Toll样受体7激动剂的研究进展

乔鑫宇[1], 许婧菲[2], 魏会强[2], 李祎亮[2*], 侯文彬[2*]

(1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 中国医学科学院北京协和医学院放射医学研究所, 天津 300192)

摘要: Toll样受体 (toll-like receptor, TLR) 作为重要的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRR), 广泛分布于巨噬细胞、树突状细胞等免疫细胞的内体膜表面, 其中TLR7因其特异性识别病毒来源的单链RNA (ssRNA) 的分子模式而备受关注。TLR7识别单链核糖核酸后, 会激活一系列信号级联反应, 启动高水平的系统性适应性免疫应答来杀死病毒。近年来, 人工合成的TLR7激动剂已在临床中用于治疗HPV感染、基底细胞癌等疾病, 其通过模拟病毒RNA结构激活免疫微环境, 显著增强抗原呈递细胞功能并促进Th1型免疫应答。本文概述了TLR7激动剂近10年的研究进展和在各种疾病中的应用, 旨在为相关研发工作提供参考。

关键词: Toll样受体7; 激动剂; 炎症性疾病; 抗肿瘤; 信号通路

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)05-1513-09

Research progress of Toll-like receptor 7 agonists

QIAO Xin-yu[1], XU Jing-fei[2], WEI Hui-qiang[2], LI Yi-liang[2*], HOU Wen-bin[2*]

(*1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China*)

Abstract: Toll-like receptors (TLR), as important pattern recognition receptors (PRR), are widely distributed on the endosomal membrane surface of immune cells such as macrophages and dendritic cells. Among them, TLR7 has attracted much attention due to its specific recognition of the molecular pattern of viral single-stranded RNA (ssRNA). After TLR7 recognizes single-stranded ribonucleic acid, it activates a series of signal cascade reactions, initiating a high level of systemic adaptive immune response to kill the virus. In recent years, artificially synthesized TLR7 agonists have been used in the clinical treatment of diseases such as HPV infection and basal cell carcinoma. They activate the immune microenvironment by mimicking the structure of viral RNA, significantly enhancing the function of antigen-presenting cells and promoting Th1-type immune response. This paper summarizes the research progress of TLR7 agonists in the past decade and their application in various diseases, aiming to provide references for relevant research and development.

Key words: toll-like receptor 7; agonist; inflammatory disease; antitumor; signaling pathway

当致病微生物侵入人体, 宿主的免疫监视系统便启动, 识别病原体携带的毒素等异物, 进而引发一系列先天性免疫反应。先天免疫对各种入侵的病原微生物能快速反应, 同时在特异性免疫的启动和效应过程中也起重要作用。先天免疫系统细胞的免疫活动由模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRR) 识别病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular pattern, PAMP) 开始。PRR在先天免疫反应中起着重要作用, 这些PRR是一大群受体, 可以位于细胞表面或内部。最常见于溶酶体、线粒体和内质网的膜或细胞质[1]。它们不仅定位在免疫细胞上, 包括效应免疫细胞 (巨噬细胞、树突状细胞、粒细胞和淋巴细胞)、祖细胞和造血干细胞上, 还定位在非特异性、非免疫性上

收稿日期: 2025-07-29; 修回日期: 2025-10-30.

基金项目: 国家自然科学基金项目资助 (82104012); 天津市自然科学基金项目资助 (22JCQNJC00690).

*通讯作者 E-mail: liyiliang@irm-cams.ac.cn; houwenbin@irm-cams.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0887

皮和内皮细胞或成纤维细胞上, 它们启动细胞内信号级联来保持组织稳态和清除潜在危险病原体[2]。PRR一般由树突状细胞 (dendritic cell, DC)、巨噬细胞、中性粒细胞单核细胞等固有免疫细胞所表达[3]。PAMP是保守的分子基序, 它们中的大多数是微生物的基本功能成分, 如鞭毛蛋白和对病原体生存至关重要的核酸 (dsRNA、ssRNA 和 DNA)[4,5]。Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 属于 PRR[2]。TLR 依赖性识别 PAMP 导致先天免疫系统的激活, 随后导致激活抗原特异性适应性免疫, 每个 TLR 都识别出微生物组件的不同组分[6]。

1 TLR7的蛋白结构

TLR 家族作为重要的 PRR 成员[2], 通过特异性识别不同的微生物组分在免疫激活过程中发挥关键作用[6]。以 TLR7 为例 (结构特征见图 1)[7], N 端的外细胞域 (extracellular domain, ECD) 包含 26 个亮氨酸富集重复序列 (leucine-rich repeats, LRRs), 形成内部平行 β-折叠与外部 α-螺旋交替的立体构型。LRR14 和 LRR15 之间的无序 Z 环区域具有特殊功能, TLR7 的激活需要在 Z 环区域发生蛋白水解切割, 未经切割的受体既无法形成二聚体, 也无法识别微生物 RNA。在 Z 环区域经过蛋白水解切割后, N 端 Cys98 与 C 端 Cys475 通过二硫键形成稳定的共价连接。在配体的刺激下, 两个 ECD 结构域通过 LRR 环的邻近效应形成对称的 M 形同源二聚体, 这种构象改变对下游信号通路的激活至关重要。

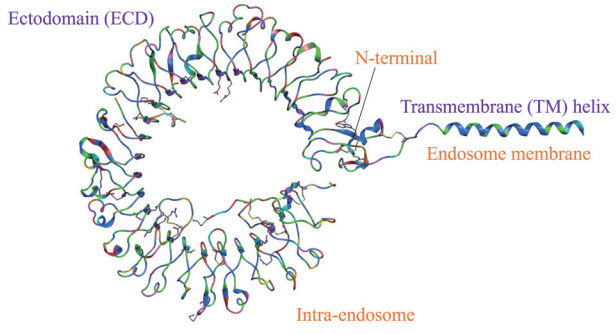


Figure1 Structure of toll-like receptor 7 (TLR7) (PDB ID: 7CYN)

