

DOI: 10.13376/j.cblls/2020043

文章编号: 1004-0374(2020)04-0335-08

## 驯化免疫记忆样功能特征及其调控机制概述

党一璞, 肖佳妮, 王 颖\*

(上海交通大学医学院, 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

**摘要:** 固有免疫和适应性免疫是高等脊椎动物中相对独立又互相协同的两类免疫应答。经典的免疫学理论认为免疫记忆是适应性免疫区别于固有免疫的重要特征之一。然而, 近年来发现的“驯化免疫”(trained immunity)现象显示, 固有免疫细胞在接受病原体、细胞因子或其他代谢产物刺激后, 可以通过表观遗传和代谢重编程等方式改变细胞表型, 使其在再次活化时产生更强的非特异性免疫应答。驯化免疫现象的存在一方面使机体受到再次感染时, 固有免疫系统可以同样发挥重要的保护作用; 另一方面, 过度激活的驯化免疫应答则可能导致炎症性疾病的发生发展。该文主要介绍了以卡介苗(Bacillus Calmette-Guérin, BCG)和 $\beta$ -葡聚糖为代表的驯化免疫应答特征及调控机制, 并综述了驯化免疫这一新概念在疾病治疗和预防中的最新研究。

**关键词:** 驯化免疫; 卡介苗;  $\beta$ -葡聚糖; 调控机制; 炎症性疾病

**中图分类号:** R181.32; R37; R392.12 **文献标志码:** A

## Characterization and regulatory function of trained immunity with memory-like phenotypes

DANG Yi-Pu, XIAO Jia-Ni, WANG Ying\*

(Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract:** Innate and adaptive immunity function independently but synergistically in higher vertebrates. Memory immune response is one of the key features of adaptive immunity that differs from innate immunity. However, a new concept of "trained immunity" has been recently proposed. When innate immune cells are activated by certain pathogens, cytokines or metabolites, they exhibit stronger immune responses during reinfection through epigenetic and metabolic reprogramming. Trained immunity is demonstrated to play protective roles against reinfection in the host. However, overactivation in trained immunity might also contribute to the development of some inflammatory diseases. Herein, we intend to introduce the characteristics and regulatory mechanisms of classical BCG (Bacillus Calmette-Guérin) and  $\beta$ -glucan-induced trained immunity. The latest research progresses in trained immunity in the pathogenesis, multiple diseases as well as its potential in the prevention are reviewed.

**Key words:** trained immunity; Bacillus Calmette-Guérin;  $\beta$ -glucan; regulatory mechanism; inflammatory diseases

固有免疫和适应性免疫是高等脊椎动物中相对独立又互相协同的两类免疫功能。固有免疫是抵抗外界病原的第一道防线, 由组织屏障、固有免疫细胞 [如单核-巨噬细胞、自然杀伤细胞 (nature killer)

收稿日期: 2020-01-08; 修回日期: 2020-02-11

基金项目: 国家科技重大专项“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”十三五专项(2018ZX10731301001004, 2018ZX10302301002002); 国家自然科学基金项目(81873868, 81501361); 上海市科委“优秀学术带头人”计划项目(18XD1403300); 上海市卫生和计划生育委员会临床研究面上项目(201840280); 上海交通大学“新进教师启动计划”(17X100040012)

\*通信作者: E-mail: ywang@sibs.ac.cn

cell, NK) 等] 及免疫分子等介导, 在感染早期快速、非特异性消灭病原体, 并启动适应性免疫应答。适应性免疫应答则是由 T 细胞和 B 细胞介导, 通过抗原识别受体 TCR (T cell receptor) 和 BCR (B cell receptor) 特异性识别并结合不同的抗原 (肽), 增殖分化为不同功能的细胞亚群, 特异性清除病原体, 并通过免疫记忆功能维持长期的保护作用, 当机体再次受到感染时可更快地清除病原体。比较上述两类免疫应答, 免疫记忆是区别固有免疫和适应性免疫的重要特征之一。然而, 近年来研究发现, 固有免疫细胞, 如单核细胞<sup>[1]</sup>和自然杀伤细胞<sup>[2]</sup>在对部分病原体产生初次免疫应答后, 可发生表观遗传和代谢重编程, 引起细胞功能改变, 当再次接触不同病原体时, 可以产生更强的非特异性免疫反应, 这种现象被称为驯化免疫 (trained immunity)<sup>[3-4]</sup>。

驯化免疫的记忆样功能特征最早在缺乏适应性免疫的植物中被发现, 称之为系统获得性抗性 (systemic acquired resistance, SAR)<sup>[5]</sup>。当病原体刺激过的植物再次遇到同种或异种病原体时, 与未暴露过的植物相比可以更强更快地产生保护作用, 这种保护作用可以持续几天, 甚至整个生命周期, 并且可以被遗传<sup>[6]</sup>。在缺乏适应性免疫功能的无脊椎动物, 如欧洲雄蜂<sup>[7]</sup>和裂头绦虫<sup>[8]</sup>中, 也同样发现了针对不同病原体再感染的保护作用。在小鼠中,  $\beta$ -葡聚糖 (大部分真菌细胞壁成分) 免疫后的小鼠对金黄色葡萄球菌的再感染可发挥更好的保护作用<sup>[9]</sup>; 胞壁酰二肽 (BCG 细胞壁的最小免疫单元) 可以诱导小鼠对弓形虫再感染的抵抗力<sup>[10]</sup>; BCG 接种也可以诱导针对曼氏血吸虫和白色念珠菌再感染的保护作用<sup>[11-12]</sup>。人类流行病学调查显示, 卡介苗、麻疹疫苗、牛痘疫苗不仅可以预防相应的疾病, 对其他再感染也有非特异性的预防作用<sup>[13]</sup>。

