCKSTEIN M, NI H, et al. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA [J]. Immunity, 2005, 23(2): 165-75.
[17] RAPPUOLI R, ALTER G, PULENDRAN B. Transforming vaccinology [J]. Cell, 2024, 187(19): 5171-94.
[18] HEMMI H, TAKEUCHI O, KAWAI T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA [J]. Nature, 2000, 408(6813): 740-5.
[19] YONEYAMA M, KIKUCHI M, NATSUKAWA T, et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses [J]. Nat Immunol, 2004, 5(7): 730-7.
[20] GITLIN L, GILFILLAN S, CELLA M, et al. Essential role of MDA5 in type I IFN responses to polyriboinosinic:polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(22): 8459-64.
[21] YONEYAMA M, KATO H, FUJITA T. Physiological functions of RIG-I-like receptors [J]. Immunity, 2024, 57(4): 731-51.
[22] LEE KY, CRAIG C, PATEL S S. Unraveling blunt-end RNA binding and ATPase-driven translocation activities of the RIG-I family helicase LGP2 [J]. Nucleic Acids Res, 2024, 52(1): 355-69.
[23] REHWINKEL J, GACK M U. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing [J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20(9): 537-51.
[24] HORNUNG V J E, KIM S, BRZÓZKA K, et al. 5'-triphosphate RNA is the ligand for RIG-I [J]. Science, 2006, 314(5801): 994-7.
[25] RICE G I, DEL TORO DUANY Y, JENKINSON E M, et al. Gain-of-function mutations in IFIH1 cause a spectrum of human disease phenotypes associated with upregulated type I interferon signaling [J]. Nat Genet, 2014, 46(5): 503-9.
[26] LIN H, JIANG M, LIU L, et al. The long noncoding RNA Lnczc3h7a promotes a TRIM25-mediated RIG-I antiviral innate immune response [J]. Nat Immunol, 2019, 20(7): 812-23.
[27] SETH R B, SUN L, EA C K, et al. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-κB and IRF3 [J]. Cell, 2005, 122(5): 669-82.
[28] KAWAI T, TAKAHASHI K, SATO S, et al. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction [J]. Nat Immunol, 2005, 6(10): 981-8.
[29] XU L, WANG Y, HAN K, et al. VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-β signaling [J]. Mol Cell, 2005, 19(6): 727-40.
[30] MEYLAN E, CURRAN J, HOFMANN K, et al. Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus [J]. Nature, 2005, 437(7062): 1167-72.
[31] HOU F, SUN L, ZHENG H, et al. MAVS forms functional prion-like aggregates to activate and propagate antiviral innate immune response [J]. Cell, 2011, 146(3): 448-61.
[32] GOKHALE N S, SAM R K, SOMFLETH K, et al. Cellular RNA interacts with MAVS to promote antiviral signaling [J]. Science, 2024, 386(6728): eadl0429.
[33] CHU L, GONG Z, WANG W, et al. Origin of the OAS-RNase L innate immune pathway before the rise of jawed vertebrates via molecular tinkering [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2023, 120(31): e2304687120.
[34] RU S, TANG S, XU H, et al. Human DBR1 deficiency impairs stress granule-dependent PKR antiviral immunity [J]. J Exp Med, 2025, 222(1): e20240010.
[35] ISHIKAWA H, BARBER G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling [J]. Nature, 2008, 455(7213): 674-8.
[36] ZHONG B, YANG Y, LI S, et al. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation [J]. Immunity, 2008, 29(4): 538-50.
[37] SUN W, LI Y, CHEN L, et al. ERIS, an endoplasmic reticulum IFN stimulator, activates innate immune signaling through dimerization [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(21): 8653-8.
[38] KARAOLIS D K, MEANS T K, YANG D, et al. Bacterial c-di-GMP is an immunostimulatory molecule [J]. J Immunol, 2007, 178(4): 2171-81.
[39] MCWHIRTER S M, BARBALAT R, MONROE K M, et al. A host type I interferon response is induced by cytosolic sensing of the bacterial second messenger cyclic-di-GMP [J]. J Exp Med, 2009, 206(9): 1899-911.
[40] WOODWARD J J, IAVARONE A T, PORTNOY D A. c-di-AMP secreted by intracellular Listeria monocytogenes activates a host type I interferon response [J]. Science, 2010, 328(5986): 1703-5.