2 TLR7的信号通路

细胞在静息状态时 TLR7 会停留在内质网中, 当单链 RNA 病毒等外源性成分入侵时, 内质网中的 TLR7 会转移到内体中与配体识别结合[8], 从而使 TLR7 的 TIR 结构域构象发生改变, 改变构象后的 TLR7 能够募集髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response 88, MyD88) 的 TIR 结构域, 两者的 TIR 相互靠拢并发生寡聚化。MyD88 (由 MyD88 基因编码的 296 个氨基酸蛋白质) 通过其 C 端 TIR 结构域和 N 端死亡结构域来进行下游信号传导[3]。TLR 信号通路的激活开始于配体诱导的 TIR 结构域聚集, 进而招募含 TIR 结构域的衔接蛋白, 其中 MyD88 依赖性途径在多数 TLR 信号转导中起主导作用, 而 TLR3/4 则可选择 MyD88 非依赖性途径[9]。在 MyD88 依赖性途径中, MyD88 通过其死亡结构域招募 IL-1 受体相关激酶 4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4), 后者通过相互作用并磷酸化 IRAK1, 形成 IRAK4-IRAK1 复合物。激活的 IRAK1 与肿瘤坏死受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 结合, 形成信号复合物。TRAF6 作为 E3 泛素连接酶, 与 Ubc13/Uev1A 复合物协作催化 K63 泛素链的合成, 从而激活转化生长因子 β 激活激酶 1 (transforming growth factor beta-activated kinase 1, TAK1) 复合物。然后 TAK1 磷酸化并激活 IKK 复合物 (IκB kinase complex, IKK), 最终分别导致转录因子 NF-κB 和 JNK/p38 的激活。活化的 NF-κB 转位入核, 启动促炎细胞因子 (如 TNF-α、IL-6) 的表达, 而 JNK 和 p38 则通过磷酸化激活转录因子 AP-1, 进一步调节免疫和炎症相关基因的表达。含 TIR 结构域的衔接蛋白诱导干扰素 β (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β, TRIF) 是先天免疫信号通路中的关键衔接蛋白, 在非依赖性途径中, TLR3 通过 TRIF 直接招募 TRAF3, 激活 TBK1-IKKε 复合物, 磷酸化 IRF3 诱导 I 型干扰素产生而 TLR4 同时利用 MyD88 (膜上信号) 和 TRIF (内体信号) 双途径, MyD88 介导早期 NF-κB 激活, 而 TRIF 驱动晚期干扰素反应, 见图 2[10]。研究显示, 在肝脏微环境中 TLR7 的激活可促使树突状细胞分泌白细胞介素-12 (interleukin-12, IL-12) 进而增强 Th1 型免疫应答, 通过 γ-干扰素 (Interferon-gamma, IFN-γ) 激活吞噬细胞和细胞毒性 T 细胞, 形成多维度抗病原体防线[11]。TLR7 信号通路的生物学效应不仅限于先天免疫调控, 其激活剂通过触发 MyD88/NF-κB 级联反应, 可显著增强抗原提呈细胞功能[12,13], 提升细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T cell, CTL) 的肿瘤特异性识别能力[14]。已有研究证实 TLR7 激动剂加强抗原 DC 呈递作用, 并提高抗原特异性 T 细胞的表达量, TLR7 激活可增强 CTL 杀伤性, 明显抑制肿瘤细胞周期, 抑制增殖、促进细胞凋亡[15]。

3 TLR7与疾病

TLR7 的信号传导活动影响着许多重要的进程, 其活化状态与多种重要疾病的发生发展密切相关。在肿瘤领域, 它既能通过激活适应性免疫应答来清除肿瘤细胞, 也可能在某些肿瘤微环境中被异常利用来促进免疫抑制。对于疟疾这类感染性疾病, TLR7 参与机体

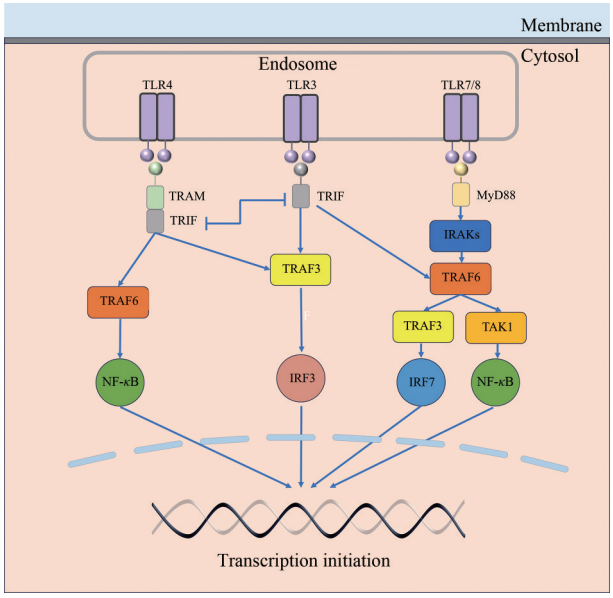


Figure 2 MyD88-dependent signaling pathway. TRAM: TRIF-related adaptor molecule; TRIF: TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β; MyD88: Myeloid differentiation primary response 88; TRAF6: TNF receptor-associated factor 6; IRAK: Interleukin-1 receptor-associated kinase; NF-κB: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; IRF: Interferon regulatory factor

对疟原虫的免疫应答, 对疟疾的发病机制及免疫保护有着重要影响。针对免疫性疾病, TLR7功能的异常可能导致免疫系统失衡, 进而引发一系列自身免疫反应及炎症过程, 此外异常的TLR7信号通路活化也会导致一些免疫性疾病的发生, 特别是与系统性红斑狼疮等自身免疫病的病理机制紧密相关。

3.1 TLR7与肿瘤 现今有一些对肿瘤的靶向治疗方法, 但因为其耐药性和选择性的局限导致治疗效果有限[16,17], TLR7作为免疫治疗靶点提供了一些新的思路[18,19]。研究表明该受体通过识别肿瘤细胞释放的单链RNA等内源性配体, 激活MyD88依赖的信号级联反应, 进而调控免疫细胞功能。除此之外, TLR7信号可驱动I型干扰素分泌, 促进树突状细胞成熟并增强$CD8^+$ T细胞的肿瘤杀伤效能, 这种免疫激活特性在早期肿瘤免疫监视中发挥保护作用。在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的动态平衡中, TLR7展现出双重调控特性。由免疫细胞、基质成分及信号分子构成的TME既可能促进肿瘤发展[20], 也可通过激活抗肿瘤免疫反应实现特异性杀伤[21]。研究表明TLR7的促瘤或抑瘤功能与其激活的特征存在密切关联。肿瘤相关髓系细胞中TLR7的持续性激活可导致促炎因子(IL-6、TNF-α)异常分泌, 加速血管生成并塑造免疫抑制微环境。DC等抗原呈递细胞通过TLR7识别内源性RNA配体后, 激活MyD88依赖的信号通路, 显著提升MHC-II类分子及共刺激因子(CD80/CD86)表达水平, 进而促进肿瘤抗原特异性T细胞的活化[22]。