卡介苗和白色念珠菌作为较早被发现的二种可以诱导驯化免疫的经典诱导因子, 二者的应答特征和调控机制较为相似且互为补充, 目前已经被广泛解析, 并且在疾病治疗和预防中也有所应用。因此, 本综述拟围绕卡介苗和  $\beta$ -葡聚糖 (白色念珠菌细胞壁主要成分) 在单核-巨噬细胞中诱导驯化免疫的发现过程、应答特征及调控机制进行详细介绍, 为今后新型驯化免疫诱导因子的发现夯实基础。同时, 本文也综述了驯化免疫这一新概念在疾病中的最新研究和涉及驯化免疫的其他诱导因子 (如 ox-LDL), 为相关疾病研究提供新思路和新靶点。

## 1 驯化免疫的应答特征

驯化免疫是由固有免疫细胞 (包括单核-巨噬细胞和 NK 细胞) 所介导的, 独立于 T 细胞和 B 细胞的记忆样功能。重症联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficiency, SCID) 小鼠接种 BCG 后, 当小鼠再次感染白色念珠菌后, 其单核细胞反应性显著增强<sup>[1]</sup>。在卡介苗接种过的健康志愿者外周也已鉴定出具有驯化免疫特征的单核细胞, 当这群细胞再次受到刺激时, 可以产生更多的 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ <sup>[11]</sup>。白色念珠菌体外驯化的人单核细胞则产生更多的 TNF- $\alpha$  和 IL6<sup>[14]</sup>。由于单核细胞在外周循环中的存活期很短, 一般只有几天, 而驯化免疫的检测时间点至少在接种疫苗 3 个月后, 因此可以推断驯化免疫可能发生在造血干祖细胞 (hematopoietic stem and progenitor cells, HSPCs) 水平。Mitroulis 等<sup>[15]</sup>利用小鼠模型证明,  $\beta$ -葡聚糖可以促进 HSPCs 的扩增和骨髓细胞生成, 从而可以解除化疗药物 (如 5-FU 和环磷酰胺) 诱导的骨髓抑制; Kaufmann 等<sup>[16]</sup>也发现 BCG 可以通过表观修饰对小鼠骨髓中的造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 进行驯化, 并且这种“记忆”可以维持至巨噬细胞阶段, 预防有毒力结核分枝杆菌的再次感染。

已有的研究结果显示, 驯化免疫的启动机制属于经典固有免疫应答的范畴, 是由病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 或损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 与固有免疫细胞表面的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 结合后, 激活固有免疫细胞胞内的活化信号通路, 分泌促炎症细胞因子及趋化因子。不同于承担适应性免疫记忆功能的记忆性 T 细胞和 B 细胞, 与初次应答的未致敏细胞表面的 TCR/BCR 受体相似, 固有免疫细胞的驯化免疫就目前的研究结果来看也是由固有免疫细胞表面的 PRR 所介导的, 只是由于初次和再次激活过程中的 PAMP 不同, 所以相对应的受体分子的种类也应该不同。目前已知诱导驯化免疫的 PAMPs 主要为病原微生物表面存在的结构恒定且进化保守的分子结构, 包括  $\beta$ -葡聚糖、分枝杆菌来源的胞壁酰二肽 (muramyl dipeptide, MDP)、鞭毛蛋白等, PAMPs 的种类和剂量决定其是否可以诱导产生驯化免疫。

驯化免疫产生的分子机制目前已经部分解析。分枝杆菌 MDP 被 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 或是胞内核苷酸结合寡聚化结构域 2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2, NOD2) 受体识

别后, 通过IKK-NF- $\kappa$ B或TBK1-IRF3或RIP2-TBK1-IRF5通路活化, 促进IFN- $\gamma$ 的产生和巨噬细胞的活化<sup>[17]</sup>。其中, BCG来源的MDP诱导产生驯化免疫的功能特征主要依赖NOD2通路, 抑制TLR4/TLR2并不影响TNF- $\alpha$ 的表达水平, 而在NOD2缺失的患者单核细胞中或用Rip2/p38抑制剂处理的人单核细胞中, BCG诱导的驯化免疫应答水平显著降低<sup>[1]</sup>。 $\beta$ -葡聚糖是大部分真菌细胞壁的主要成分, 可以被巨噬细胞表面的Dectin-1受体识别, 通过Dectin1-Syk-PKC $\delta$ 或Dectin1-Raf1通路激活转录因子NF- $\kappa$ B<sup>[18]</sup>。 $\beta$ -葡聚糖所诱导的驯化免疫则主要依赖Raf1信号通路, Syk抑制剂不影响TNF- $\alpha$ 的产生, 但Raf1抑制剂可以显著降低TNF- $\alpha$ 的水平<sup>[14]</sup>。