[41] SAUER J D, SOTELO-TROHA K, VON MOLTKE J, et al. The N-ethyl-N-nitrosourea -induced Goldenticket mouse mutant reveals an essential function of Sting in the *in vivo* interferon response to Listeria monocytogenes and cyclic dinucleotides [J]. Infect Immun, 2011, 79(2): 688-94.
[42] BURDETTE D L, MONROE K M, SOTELO-TROHA K, et al. STING is a direct innate immune sensor of cyclic di-GMP [J]. Nature, 2011, 478(7370): 515-8.
[43] WU J, SUN L, CHEN X, et al. Cyclic GMP-AMP is an endogenous second messenger in innate immune signaling by cytosolic DNA [J]. Science, 2013, 339(6121): 826-30.
[44] SUN L, WU J, DU F, et al. Cyclic GMP-AMP synthase is a cytosolic DNA sensor that activates the type I interferon pathway [J]. Science, 2013, 339(6121): 786-91.
[45] LIU H, ZHANG H, WU X, et al. Nuclear cGAS suppresses DNA repair and promotes tumorigenesis [J]. Nature, 2018, 563(7729): 131-6.
[46] CHO M, KUMAR R J, LIN C, et al. MRE11 liberates cGAS from nucleosome sequestration during tumorigenesis [J]. Nature, 2024, 625(7995): 585-92.
[47] TAKAOKA A, WANG Z, CHOI M K, et al. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response [J]. Nature, 2007, 448(7152): 501-5.
[48] ISHII K J, KAWAGOE T, KOYAMA S, et al. TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines [J]. Nature, 2008, 451(7179): 725-9.
[49] WANG G, VASQUEZ K M. Dynamic alternative DNA structures in biology and disease [J]. Nat Rev Genet, 2023, 24(4): 211-34.

[50] MISHRA S, DEY A A, KESAVARDHANA S. Z-nucleic acid sensing and activation of ZBP1 in cellular physiology and disease pathogenesis [J]. Immunol Rev, 2025, 329(1): e13437.
[51] HOBLOS H, CAWTHORNE W, SAMSON A L, et al. Protein shapeshifting in necroptotic cell death signaling [J]. Trends Biochem Sci, 2025, 50(2): 92-105.
[52] JIAO H, WACHSMUTH L, KUMARI S, et al. Z-nucleic-acid sensing triggers ZBP1-dependent necroptosis and inflammation [J]. Nature, 2020, 580(7803): 391-5.
[53] CHANG X, WANG B, ZHAO Y, et al. The role of IFI16 in regulating PANoptosis and implication in heart diseases [J]. Cell Death Discov, 2024, 10(1): 204.
[54] LIU D, LUM K K, TREEN N, et al. IFI16 phase separation via multi-phosphorylation drives innate immune signaling [J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(13): 6819-40.
[55] JIANG Z, WEI F, ZHANG Y, et al. IFI16 directly senses viral RNA and enhances RIG-I transcription and activation to restrict influenza virus infection [J]. Nat Microbiol, 2021, 6(7): 932-45.
[56] JUSTICE J L, CRISTEA I M. Nuclear antiviral innate responses at the intersection of DNA sensing and DNA repair [J]. Trends Microbiol, 2022, 30(11): 1056-71.
[57] XIAO X, LIANG J, HUANG C, et al. DNA-PK inhibition synergizes with oncolytic virus M1 by inhibiting antiviral response and potentiating DNA damage [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 4342.
[58] POYET J L, SRINIVASULA S M, TNANI M, et al. Identification of Ipaf, a human caspase-1-activating protein related to Apaf-1 [J]. J Biol Chem, 2001, 276(30): 28309-13.
[59] MARTINON F, BURNS K, TSCHOPP J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta [J]. Mol Cell, 2002, 10(2): 417-26.
[60] SUNDARAM B, TWEEDELL R E, PRASANTH KUMAR S, et al. The NLR family of innate immune and cell death sensors [J]. Immunity, 2024, 57(4): 674-99.
[61] BAUERNFRIED S, SCHERR M J, PICHLMAIR A, et al. Human NLRP1 is a sensor for double-stranded RNA [J]. Science, 2021, 371(6528): eabd0811.
[62] SHEN C, LI R, NEGRO R, et al. Phase separation drives RNA virus-induced activation of the NLRP6 inflammasome [J]. Cell, 2021, 184(23): 5759-74,e20.