2025年Wu等[23]进行了一项研究, 发现TLR7/8/9激动剂(CR108)联合低剂量顺铂能够协同抑制肿瘤生长, 并促进三级淋巴结构(tertiary lymphoid structures, TLS)形成。这种联合疗法在4T1三阴性乳腺癌和B16黑色素瘤模型中显著抑制了肿瘤生长, 延长了荷瘤小鼠的生存期。联合治疗组TLS形成比例远高于单药治疗组, 这些结构由B和T淋巴细胞构成, 具有类似生发中心的结构, 为抗原呈递、抗体产生和免疫细胞相互作用提供了平台。另一项发表在《Nature Cancer》上的研究显示IFN-I与TLR7/8激动剂的协同机制[24]。系统性IFN-I与局部TLR7/8激动剂(如咪喹莫特)的创新组合突破了肿瘤微环境屏障。这种时空差异化的给药策略使肿瘤浸润免疫细胞活性提升3.8倍, c-Jun/AP-1信号通路的激活使得树突状细胞IL-12分泌量显著增加710。IL-12既能直接抑制肿瘤血管生成, 又能激活$CD8^+$ T细胞形成长效免疫记忆。在接受联合治疗的小鼠模型中, 继发肿瘤生长延迟达21天, 记忆T细胞数量较对照组增加5.2倍。

3.2 TLR7与疟疾 作为热带和亚热带地区危害最严重的传染性疾病, 疟疾的发生与宿主免疫系统的调控失衡存在密切关联。近年多项研究表明免疫细胞的数量和活化强度在治疗疟疾方面发挥重要作用[25]。动物实验显示当BALB/c小鼠感染约氏疟原虫后可导致TLR7信号通路的激活, 特异性诱导DC亚群增殖, 并通过上调IL-12等细胞因子, 使$CD4^+$ T细胞向Th1/Tfh方向分化, 形成对疟原虫的特异性免疫清除能力[26]。另有研究表明TLR7基因敲除小鼠表现出DC成熟障碍、Th1应答迟缓和疟原虫清除效率下降等特征[27]。在急性呼吸道传染病重症患者中, TLR7错义变异通过损害ssRNA识别能力, 增加肺炎进展风险。这些研究证实了TLR7在疟疾等传染性疾病的重要作用。

3.3 TLR7与免疫性疾病 在系统性红斑狼疮的发病机制研究中, TLR7参与的免疫调控网络表现出重要的病理作用。引起疾病的原因在于自身抗体的过度异常激活, 这与Th17细胞的过度活化密切相关, 而TLR7可通过调控Th17细胞分化来参与疾病进程。研究表明, TLR7信号通路的异常活化可显著促进Th17细胞特异性转录因子维甲酸相关孤儿受体γt (retinoic acid-related orphan receptor γt, RORγt)的表达, 该因子不仅通过表观遗传改变Th17细胞分化程序, 还直接调控IL-17等炎症因子的合成与分泌。这种分子级联反应在小鼠模型中呈现出剂量依赖性特征, 当TLR7活性

被干预后, 脾脏Th17细胞比例与血清IL-17水平同步下降, 证实TLR7通过双重调控机制影响SLE的核心病理环节[28]。

变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 的核心发病机制涉及肥大细胞活化与炎性介质释放的级联反应。TLR7通过调控Th1/Th2免疫应答的动态平衡, 影响肥大细胞参与的过敏反应进程。临床研究表明AR患者鼻腔局部TLR7活性与Th2型细胞因子水平呈现显著负相关, 表示其可能通过抑制IL-4、IL-5等Th2特征性因子的表达来阻断过敏反应的级联放大。进一步的研究表明TLR7激活后能够促进Th1型细胞因子 (如IFN-γ) 的合成释放, 这种免疫应答方向的转换不仅能够有效降低组胺等炎性介质的释放强度, 还可通过重塑局部免疫微环境来延长治疗效果[29]。

Zeng等[30]发表了全球首例TLR7体细胞功能获得性突变导致早发性系统性红斑狼疮的病例, 这是对TLR7在自身免疫性疾病中作用机制的重要突破。该研究报道了一名男性患儿, 出生后不久即出现反复发热、血小板极低等症状, 8年间辗转多家医院治疗效果不佳。通过全外显子测序发现, 其TLR7基因发生了体细胞功能获得性突变 (TLR7 F506S), 突变等位基因频率约占体细胞的40%。

4 TLR7小分子激动剂

TLR7是十分重要的免疫治疗靶点, 其激动剂通过特异性激活受体触发级联免疫反应, 在抗肿瘤、抗感染及免疫调节治疗中发挥重要作用, 这类小分子化合物不仅可作为疫苗佐剂增强免疫应答, 还在癌症免疫治疗和慢性炎症性疾病干预方面发挥作用。如今已经有部分激动剂已经上市投入使用, 近年来还出现一些具有高选择性、高活性的新型小分子激动剂。本文将按结构类型对部分代表化合物进行论述。

4.1 基于鸟苷类TLR7小分子激动剂 鸟苷因为其结构特性而成为内源性的TLR7配体, 主要原因在于鸟苷中嘌呤环7位和8位的取代对免疫刺激有很大影响, Shibata等[31]研究发现在寡核苷酸存在的条件下, TLR7能够特异性识别并结合这些鸟苷类分子来激活免疫反应, 其中8-羟基脱氧鸟苷 (8-OHdG, 图3, **1**) 尽管亲和力较低, 但在血清中代谢稳定性更强, 适合长效免疫的调节应用。