## 2 驯化免疫的调控机制

目前的研究结果显示, 固有免疫细胞中驯化免疫功能的形成与表观遗传调控和代谢重编程密切相关, 可发生于造血干祖细胞水平。

### 2.1 表观遗传调控机制

表观遗传调控主要通过改变染色质中DNA和组蛋白等分子的化学修饰状态影响基因表达, 其不涉及基因序列的改变, 是一种动态可逆的修饰过程, 并且可以在隔代遗传中保持稳定。目前已知的表观遗传修饰主要包括DNA甲基化修饰、组蛋白修饰和非编码RNA调控等。通过组蛋白修饰, 可以将基因组结构调节成易于DNA转录的常染色体活性区域, 或者不易于转录的失活异染色质区域, 进而调控基因转录。组蛋白H3上的赖氨酸K4甲基化(H3K4me)、K14的乙酰化(H3K14ac)可以开放染色质结构, 使得染色质易于与转录因子接触, 进而显著提高基因的转录水平; 而组蛋白H3K9或K27的三甲基化(H3K9me3和H3K27me3)则是不利于基因转录的抑制性标记<sup>[19]</sup>。

在驯化免疫中, 驯化过的细胞发生表观遗传修饰的改变, 从而可以部分解释固有免疫的“记忆”特征。未接受刺激前, 单核-巨噬细胞中编码炎症分子的基因位点处于抑制状态; 接受刺激后这些位点发生表观遗传修饰, 包括相关的组蛋白产生H3K4me1和H3K27Ac的特征标记。应答完成后, 大多数组蛋白标记均丢失, 炎症分子的基因回归低转录状态, 但是H3K4me1作为“潜在增强子”仍然被保存, 可使染色质打开更容易。当再次受到感染刺激后, 这些细胞在炎症因子基因的调控区即可迅速发生H3K4me3和H3K27Ac修饰, 从而迅速增强炎症性分

子的表达<sup>[20]</sup>。在BCG刺激后, 单核细胞中细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-6及TLR4基因启动子区域的H3K4me3修饰显著增强, 当用MTA抑制组蛋白甲基转移酶后, 会显著降低BCG感染所诱导的巨噬细胞的驯化功能<sup>[1]</sup>。而在白色念珠菌或 $\beta$ -葡聚糖初次刺激后, 巨噬细胞中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-18、Dectin-1受体、TLR4以及衔接蛋白MyD88等关键基因启动子区域H3K4me3的修饰水平也明显上调<sup>[14,21]</sup>。

此外, 微小RNA(microRNA, miRNA)和长链非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs)也可能参与驯化免疫功能的形成。miRNA由于其半衰期较长, 初次刺激结束后仍可持续存在, 可以增强细胞对再次暴露的抵抗力<sup>[22-23]</sup>。如miRNA-155在炎症反应中的上调与髓系细胞的过度活化有关<sup>[24]</sup>, 可能使其处于一种高敏感的状态, 再次刺激时可产生更强的免疫反应。Fanucchi等<sup>[25]</sup>新鉴定的免疫基因启动lncRNA(immune-gene priming lncRNA, IPL) UMLILO(upstream master lncRNA of the inflammatory chemokine locus), 在 $\beta$ -葡聚糖诱导的驯化免疫中, 可引导WDR5/MLL1组蛋白甲基转移酶复合物的形成, 在IL-6、IL-8、CXCL1等的启动子区域标记H3K4me3, 使得再次刺激时驯化免疫基因的转录更为容易, 从而产生更强大的促炎反应。

### 2.2 代谢重编程

驯化免疫功能的形成也与细胞的代谢重编程密切相关, 主要表现为驯化后的免疫细胞的代谢方式由氧化磷酸化转变为有氧糖酵解<sup>[26]</sup>。正常细胞摄入葡萄糖后, 通过一系列酶反应产生丙酮酸, 在有氧条件下, 丙酮酸进入线粒体产生乙酰辅酶A, 进入三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA), 进一步氧化产生能量分子ATP; 在缺氧条件下, 丙酮酸则通过产生乳酸供能。丙酮酸还可以直接转变为乙酰辅酶A, 通过甲羟戊酸途径合成胆固醇。肿瘤细胞则在有氧条件下, 通过糖酵解生成乳酸, 而不是在线粒体内氧化磷酸化, 这个现象称为有氧糖酵解(aerobic glycolysis)或瓦博格效应(Warburg effect)<sup>[27]</sup>。

在具有驯化免疫功能的固有免疫细胞中也发现了类似肿瘤细胞的有氧糖酵解现象。白色念珠菌/ $\beta$ -葡聚糖刺激后, 固有免疫细胞代谢显示Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ 信号通路的激活和有氧糖酵解的长期增加, 表现为基础呼吸率降低、葡萄糖摄入增加、乳酸产生增加<sup>[28]</sup>。BCG驯化后的巨噬细胞中Akt/mTOR通路也发挥重要作用, 表现为Akt、mTOR及其作用靶点S6K、4EPB1等的磷酸化水平增加, 细胞因