[63] SHIMADA K, CROTHER T R, KARLIN J, et al. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis [J]. Immunity, 2012, 36(3): 401-14.
[64] RATHINAM V A, JIANG Z, WAGGONER S N, et al. The AIM2 inflammasome is essential for host defense against cytosolic bacteria and DNA viruses [J]. Nat Immunol, 2010, 11(5): 395-402.
[65] MARTINON F, PÉTRILLI V, MAYOR A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome [J]. Nature, 2006, 440(7081): 237-41.
[66] MAJOR T J, TAKEI R, MATSUO H, et al. A genome-wide association analysis reveals new pathogenic pathways in gout [J]. Nat Genet, 2024, 56(11): 2392-406.
[67] CASTRO L K, DAUGHERTY M D. Tripping the wire: sensing of viral protease activity by CARD8 and NLRP1 inflammasomes [J]. Curr Opin Immunol, 2023, 83: 102354.
[68] CORBET G A, BURKE J M, PARKER R. Nucleic acid-protein condensates in innate immune signaling [J]. EMBO J, 2023, 42(7): e111870.
[69] BARNETT K C, LI S, LIANG K, et al. A 360° view of the inflammasome: mechanisms of activation, cell death, and diseases [J]. Cell, 2023, 186(11): 2288-312.
[70] PANDEY A, LI Z, GAUTAM M, et al. Molecular mechanisms of emerging inflammasome complexes and their activation and signaling in inflammation and pyroptosis [J]. Immunol Rev, 2025, 329(1): e13406.
[71] FLORES-ROMERO H, DADSENA S, GARCÍA-SÁEZ A J. Mitochondrial pores at the crossroad between cell death and inflammatory signaling [J]. Mol Cell, 2023, 83(6): 843-56.
[72] RONGVAUX A, JACKSON R, HARMAN C C D, et al. Apoptotic caspases prevent the induction of type I interferons by mitochondrial DNA [J]. Cell, 2014, 159(7): 1563-77.
[73] WEST A P, KHOURY-HANOLD W, STARON M, et al. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response [J]. Nature, 2015, 520(7548): 553-7.
[74] DHIR A, DHIR S, BOROWSKI L S, et al. Mitochondrial double-stranded RNA triggers antiviral signalling in humans [J]. Nature, 2018, 560(7717): 238-42.
[75] TIGANO M, VARGAS D C, TREMBLAY-BELZILE S, et al. Nuclear sensing of breaks in mitochondrial DNA enhances immune surveillance [J]. Nature, 2021, 591(7850): 477-81.
[76] ANFRAY C, MAININI F, DIGIFICO E, et al. Intratumoral combination therapy with poly(I:C) and resiquimod synergistically triggers tumor-associated macrophages for effective systemic antitumoral immunity [J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(9): e002408.
[77] RIBAS A, MEDINA T, KIRKWOOD J M, et al. Overcoming PD-1 blockade resistance with CpG-A Toll-like receptor 9 agonist Vidutolimod in patients with metastatic melanoma [J]. Cancer Discov, 2021, 11(12): 2998-3007.
[78] HAYMAKER C, JOHNSON D H, MURTHY R, et al. Tilsotolimod exploits the TLR9 pathway to promote antigen presentation and type 1 IFN signaling in solid tumors: a multicenter international phase I/II trial (ILLUMINATE-101) [J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(23): 5079-87.
[79] ZHANG T, YIN C, FEDOROV A, et al. ADAR1 masks the cancer immunotherapeutic promise of ZBP1-driven necroptosis [J]. Nature, 2022, 606(7914): 594-602.
[80] RAMANJULU J M, PESIRIDIS G S, YANG J, et al. Design of amidobenzimidazole STING receptor agonists with systemic activity [J]. Nature, 2018, 564(7736): 439-43.
[81] WANG C, GUAN Y, LÜ M, et al. Manganese increases the sensitivity of the cGAS-STING pathway for double-stranded DNA and is required for the host defense against DNA viruses [J]. Immunity, 2018, 48(4): 675-87,e7.
[82] LÜ M, CHEN M, ZHANG R, et al. Manganese is critical for antitumor immune responses via cGAS-STING and improves the efficacy of clinical immunotherapy [J]. Cell Res, 2020, 30(11): 966-79.