为进一步提高活性和适用性, 研究人员对鸟苷结构进行了系统修饰。发现这些鸟苷衍生物能够通过对TLR7信号传导途径产生作用, 不仅可以加速IFN的激活, 还可以在不同的生物学试验中表现出免疫增强和抗病毒特性。最开始Lee等[32]证实鸟苷衍生物通过TLR7信号通路激活固有免疫。后来Davenne等[33]发现脱氧鸟苷 (dG) 可直接激活TLR7诱导炎症因子分泌, 且该过程独立于单链RNA存在, 这一发现通过小鼠巨噬细胞、树突状细胞及人外周血单核细胞模型得到验证。在构效关系研究方面, Reitz等[34]系统构建并评估了一系列7,8-二取代鸟苷衍生物, 发现loxoribine (ED_{50} = 3.2～13.22 μmol·L^{-1}) (图3, **2**) 能有效激活B细胞并增强体液免疫。这项研究深入揭示了结构修饰对活性的影响: C8位是调控亲和力和代谢稳定性的关键位置, 8-氧代或8-硫代修饰可维持甚至增强TLR7活性 (如8-OHdG), 而引入体积较大的疏水基团 (如芳基或长链烷基)则会导致活性显著下降, 表明该位置对立体体积敏感。N7位置处直链中等长度烷基通常活性最佳, 较长链或支链烷基由于空间位阻增加, 可能导致与TLR7结合腔的匹配度下降。核糖2'和3'羟基并非活性必需基团, 去除这两个羟基 (如脱氧核糖类似物)

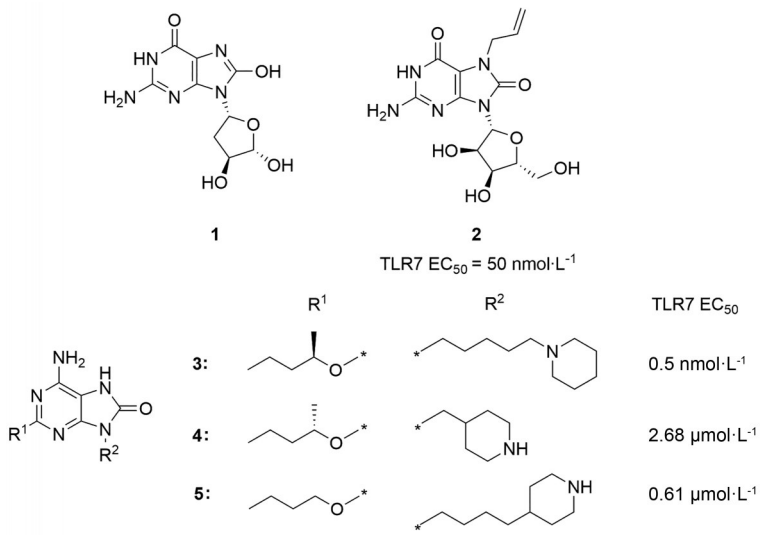


Figure 3 Structure-based on guanosine and 8-oxoadenine TLR7 small molecule agonists

不仅可保留活性, 还能增强代谢稳定性, 改善药代动力学性质。此外, 该位置的磷酸酯或硫代修饰也被用于前药设计, 以进一步提高口服利用度。

鸟苷类TLR7激动剂因其结构类似于内源性配体, 通常具有良好的生物相容性和较低的脱靶风险。Loxoribine已被广泛研究作为疫苗佐剂使用, 能够有效增强抗原特异性抗体反应和Th1型免疫应答。该类分子在抗病毒和抗肿瘤免疫治疗中也显示出良好的应用前景。

4.2 基于8-氧代腺嘌呤类TLR7小分子激动剂 8-氧代腺嘌呤类化合物的研究经历了多个阶段。早期的研究集中在其作为内源性干扰素诱导剂方面, 主要在抗肝炎、抗过敏及抗肿瘤领域应用。随着研究深入, 科学家发现N-9位取代基的杂环类型与碳链长度是调控TLR7活性的关键要素。目前活性最强的8-氧代腺嘌呤类TLR7激动剂是GSK2245035 (图3, **3**), 其EC_{50}值达到0.5 nmol·L^{-1}, 显示出极高的激动活性[35]。该化合物在临床前研究中表现出良好的干扰素诱导能力及免疫调节潜力, 尤其适用于呼吸道过敏性疾病的治疗, 其吸入剂型的开发进一步拓展了该类结构在局部免疫调控中的应用前景。现在仍有不少研究人员进行结构上的修饰来寻求突破, 构效关系的研究表明8-氧代腺嘌呤类激动剂的活性核心在于N-9位取代基的杂环类型与碳链长度, 以及C-2位取代基的立体化学效应。Bazin等[36]在8-氧代腺嘌呤的2号位上修饰, 发现在引入1-(*S*)-甲基丁氧基 (图3, **4**) 可显著增强TLR7激动活性 (EC_{50} = 2.68 μmol·L^{-1}) 并提高了细胞因子诱导能力和树突细胞成熟效率。该研究不仅体现出立体化学对活性的重要影响, 也为疫苗佐剂开发提供了重要的分子设计策略, 尤其是在需要强有力T细胞免疫应答的疫苗开发中具有潜在价值。还有研究人员系统考察了N-9位取代基的结构多样性对TLR7选择性与效力的影响。通过合成了多种N-杂环氧腺嘌呤化合物, 考察了不同N-杂环类型 (如吡啶、哌啶、哌嗪) 及其结构参数对TLR7受体选择性、激动效力的影响[37], 并通过大量实验数据明确了碳链长度是影响TLR7活性的最关键因素, 环状结构的尺寸和类型则位居其次。例如在人外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 模型中, 丁基和哌啶环的连接结构表现出的TLR7活性最强 (图3, **5**, EC_{50} = 0.61 μmol·L^{-1}), 而使用氮杂环丁烷或吡咯烷基等小尺寸氮杂环直接连接腺嘌呤骨架, 可在特定剂量范围内实现选择性IFNα释放, 这为开发具有细胞因子定向诱导能力的精准免疫调节剂提供了可能。

8-氧代腺嘌呤类TLR7激动剂凭借其可修饰性强、结构–活性关系明确等优势, 在抗病毒、抗肿瘤、疫苗佐剂及免疫疾病治疗等多个领域中展现出广阔前景。未来研究应进一步结合结构生物学手段和体内药效验证, 推动高选择性、低系统毒性的新型激动剂的开发。