子的产生增加;当用 Wortmannin、雷帕霉素或 2-DG 等抑制 Akt/mTOR 信号通路或糖酵解时, BCG 驯化后的巨噬细胞在受到再次刺激后细胞因子水平不再增加。BCG 诱导的驯化免疫中不仅显示出葡萄糖摄入和乳酸产生的增加,同时氧气摄入也增加,说明不同的驯化刺激物可以引起不同的代谢过程<sup>[29]</sup>。此外,驯化免疫中甲羟戊酸通路代谢也增加,并通过 IGF1-R/Akt/mTOR 通路进一步增强糖酵解过程<sup>[30]</sup>。驯化免疫还会导致 TCA 循环被破坏,利用柠檬酸盐和乙酰辅酶 A 合成胆固醇和磷脂的能力增加<sup>[31]</sup>。

固有免疫细胞驯化功能的表观遗传调控和代谢重编程互为依赖。在 BCG 刺激后的巨噬细胞中, mTOR 和糖酵解的关键酶,如己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2)、磷酸果糖激酶 (platelet-type phosphofructokinase, PFKP) 的表达上调,这些分子的基因启动子位点显示增强的 H3K4me3 以及降低的 H3K9me3。而谷氨酰胺代谢的抑制剂 BPTES 或者 mTOR/糖酵解的抑制剂雷帕霉素可以把 TNF- $\alpha$  和 IL-6 启动子位点增加的 H3K4me3 标记逆转到基线状态,表明了代谢与组蛋白修饰之间的密切关联<sup>[29]</sup>。同时,细胞代谢方式的改变也可以影响表观调控修饰酶的活性,进而影响表观修饰过程。在具有驯化免疫的巨噬细胞中,正常的 TCA 循环被破坏,利用谷氨酰胺代谢产生的  $\alpha$ -酮戊二酸补充循环内的代谢物,导致下游琥珀酸盐和延胡索酸的累积,这些代谢产物可以通过表观调控影响细胞的表型和功能。比如,  $\alpha$ -酮戊二酸是含 JmjC 结构域的组蛋白去甲基化酶 (histone demethylases, KDMs) 在脱甲基化中的辅因子<sup>[32]</sup>,延胡索酸可以抑制 KDM5 家族的 H3K4 组蛋白去甲基化酶<sup>[32-33]</sup>,导致激活标记 H3K4me3 的长期稳定,从而更有利于炎症细胞因子的转录<sup>[31]</sup>。

### 3 固有免疫细胞驯化功能与疾病

固有免疫和适应性免疫功能异常与疾病发生发展的关系非常密切,其中适应性免疫应答记忆功能在超敏反应性疾病、自身免疫性疾病、移植及肿瘤中的异常已经多有报道。驯化免疫诱导的增强的非特异性免疫应答更多的是炎症反应,作为疾病预防和治疗的新策略,可保护机体免受其他病原体的感染、激活肿瘤免疫缺陷状态。然而,过度激活的驯化免疫则可能加重慢性炎症性疾病的发生发展。

#### 3.1 感染

驯化免疫功能首先是在保护宿主抵抗再次感染中发现,感染或者疫苗接种后机体内的固有免疫细

胞被驯化,可以在再次感染中发挥有效的保护作用。在小鼠中,BCG 疫苗不仅可以预防结核杆菌的再感染,还可抵抗鼠疫杆菌、肺炎克雷伯菌、沙门菌、金黄色葡萄球菌、曼氏血吸虫、流感病毒等的再感染<sup>[13,34]</sup>。人群随机对照试验结果显示<sup>[35]</sup>,BCG 接种可以诱导人单核细胞的全基因组表观重编程,一些重要的信号通路以及炎症因子相关的基因组蛋白 H3K27Ac 标记增加,可在体外实验中预防减毒黄热病毒的再次感染。解析疫苗或感染诱导的驯化免疫在抵抗不同病原再感染中的分子机制对于疾病的防控具有重要意义。

此外,已有研究结果显示,病原体的再暴露可以恢复麻疹病毒感染后的免疫缺陷状态,重建适应性免疫记忆和抗体谱<sup>[36]</sup>。脓毒血症患者晚期出现免疫耐受和免疫抑制状态,极易受到病原菌感染而发生致死性并发症,表现为外周单核细胞产生促炎细胞因子的能力下降<sup>[37]</sup>。因此,是否可以通过驯化免疫的再激活逆转免疫抑制状态,提高患者的抗感染能力,将为脓毒血症及其他免疫耐受状态的临床治疗提供新思路。

#### 3.2 肿瘤

肿瘤微环境中的固有免疫细胞,如肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 和髓系来源的抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC) 作为肿瘤局部关键的免疫负向调控细胞,参与肿瘤局部免疫抑制微环境的形成、肿瘤逃逸以及细胞毒 T 细胞失能等,促进肿瘤进展<sup>[38-39]</sup>。因此,靶向驯化免疫调控机制,使其成为有效的抗肿瘤细胞,进而激活 T 细胞,则可以成为抗肿瘤免疫应答新手段。

上述所提及的 BCG 和  $\beta$ -葡聚糖作为相应的调节剂已经在临床得到应用。FDA 已经批准 BCG 用于治疗高危非肌层浸润性膀胱癌<sup>[40]</sup>; Buffen 等<sup>[41]</sup>的研究结果显示,驯化免疫是 BCG 在膀胱癌中发挥治疗作用的主要机制,并且自噬对驯化免疫的诱导非常重要,自噬基因 ATG2B 的单核苷酸多态性与 BCG 膀胱内灌洗后的膀胱癌患者疾病进展和复发有关。在其他癌症,如淋巴瘤<sup>[42]</sup>及黑色素瘤<sup>[43]</sup>中也报道了 BCG 的肿瘤治疗作用。在黑色素瘤小鼠模型中,  $\beta$ -葡聚糖可以逆转肿瘤微环境,激活 M1 型巨噬细胞,增加促炎症细胞因子和趋化因子的产生<sup>[44]</sup>。目前,  $\beta$ -葡聚糖联合治疗已经被用于肿瘤临床试验,如非小细胞肺癌、乳腺癌、结直肠癌等<sup>[45]</sup>。

肿瘤微环境中驯化免疫功能的机制研究不仅可以解析肿瘤免疫逃逸,同时对于调控肿瘤免疫微环

境提供了新的靶点, 如何实现驯化免疫对肿瘤免疫微环境的逆转值得进一步尝试。

### 3.3 动脉粥样硬化

单核-巨噬细胞已经被证明在动脉粥样硬化斑块的形成中非常重要<sup>[46]</sup>。循环中的单核细胞可以在受损的血管壁内层聚集, 并进一步分化为巨噬细胞, 在氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)作用下转变为脂肪细胞, 形成斑块的坏死核心。

oxLDL 是一种 DAMP, 可以与髓系细胞表面的 CD36 受体结合, 激活 NLRP3 炎症小体, 导致促炎因子的释放<sup>[47]</sup>。研究表明, ox-LDL 在体外驯化人单核细胞后, 再刺激时可诱导更高水平的促动脉粥样硬化的细胞因子。ox-LDL 驯化后的单核细胞还可以上调清道夫受体 CD36 和清道夫受体 A (SR-A) 的表达, 增强脂肪细胞的形成, 产生更多的金属基质蛋白酶, 增加斑块的不稳定性, 加速动脉粥样硬化的发展<sup>[48-49]</sup>。此外, 动脉粥样硬化中单核-巨噬细胞也显示类似的依赖 HIF-1 $\alpha$  的有氧糖酵解代谢特征<sup>[50]</sup>。

未来可通过靶向驯化免疫中的关键分子, 调节粥样斑块的形成和稳定, 进而阻止动脉粥样硬化的进展。如 Duivenvoorden 等<sup>[51]</sup>靶向运送他汀类药物至动脉粥样硬化斑块内的髓系细胞内, 发现可以通过体外抑制甲羟戊酸通路起到抗炎作用, 在体内实验中也显示出抑制斑块扩大的作用。除此之外, 抑制表观修饰酶以及阻断驯化免疫相关的细胞因子 IL-1 $\beta$  的研究也取得一定疗效<sup>[52-53]</sup>。

### 3.4 阿尔茨海默病

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种进行性神经退行性病变, 以记忆减退和认知功能障碍为主要临床特征, 主要的组织病理学改变包括神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs) 和  $\beta$  淀粉样斑块 (amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ )<sup>[54]</sup>。

已有学者提出小神经胶质细胞 (大脑定居巨噬细胞) 也表现出驯化免疫特征, 在受到炎症介质、错误折叠蛋白或神经元碎片刺激后, 再次受刺激时表现出增强的炎症反应<sup>[55]</sup>。最近, Neher 实验室首次证明了小胶质细胞可以被驯化并产生长期记忆 (至少 6 个月)<sup>[56]</sup>。他们发现 LPS 腹腔注射小鼠后, 用 LPS 再次刺激可以增加脑组织中促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的水平, 即驯化免疫表型; 但随着持续的 LPS 注射, 脑组织中抗炎细胞因子 IL-10 水平增加, 产生免疫耐受。这些驯化免疫和耐受的产

都依赖于神经小胶质细胞的染色质重塑和炎症信号通路的激活。在 AD 病理小鼠模型中诱导驯化免疫可以加重小鼠  $\beta$  淀粉样斑块形成, 但是诱导耐受可以减轻小鼠  $\beta$  淀粉样斑块的形成。

关于神经小胶质细胞驯化免疫形成的相关机制仍未完全解析。有研究显示, mTOR 信号通路抑制剂雷帕霉素可以改善 AD 样病理学症状和认知障碍<sup>[57]</sup>; 同时, 在 AD 小鼠模型中缺失组蛋白去乙酰酶 (histone deacetylase, HDAC) 1 和 2 的小胶质细胞可以减少淀粉样斑块的水平并改善记忆<sup>[58]</sup>, 这些研究成果为今后神经系统疾病的免疫治疗提供了新思路。

### 3.5 类风湿关节炎

目前已经在多种自身免疫性疾病中发现了驯化免疫的参与<sup>[59]</sup>。以类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 为例, 其主要病理过程为巨噬细胞产生大量炎症细胞因子调节破骨细胞活性, 导致组织损伤性炎症病变<sup>[60]</sup>。