4.3 基于咪唑并喹啉类TLR7小分子激动剂 咪唑并喹啉类化合物最早因其显著的抗病毒活性而被广泛研究, 随后其应用逐步扩展至疫苗佐剂及免疫调节治疗领域。该类分子通过特异性激活TLR7, 诱导I型干扰素及促炎细胞因子的产生, 从而增强先天和适应性免疫应答。目前已有多款咪唑并喹啉类TLR7激动剂进入临床使用, 如咪喹莫特 (图4, **6**)、雷西莫特 (**7**)。其中咪喹莫特 (EC_{50} = 2.1 μmol·L^{-1}) 已成为FDA批准用于治疗浅表基底细胞癌的药物, 其局部应用显示出良好的安全性与疗效。在SAR研究方面, 多项系统修饰研究揭示了咪唑并喹啉骨架中关键取代位点对TLR7活性的显著影响, Shukla等[38]通过对N-1与C-2位的取代基进行修饰, 发现C-2位丁基取代的生物活性最高, 烷基链延长或缩短都会降低活性, 最后筛选出活性最好的化合物**8** (EC_{50} = 8.6 nmol·L^{-1})。后来Hunt等[39]考察了C7-取代咪唑喹啉类化合物的SAR。这些化合物不仅证明TLR7/8耐受C7位置的变化, 而且可以增加效力。他们合成了各种在C7位置取代的衍生物, 并评价了它们在TLR7/8细胞系中的活性。在这个研究中, 探索了吸电子基团和给电子基团及氢键供体和受体对C7位电子效应的影响。研究的初始合成目标是C7甲氧基、氯、腈和羟基类似物, 选择C7位置的甲氧基是由于其强的供电子性质及其氢键接受能力, 选择C7氯是因为其亲脂性及其与芳环系统的共振, 选择C7腈是因为其强吸电子性质和极化性质, 选择C7羟基是因为其强的供电子性质及其氢键接受和供电子能力。他们发现电子供体基团 (如甲氧基和羟基)可显著增强TLR7激动活性, 而吸电子基团则活性较弱。他们筛选出了几种活性最好的化合物**9**、**10**和**11**, EC_{50}分别为0.081、0.084和0.073 μmol·L^{-1}, 明确了C7位取代基的电子效应对TLR7激活能力的关键调控作用。

Kaushik等[40]通过优化合成工艺获得高纯度BBIQ (图4, **12**), 并通过体外和体内实验评估了其对TLR7的激动活性和佐剂潜力。其TLR7特异性激活效力为ED_{50} = 2 μmol·L^{-1}, 介于雷西莫特与咪喹莫特之间。在体内实验中, BBIQ作为佐剂显著增强了流感疫苗诱导的抗流感IgG1和IgG2c抗体反应, 而咪喹莫特在相同剂量下未显示出显著的佐剂活性。此外, BBIQ与Advax佐剂联合使用时, 进一步增强了流感特异性抗体的产生, 显示出协同效应。这项研究证实了BBIQ作为一种有效的TLR7特异性佐剂, 能够增强流感疫

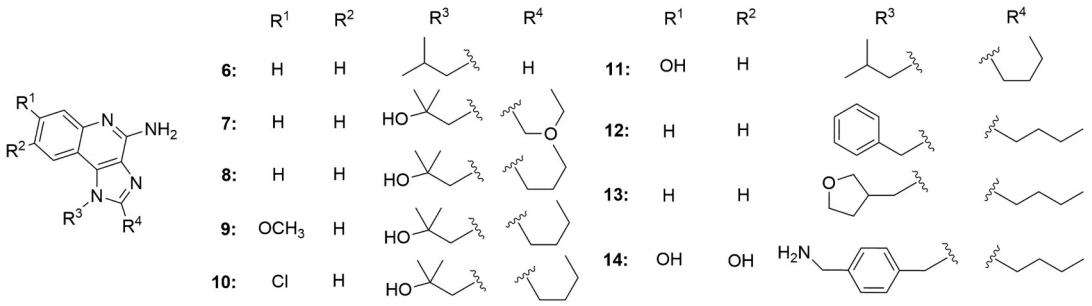


Figure 4 TLR7 small molecules agonist of imidazoquinoline class

苗的免疫原性, 显示出良好的疫苗佐剂应用前景。Ou等[22]报道了一种新型选择性TLR7激动剂SMU-L11 (图4, **13**, EC_{50} = 0.024 μmol·L^{-1}) 的开发及其抗黑色素瘤机制, 并评估了其对肿瘤微环境的调节作用。其通过激活NF-κB/MAPK通路促进M1巨噬细胞极化, 使其表现出具有促炎、抗菌、抗肿瘤的特性。在黑色素瘤模型中SMU-L11显著抑制肿瘤生长的同时未引发系统性炎症或器官毒性, 显示出良好的肿瘤免疫治疗潜力。Kumar等[41]报道了一种新型TLR7激动剂, 通过将邻位双酚结构引入咪唑并[4,5-c]喹啉骨架的喹啉环, 他们发现将TLR7激动剂吸附在明矾上可以增强疫苗的免疫原性, 开发出了7,8-二羟基衍生物 (图4, **14**), 该化合物的TLR7激动活性为EC_{50} = 3.72 μmol·L^{-1}, 不仅保留了TLR7激动剂活性, 还显示出对明矾的高吸附性。该结构修饰进一步拓展了咪唑并喹啉类化合物的结构多样性, 虽活性较优选的烷氧衍生物略低, 但仍为后续针对水溶性和受体选择性的优化提供了新思路。

咪唑并喹啉类TLR7激动剂通过关键位点的结构修饰 (如N-1、C-2、C-7及喹啉环取代) 可显著调控其免疫活性与选择性。高活性化合物如SMU-L11和衍生物8不仅具有显著的免疫增强效应, 还在抗肿瘤和疫苗佐剂等领域展现出广阔的应用前景。未来研究需进一步结合结构生物学数据与体内药效评价, 以实现对该类化合物构效关系的深入理解和应用拓展。