RA 患者中分离的单核细胞表现为驯化免疫表型: 促炎因子的基因表达上调, 驯化免疫相关通路, 如 PI3K-mTOR 和 MAPK 通路都被激活<sup>[61-62]</sup>; 同时, RA 患者滑液组织中组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 和 HDAC 的平衡向组蛋白高度乙酰化转化<sup>[63]</sup>; RA 患者的单核细胞表现出增加的糖酵解 (限速酶 PKM2、PFKFB3 和 HK2 以及葡萄糖转运体 GLUT1 和 GLUT3 都上调)<sup>[64]</sup> 以及相关代谢产物 (谷氨酸盐、琥珀酸盐、延胡索酸盐) 的积累<sup>[65-66]</sup>。

靶向巨噬细胞产生的细胞因子 (如 TNF- $\alpha$ ) 已经被证明是治疗 RA 患者的非常有效的治疗方案<sup>[67]</sup>。TNF- $\alpha$  抑制剂依那西普和阿达木单抗则可下调单核细胞 CCL2 启动子区域的 H3K27、H3K36 和 H3K79 的三甲基化水平以及 H3 和 H4 的乙酰化<sup>[68]</sup>, 而抗 IL-1 $\beta$  和 GM-CSF 抗体进入临床试验阶段表明了调节驯化免疫功能在 RA 治疗中的新机制<sup>[69-70]</sup>。

## 4 小结与展望

驯化免疫记忆样功能是固有免疫应答的重要新特征, 丰富了固有免疫理论体系, 对于了解疾病的发生发展机制和疾病预防也提供了新的研究思路。除了本文提到的单核-巨噬细胞外, 巨细胞病毒 (Cytomegalovirus) 诱导的 NK 细胞的驯化免疫还依赖于适应性免疫应答<sup>[71]</sup>。因此, 深入解析不同免疫和感染背景下个体的固有免疫细胞的驯化免疫特征及其调控机制也有望成为疫苗研发和疾病干预

的新策略。如在针对已接种 BCG 人群的结核亚单位疫苗研发中<sup>[72]</sup>, 结核新抗原是否在诱导抗原特异性的细胞免疫的同时, 增强驯化免疫功能, 从而发挥更好的抗结核保护作用也是值得探索的思路(课题组未发表的结果); 在 BCG 灌注治疗膀胱癌的临床应用中, 可能通过增强患者局部和全身的驯化免疫发挥更加有效的抗肿瘤效果(课题组未发表的结果); 应用  $\beta$ -葡聚糖可诱导驯化免疫的特点, 设计新一代以驯化免疫为特征的新型低毒高效的抗肿瘤制剂, 有可能发挥更好的临床疗效。事实上, 已有研究发现,  $\beta$ -葡聚糖可以逆转 LPS 诱导的固有免疫细胞耐受样的免疫特征<sup>[73]</sup>, 为其在临床相关疾病的应用提供了直接证据, 也为今后个体化免疫治疗提供了新的可能性。在明确各类疾病中驯化免疫异常的调控分子后, 可为新药研发提供新的靶点, 通过设计针对性抗体或 RNA 干扰等手段, 形成干预驯化免疫的新手段。

#### [参 考 文 献]

- [1] Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, et al. Bacille Calmette-Guerin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 17537-42
- [2] Sun JC, Beilke JN, Lanier LL. Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature*, 2009, 457: 557-61
- [3] Netea MG, Quintin J, van der Meer JW. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host Microbe*, 2011, 9: 355-61
- [4] Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, et al. BCG-induced trained immunity in NK cells: role for non-specific protection to infection. *Clin Immunol*, 2014, 155: 213-9
- [5] Kachroo A, Robin GP. Systemic signaling during plant defense. *Curr Opin Plant Biol*, 2013, 16: 527-33
- [6] Luna E, Bruce TJ, Roberts MR, et al. Next-generation systemic acquired resistance. *Plant Physiol*, 2012, 158: 844-53
- [7] Sadd BM, Schmid-Hempel P. Insect immunity shows specificity in protection upon secondary pathogen exposure. *Curr Biol*, 2006, 16: 1206-10
- [8] Kurtz J, Franz K. Innate defence: evidence for memory in invertebrate immunity. *Nature*, 2003, 425: 37-8
- [9] Di Luzio NR, Williams DL. Protective effect of glucan against systemic *Staphylococcus aureus* septicemia in normal and leukemic mice. *Infect Immun*, 1978, 20: 804-10
- [10] Krahenbuhl JL, Sharma SD, Ferraresi RW, et al. Effects of muramyl dipeptide treatment on resistance to infection with *Toxoplasma gondii* in mice. *Infect Immun*, 1981, 31: 716-22
- [11] Tribouley J, Tribouley-Duret J, Appriou M. Effect of Bacillus Calmette Guerin (BCG) on the receptivity of nude mice to *Schistosoma mansoni*. *C R Seances Soc Biol Fil*, 1978, 172: 902-4
- [12] van't Wout JW, Poell R, van Furth R. The role of BCG/PPD-activated macrophages in resistance against systemic candidiasis in mice. *Scand J Immunol*, 1992, 36: 713-9
- [13] Benn CS, Netea MG, Selin LK, et al. A small jab – a big effect: nonspecific immunomodulation by vaccines. *Trends Immunol*, 2013, 34: 431-9
- [14] Quintin J, Saeed S, Martens JH, et al. *Candida albicans* infection affords protection against reinfection via functional reprogramming of monocytes. *Cell Host Microbe*, 2012, 12: 223-32
- [15] Mitroulis I, Ruppova K, Wang B, et al. Modulation of myelopoiesis progenitors is an integral component of trained immunity. *Cell*, 2018, 172: 147-61.e12
- [16] Kaufmann E, Sanz J, Dunn JL, et al. BCG educates hematopoietic stem cells to generate protective innate immunity against tuberculosis. *Cell*, 2018, 172: 176-90.e19
- [17] Donovan ML, Schultz TE, Duke TJ, et al. Type I interferons in the pathogenesis of tuberculosis: molecular drivers and immunological consequences. *Front Immunol*, 2017, 8: 1633
- [18] Hardison SE, Brown GD. C-type lectin receptors orchestrate antifungal immunity. *Nat Immunol*, 2012, 13: 817-22
- [19] Bierne H, Hamon M, Cossart P. Epigenetics and bacterial infections. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2: a010272
- [20] Ostuni R, Piccolo V, Barozzi I, et al. Latent enhancers activated by stimulation in differentiated cells. *Cell*, 2013, 152: 157-71
- [21] Saeed S, Quintin J, Kerstens HH, et al. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity. *Science*, 2014, 345: 1251086
- [22] Rügger S, Großhans H. MicroRNA turnover: when, how, and why. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37: 436-46
- [23] Monticelli S, Natoli G. Short-term memory of danger signals and environmental stimuli in immune cells. *Nat Immunol*, 2013, 14: 777-84
- [24] O'Connell RM, Chaudhuri AA, Rao DS, et al. Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 7113-8
- [25] Fanucchi S, Fok ET, Dalla E, et al. Immune genes are primed for robust transcription by proximal long noncoding RNAs located in nuclear compartments. *Nat Gene*, 2019, 51: 138-50
- [26] Krawczyk CM, Holowka T, Sun J, et al. Toll-like receptor-induced changes in glycolytic metabolism regulate dendritic cell activation. *Blood*, 2010, 115: 4742-9
- [27] Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, 2009, 324: 1029-33
- [28] Cheng SC, Quintin J, Cramer RA, et al. mTOR- and HIF-1-mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity. *Science*, 2014, 345: 1250684
- [29] Arts RJW, Carvalho A, La Rocca C, et al. Immunometabolic