4.4 3-去氮嘌呤类TLR7小分子激动剂 辉瑞公司报道了一种非嘌呤基骨架的新型小分子TLR7激动剂, 选择3-去氮嘌呤作为母核进行修饰。后来研究人员通过一系列的结构修饰与活性测定, 筛选出一个活性最好的TLR7激动剂PF-4171455 (图5, **15**, EC_{50} = 0.27 μmol·L^{-1})。

4.5 基于嘧啶类TLR7小分子激动剂 嘧啶类衍生物因其良好的结构可调性、较高的受体选择性及显著的免疫调节潜力, 已成为TLR7激动剂研发的重要方向。该类化合物不仅表现出优异的激动活性, 还在病毒介导的慢性感染和肿瘤免疫治疗中显示出广阔的应用前景。早期McGowan等[42]报道了一种新型嘧啶类TLR7激动剂, 用于治疗慢性乙型肝炎病毒 (hepatitis b virus, HBV) 感染。他们通过高通量筛选发现先导化合物后系统性地对其嘧啶的4位和5位进行结构修饰, 从中筛选出TLR7激动活性最强的化合物 (图5, **16**), 最低有效浓度为1.6 μmol·L^{-1}。其构效关系研究表明, C4位需维持4～5碳链长度并保留N-氢供体特性, C2位的伯胺基为关键药效团, 甲基取代后活性显著降低, 说明该位置的空间位阻和氢键能力对TLR7识

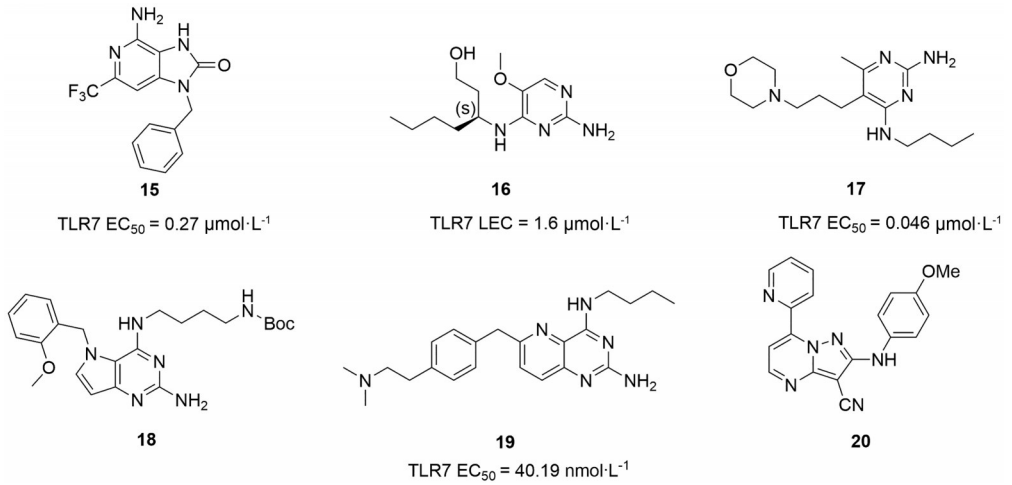


Figure 5 Structures of TLR7 agonist PF-4171455 and pyrimidine-like TLR7 agonist

别至关重要。进一步在C5位引入柔性胺基侧链可显著提升活性, 如Beesu等[43]通过系统修饰C5位取代基, 发现带有氨基丙基结构的化合物 (图5, **17**) 可有效增强激动活性, 丁基链长度减弱了TLR7的效力 (EC_{50} = 0.046 μmol·L^{-1}), 其优势在于增强疏水作用并提高细胞膜穿透性, 适用于局部给药系统。还发现具有适当碱度的氢键受体基团如吗啉基在实现双重TLR7/TLR8激动剂方面更有效。

Song等[44]报道了喹唑啉和吡咯并[3,2-d]嘧啶衍生物的设计、合成及其抗病毒活性评估。研究通过化学合成获得三类喹唑啉和五类吡咯并嘧啶衍生物, 其中分子对接表示化合物**18** (图6A) 稳定结合于TLR7的鸟苷结合位点, 显示出良好的几何匹配和氢键网络, 尤其适用于需结构模拟核苷类配体的抗病毒场景 (结合能为−4.45 kcal·mol^{-1})。Li等[45]报道了新型TLR7激动剂在激活HIV-1潜伏库及增强免疫应答中的双重作用, 他们设计合成了159种基于吡啶并[3,2-d]嘧啶和吡啶-2-胺的化合物, 并筛选出TLR7激动剂D018 (图5, **19**, EC_{50} = 40.19 nmol·L^{-1})。D018能显著增强NK细胞与T细胞的免疫应答, 为艾滋病治疗提供了新型工具分子。Kim等[46]报道了33种芳基吡唑并嘧啶类化合物的研究。通过HEK-Blue hTLR7报告细胞测定的TLR7激动剂活性值筛选发现, 化合物**20**表现出最强的TLR7激动活性 (活性数值为0.690), 对照药物咪喹莫特和雷西莫特的活性值均为1.0。通过分子对接模拟了化合物**20**与TLR7的结合模式 (图6B), 其苯胺基基团与Gln354形成氢键, 甲基硫醚取代基通过增强疏水相互作用提高活性。

嘧啶环是一个经典的药物化学优势骨架, 其上的多个位点 (如C2、C4、C5、C6位) 都可以进行系统性的化学修饰, 这为研究者进行SAR研究和精准优化提供了巨大的空间。嘧啶类TLR7激动剂由于其高度可优化的化学结构, 从而能够实现高活性、高选择性和良好的成药性。这使得它们在需要精准、强效免疫激活的领域, 尤其是抗病毒和肿瘤免疫治疗中, 展现出最为光明和接近临床转化的应用前景。

5 总结与展望

TLR7在激活非特异性和特异性免疫应答中发挥核心作用, 是肿瘤免疫与抗病毒天然免疫的关键调控因子。当前研究热点是新型激动剂的合理设计与临床转化, 通过解析TLR7与天然配体的复合物晶体结构, 结合计算机辅助药物设计, 开发出一些新的TLR7激动剂并进行临床试验。目前TLR7激动剂的治疗仍存在一些局限性, 比如全身给药易导致脱靶效应, 而局部给药 (如瘤内注射) 的渗透性和持久性不好, TLR7与TLR8的高度同源性导致多数激动剂存在交叉反应, 可能引发非靶向免疫激活或抑制不足, 这些不足仍需解决。未来研究可以着重于优化TLR7激动剂的分子结构, 通过精准的化学修饰来增强其靶向性, 降低脱靶风险, 同时构建先进的药物递送系统如纳米载体, 来提高局部给药的渗透性和持久性, 以实现更精准高效的治疗效果, 通过克服现有局限性并探索一些创新策略, 最大限度地发挥TLR7激动剂的治疗潜力, 为多种疾病的治疗带来新的希望。

作者贡献: 乔鑫宇负责资料的收集和文章的写作; 许婧菲对文章修改提供了意见; 魏会强对本文进行了精细的审改; 李祎亮负责提供思路和内容结构安排等工作; 侯文彬负

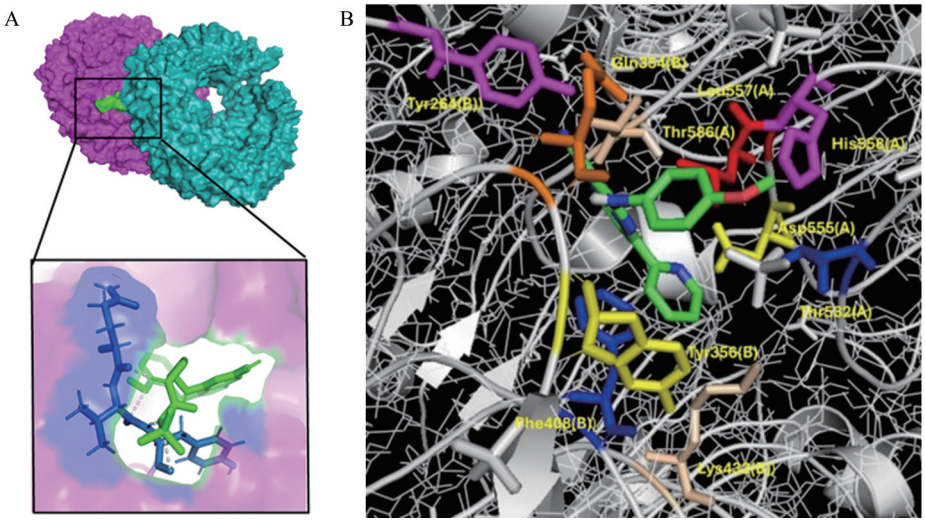


Figure 6 Docking analysis of the compounds with TLR7. A: Binding mode of compound **18** and TLR7, adapted from Ref. 44 with permission. Copyright © ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY; B: Docking of compound **20** with TLR7, adapted from Ref. 46 with permission. Copyright © John Wiley and Sons

责论文的修改及完善工作。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation [J]. Cell, 2010, 140: 805-820.

[2] Leśniak M, Lipniarska J, Majka P, et al. The role of TRL7/8 agonists in cancer therapy, with special emphasis on hematologic malignancies [J]. Vaccines (Basel), 2023, 11: 277.

[3] Wang XY, Zhao PX, Mawulikplimi AY, et al. Research progress on toll-like receptor 7 [J]. Chin J Cell Mol Immunol (细胞与分子免疫学杂志), 2016, 32: 1267-1271.

[4] Satoh T, Akira S, Gordon S. Toll-like receptor signaling and its inducible proteins [J]. Microbiol Spectr, 2016, 4: 6.

[5] Sun HY, Hu WW, Yan YN, et al. Using PAMPs and DAMPs as adjuvants in cancer vaccines [J]. Hum Vaccin Immunother, 2021, 17: 5546-5557.

[6] Huang LM, Shi JQ. Update of endoplasmic reticulum resident protein UNC93B1 and TLR7 in systemic lupus erythematosus [J]. Chin J Lepr Skin Dis (中国麻风皮肤病杂志), 2023, 39: 51-55.

[7] Zheng HY, Wu PY, Bonnet PA. Recent advances on small-molecule antagonists targeting TLR7 [J]. Molecules, 2023, 28: 634.

[8] Tohmé M, Manoury B. Invariant chain is a new chaperone for TLR7 in B cells [J]. Mol Immunol, 2015, 68: 102-105.

[9] Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: Critical proteinslinking innate and acquired immunity [J]. Nat Immunol, 2001, 2: 675-680.

[10] Ve T, Gay NJ, Mansell A, et al. Adaptors in toll-like receptor signaling and their potential as therapeutic targets [J]. Curr Drug Targets, 2012, 13: 1360-1374.

[11] Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3: 133-146.

[12] Goff PH, Hayashi T, He WQ, et al. Synthetic toll-like receptor 4 (TLR4) and TLR7 ligands work additively *via* MyD88 to induce protective antiviral immunity in mice [J]. J Virol, 2017, 91: e01050-17.

[13] Seya T, Takeda Y, Takashima K, et al. Adjuvant immunotherapy for cancer: Both dendritic cell-priming and check-point inhibitor blockade are required for immunotherapy [J]. Proc Jpn Acad Ser B, 2018, 94: 153-160.

[14] Wu B, Chen L, He PL, et al. TLR7 agonist enhances anti-tumor activity of PBMCs to renal carcinoma through lnc-DC/STAT3 instead of lnc-thril pathway [J]. Chin J Immunol (中国免疫学杂志), 2022, 38: 56-60.

[15] Kim H, Niu L, Larson P, et al. Polymeric nanoparticles encapsulating novel TLR7/8 agonists as immunostimulatory adjuvants for enhanced cancer immunotherapy [J]. Biomaterials, 2018, 164: 38-53.

[16] Zhang L, Zhou W, Velculescu VE, et al. Gene expression profiles in normal and cancer cells [J]. Science, 1997, 276: 1268-1272.

[17] Varshney D, Qiu SY, Graf TP, et al. Employing drug delivery strategies to overcome challenges using TLR7/8 agonists for cancer immunotherapy [J]. AAPS J, 2021, 23: 90.

[18] Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: From T cell basic science to clinical practice [J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20: 651-668.

[19] Tan SZ, Li DP, Zhu X. Cancer immunotherapy: Pros, cons and beyond [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 124: 109821.