- pathways in BCG-induced trained immunity. *Cell Rep*, 2016, 17: 2562-71
- [30] Bekkering S, Arts RJW, Novakovic B, et al. Metabolic induction of trained immunity through the mevalonate pathway. *Cell*, 2018, 172: 135-46.e9
- [31] Arts RJW, Novakovic B, ter Horst R, et al. Glutaminolysis and fumarate accumulation integrate immunometabolic and epigenetic programs in trained immunity. *Cell Metab*, 2016, 24: 807-19
- [32] Lu C, Ward PS, Kapoor GS, et al. IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*, 2012, 483: 474-8
- [33] Xiao M, Yang H, Xu W, et al. Inhibition of  $\alpha$ -KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Gene Dev*, 2012, 26: 1326-38
- [34] Blok BA, Arts RJW, van Crevel R, et al. Trained innate immunity as underlying mechanism for the long-term, nonspecific effects of vaccines. *J Leukocyte Biol*, 2015, 98: 347-56
- [35] Arts RJW, Moorlag SJCFM, Novakovic B, et al. BCG vaccination protects against experimental viral infection in humans through the induction of cytokines associated with trained immunity. *Cell Host Microbe*, 2018, 23: 89-100.e5
- [36] Mina MJ, Kula T, Leng Y, et al. Measles virus infection diminishes preexisting antibodies that offer protection from other pathogens. *Science*, 2019, 366: 599-606
- [37] Munoz C, Carlet J, Fitting C, et al. Dysregulation of *in vitro* cytokine production by monocytes during sepsis. *J Clin Invest*, 1991, 88: 1747-54
- [38] Sica A, Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *J Clin Invest*, 2007, 117: 1155-66
- [39] Senovilla L, Aranda F, Galluzzi L, et al. Impact of myeloid cells on the efficacy of anticancer chemotherapy. *Curr Opin Immunol*, 2014, 30: 24-31
- [40] Alexandroff AB, Jackson AM, O'Donnell MA, et al. BCG immunotherapy of bladder cancer: 20 years on. *Lancet*, 1999, 353: 1689-94
- [41] Buffen K, Oosting M, Quintin J, et al. Autophagy controls BCG-induced trained immunity and the response to intravesical BCG therapy for bladder cancer. *PLoS Pathogens*, 2014, 10: e1004485
- [42] Sokal JE, Aungst CW, Snyderman M. Delay in progression of malignant lymphoma after BCG vaccination. *New Eng J Med*, 1974, 291: 1226-30
- [43] Morton DL, Eilber FR, Holmes EC, et al. BCG immunotherapy of malignant melanoma: summary of a seven-year experience. *Ann Surg*, 1974, 180: 635-43
- [44] Zhang M, Chun L, Sandoval V, et al. Systemic administration of  $\beta$ -glucan of 200 kDa modulates melanoma microenvironment and suppresses metastatic cancer. *Oncol Immunology*, 2018, 7: e1387347
- [45] Zhang M, Kim JA, Huang AY. Optimizing tumor microenvironment for cancer immunotherapy:  $\beta$ -glucan-based nanoparticles. *Front Immunol*, 2018, 9: 341
- [46] Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13: 709-21
- [47] Sheedy FJ, Grebe A, Rayner KJ, et al. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. *Nat Immunol*, 2013, 14: 812-20
- [48] Bekkering S, Quintin J, Joosten LA, et al. Oxidized low-density lipoprotein induces long-term proinflammatory cytokine production and foam cell formation via epigenetic reprogramming of monocytes. *Arterioscl Throm Vas Biol*, 2014, 34: 1731-8
- [49] Manning-Tobin JJ, Moore KJ, Seimon TA, et al. Loss of SR-A and CD36 activity reduces atherosclerotic lesion complexity without abrogating foam cell formation in hyperlipidemic mice. *Arterioscl Throm Vas Biol*, 2009, 29: 19-26
- [50] Tawakol A, Singh P, Mojena M, et al. HIF-1 $\alpha$  and PFKFB3 mediate a tight relationship between proinflammatory activation and anerobic metabolism in atherosclerotic macrophages. *Arterioscl Throm Vas Biol*, 2015, 35: 1463-71
- [51] Duivenvoorden R, Tang J, Cormode DP, et al. A statin-loaded reconstituted high-density lipoprotein nanoparticle inhibits atherosclerotic plaque inflammation. *Nat Commun*, 2014, 5: 3065
- [52] Nicorescu I, Dallinga GM, de Winther MPJ, et al. Potential epigenetic therapeutics for atherosclerosis treatment. *Atherosclerosis*, 2019, 281: 189-97
- [53] Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with Canakinumab for atherosclerotic disease. *New Eng J Med*, 2017, 377: 1119-31
- [54] Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, et al. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement: NY*, 2018, 4: 575-90
- [55] Wes PD, Holtman IR, Boddeke EW, et al. Next generation transcriptomics and genomics elucidate biological complexity of microglia in health and disease. *Glia*, 2016, 64: 197-213
- [56] Wendeln AC, Degenhardt K, Kaurani L, et al. Innate immune memory in the brain shapes neurological disease hallmarks. *Nature*, 2018, 556: 332-8
- [57] Wang C, Yu JT, Miao D, et al. Targeting the mTOR signaling network for Alzheimer's disease therapy. *Mol Neurobiol*, 2014, 49: 120-35
- [58] Datta M, Staszewski O, Raschi E, et al. Histone deacetylases 1 and 2 regulate microglia function during development, homeostasis, and neurodegeneration in a context-dependent manner. *Immunity*, 2018, 48: 514-29.e6
- [59] Włodarczyk M, Druszczyńska M, Fol M. Trained innate immunity not always amicable. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 2565
- [60] Horwood NJ. Macrophage polarization and bone formation: a review. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 51: 79-86
- [61] Stuhlmüller B, Ungethüm U, Scholze S, et al. Identification of known and novel genes in activated monocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2000,

- 43: 775-90
- [62] Häupl T, Østensen M, Grützkau A, et al. Reactivation of rheumatoid arthritis after pregnancy: increased phagocyte and recurring lymphocyte gene activity. *Arthritis Rheum*, 2008, 58: 2981-92
- [63] Huber LC, Brock M, Hemmatazad H, et al. Histone deacetylase/acetylase activity in total synovial tissue derived from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum*, 2007, 56: 1087-93
- [64] Shirai T, Nazarewicz RR, Wallis BB, et al. The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease. *J Exp Med*, 2016, 213: 337-54
- [65] Littlewood-Evans A, Sarret S, Apfel V, et al. GPR91 senses extracellular succinate released from inflammatory macrophages and exacerbates rheumatoid arthritis. *J Exp Med*, 2016, 213: 1655-62
- [66] Kim S, Hwang J, Xuan J, et al. Global metabolite profiling of synovial fluid for the specific diagnosis of rheumatoid arthritis from other inflammatory arthritis. *PLoS One*, 2014, 9: e97501
- [67] Radner H, Aletaha D. Anti-TNF in rheumatoid arthritis: an overview. *Wien Med Wochenschr*, 2015, 165: 3-9
- [68] Lin YC, Lin YC, Huang MY, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibitors suppress CCL2 chemokine in monocytes via epigenetic modification. *Mol Immunol*, 2017, 83: 82-91
- [69] Dinarello CA, Simon A, van der Meer JW. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11: 633-52
- [70] Wicks IP, Roberts AW. Targeting GM-CSF in inflammatory diseases. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12: 37-48
- [71] Schlums H, Cichocki F, Tesi B, et al. Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Immunity*, 2015, 42: 443-56
- [72] Chen Y, Xiao JN, Li Y, et al. Mycobacterial lipoprotein Z triggers efficient innate and adaptive immunity for protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Front Immunol*, 2018, 9: 3190
- [73] Novakovic B, Habibi E, Wang SY, et al.  $\beta$ -Glucan reverses the epigenetic state of LPS-induced immunological tolerance. *Cell*, 2016, 167: 1354-68.e14