[20] Musetti S, Huang L. Nanoparticle-mediated remodeling of the tumor microenvironment to enhance immunotherapy [J]. ACS Nano, 2018, 12: 11740-11755.

[21] Denton AE, Roberts EW, Fearon DT. Stromal cells in the tumor microenvironment [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1060: 99-114.

[22] Ou JX, Zheng L, Chen YL, et al. Heterocyclic-modified imidazoquinoline derivatives: Selective TLR7 agonist regulates tumor microenvironment against melanoma [J]. J Med Chem, 2024, 67: 3321-3338.

[23] Wu ST, Xiang R, Zhong YW, et al. TLR7/8/9 agonists and low-dose cisplatin synergistically promotes tertiary lymphatic structure formation and antitumor immunity [J]. NPJ Vaccines, 2025, 10: 13.

[24] Sanlorenzo M, Novoszel P, Vujic I, et al. Systemic IFN-I combined with topical TLR7/8 agonists promotes distant tumor suppression by c-Jun-dependent IL-12 expression in dendritic cells [J]. Nat Cancer, 2025, 6: 175-193.

[25] Rodriguez-Barraquer I, Arinaitwe E, Jagannathan P, et al. Quantification of anti-parasite and anti-disease immunity to malaria as a function of age and exposure [J]. Elife, 2018, 7: e35832.

[26] Qiu Y, Zhao YH, Cao YM. Effects of TLR7 agonists on immune cell subsets in P.y 17XNL-infected mice [J]. J Microbiol (微生物学杂志), 2019, 39: 71-75.

[27] Yang Q, Zhou L, Tan ZR, et al. TLR7 enhancing follicular helper T (Tfh) cells response in C57BL/6 mice infected with *Plasmodium yoelii* NSM TLR7 mediated Tfh cells in P. *yoelii* infected mice [J]. Immunology, 2024, 171: 413-427.

[28] Shen CX, Duan XG, Sun P, et al. Effects of TLR7 agonist imiquimod on RORγt^+ Th17 cells in MRL/lpr lupus mice [J]. Immunol J (免疫学杂志), 2019, 35: 385-391.

[29] Jia HJ, Xue JM. Development of toll like receptor agonists for the immunotherapy of allergic rhinitis [J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg (中国耳鼻咽喉颅底外科杂志), 2022, 28: 107-112.

[30] Zeng Y, Tao PF, Wang J, et al. Somatic gain-of-function mutation in TLR7 causes early-onset systemic lupus erythematosus [J]. Ann Rheum Dis, 2025, 84: 442-450.

[31] Shibata T, Ohto U, Nomura S, et al. Guanosine and its modified derivatives are endogenous ligands for TLR7 [J]. Int Immunol,

2016, 28: 211-222.

[32] Lee J, Chuang TH, Redecke V, et al. Molecular basis for the immunostimulatory activity of guanine nucleoside analogs: Activation of toll-like receptor 7 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100: 6646-6651.

[33] Davenne T, Bridgeman A, Rigby RE, et al. Deoxyguanosine is a TLR7 agonist [J]. Eur J Immunol, 2020, 50: 56-62.

[34] Reitz AB, Goodman MG, Pope BL, et al. Small-molecule immunostimulants-synthesis and activity of 7, 8-disubstituted guanosines and structurally related compounds [J]. J Med Chem, 1994, 37: 3561-3578.

[35] Biggadike K, Ahmed M, Ball DI, et al. Discovery of 6-amino-2-{[(1*S*)-1-methylbutyl]oxy}-9-[5-(1-piperidinyl)pentyl]-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-one (GSK2245035), a highly potent and selective intranasal toll-like receptor 7 agonist for the treatment of asthma [J]. J Med Chem, 2016, 59: 1711-1726.

[36] Bazin HG, Bess LS, Livesay MT, et al. Optimization of 8-oxoadenines with toll-like-receptor 7 and 8 activity [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2020, 30: 126984.

[37] Evans JT, Bess LS, Mwakwari SC, et al. Synthetic Toll-like receptors 7 and 8 agonists: Structure-activity relationship in the oxoadenine series [J]. ACS Omega, 2019, 4: 15665-15677.

[38] Shukla NM, Malladi SS, Mutz CA, et al. Structure-activity relationships in human toll-like receptor 7-active imidazoquinoline analogues [J]. J Med Chem, 2010, 53: 4450-4465.

[39] Hunt JR, Kleindl PA, Moulder KR, et al. Further exploration of the structure-activity relationship of imidazoquinolines; identification of potent C7-substituted imidazoquinolines [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2020, 30: 126788.

[40] Kaushik D, Dhingra S, Patil MT, et al. BBIQ, a pure TLR7 agonist, is an effective influenza vaccine adjuvant [J]. Hum Vaccin Immunother, 2020, 16: 1989-1996.

[41] Kumar K, Honda-Okubo Y, Sakala IG, et al. Modulation of the adjuvant potential of imidazoquinoline-based TLR7/8 agonists *via* alum adsorption [J]. ACS Med Chem Lett, 2024, 15: 1677-1684.

[42] McGowan D, Herschke F, Pauwels F, et al. Novel pyrimidine Toll-like receptor 7 and 8 dual agonists to treat hepatitis B virus [J]. J Med Chem, 2016, 59: 7936-7949.

[43] Beesu M, Salyer ACD, Brush MJH, et al. Identification of high-potency human TLR8 and dual TLR7/TLR8 agonists in pyrimidine-2,4-diamines [J]. J Med Chem, 2017, 60: 2084-2098.

[44] Song Y, Fan WJ, Yao C, et al. Design, synthesis and biological evaluation of quinazoline and pyrrolo 3, 2 -pyrimidine derivatives as TLR7 agonists for antiviral agents [J]. Org Biomol Chem, 2024, 22: 2764-2773.

[45] Li YY, Wang ZS, Hou Y, et al. Novel TLR7/8 agonists promote activation of HIV-1 latent reservoirs and human T and NK cells [J]. Front Microbiol, 2023, 14: 1033448.

[46] Kim JH, Lee Y, Ahn S, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of aryl pyrazolopyrimidines as toll - like receptor 7 agonists [J]. Chem Biol Drug Des, 2025, 105: e70056.