

干扰素调节因子调控巨噬细胞极化及其在疾病中的作用研究进展

郝舒姝^{1,2}, 姜晨晨¹, 冯黎黎^{1*}

(1. 南京医科大学药学院, 江苏省心脑血管药物重点实验室, 江苏 南京 211166; 2. 南京医科大学口腔医学院, 江苏 南京 211166)

摘要: 巨噬细胞具有高度异质性和可塑性。在不同类型疾病或者同一疾病的不同阶段, 巨噬细胞能够进行表型转化, 从而发挥不同的功能。因此, 针对不同疾病对巨噬细胞表型进行干预的治疗策略正在成为攻克炎症性疾病、自身免疫疾病及肿瘤等疾病的新手段, 其极化调控机制的研究显得越来越重要。干扰素调节因子 (interferon regulatory factors, IRFs) 在调控巨噬细胞成熟及表型分化等方面发挥着重要作用。本文将根据近年的研究进展, 对 IRFs 的蛋白结构以及激活模式进行总结, 在此基础上对 IRFs 家族各个分子通过调控巨噬细胞表型参与疾病进程的作用机制、信号调控网络以及靶向药物研发前景展开综述, 为相关疾病治疗探索新的潜在靶标。

关键词: 干扰素调节因子; 巨噬细胞极化; 炎症性疾病; 药物靶标

中图分类号: R967 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)04-0939-10

Interferon-regulatory factors regulate macrophage polarization and its role in diseases

HAO Shu-shu^{1,2}, JIANG Chen-chen¹, FENG Li-li^{1*}

(1. Key Laboratory of Cardiovascular and Cerebrovascular Medicine, School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 2. School of Stomatology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China)

Abstract: Macrophages are highly plastic and heterogeneous. In different types of inflammatory diseases, or at different stages of the same disease, macrophages can undergo phenotypic transformation to elicit different functions. Hence, exploring new regulatory mechanism of macrophage polarization and seeking for new key mediators will lay the foundation for the diagnosis and treatment of macrophage-related diseases, such as inflammatory diseases, autoimmune diseases, and cancer. Interferon regulatory factors (IRFs) have been reported to play an important role in the maturation and differentiation of macrophages. In this review, we will describe the structure and modulation pattern of IRFs, and then further summarize the molecular mechanism and signal regulation network of IRFs in pathological processes of related diseases through controlling macrophage polarization. Our review will explore the new therapeutic strategy and potential drug targets for related diseases.

Key words: interferon regulatory factor; macrophage polarization; inflammatory disease; drug target

巨噬细胞作为固有免疫系统的重要组成成分, 其功能研究一直受到广泛关注。巨噬细胞在受到不同微环境刺激时会活化为不同的表型, 发挥不同的功能。

其中 Th1 型细胞因子 [主要是干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)] 以及微生物刺激 [主要是脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)] 诱导产生的巨噬细胞称为经典活化的巨噬细胞 (classical activation of macrophages, CAMs), 也称为 M1 型细胞; Th2 型细胞因子 [主要包括白细胞介素 (interleukin, IL)-4、-13] 活化的巨噬细胞, 称为替代活化的巨噬细胞 (alternative activation of macro-

收稿日期: 2020-11-17; 修回日期: 2021-02-04.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003764); 江苏省高校自然科学基金项目 (19KJB350001).

*通讯作者 Tel: 86-25-86868467, E-mail: fenglilinjmu@njmu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1773

phages, AAMs), 也称为M2型巨噬细胞。然而, 生理或者病理条件下, 巨噬细胞可以处于M1和M2型之间的任意形态^[1]。

巨噬细胞的极化过程受到多种调控方式的影响, 包括基因转录水平、转录后水平以及翻译后蛋白修饰等多个环节, 并且相互交叉形成调控网络。诱导巨噬细胞M1极化的刺激因子主要有Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)配体和IFN- γ ^[2]。其中, IFN- γ 作用于巨噬细胞时首先与位于细胞膜的干扰素受体(IFN- γ receptor, IFNGR)结合, 招募接头蛋白Jak1(Janus kinase 1)和Jak2。Jak2自身磷酸化活化后激活下游转录因子STAT1(signal transducers and activators of transcription 1)和IRFs, 通常为IRF-1和IRF-8, 入核行使转录功能。此外, TLR2、TLR4与配体结合之后可以引起IRF-3、IRF-5等转录因子激活^[3]。另一方面, 多种刺激因子可诱导M2型巨噬细胞极化, 包括IL-4/IL-13、IL-10、糖皮质激素以及Fc γ R(Fc γ receptor)配体。IRFs家族大多参与巨噬细胞的极化过程, 其中IRF-1、-5、-8和-9参与介导M1型巨噬细胞的极化, IRF-4参与M2型巨噬细胞的极化。鉴于IRFs家族蛋白在不同功能表型巨噬细胞极化过程中的重要作用, 靶向调控特定IRFs分子的功能可能为相关疾病提供新的治疗思路。本文将概述IRFs对巨噬细胞功能以及不同疾病病理进程的影响, 探索IRFs关联信号作为疾病治疗靶标的潜在可能性及药物研发进展。

1 IRFs家族

1.1 IRFs蛋白结构与功能

哺乳动物IRFs蛋白家族包含IRF-1至IRF-9共9个成员, 最初是作为I型干扰素的转录因子被发现的^[4], 参与多种免疫细胞的功能调节, 在生理以及病理状态均发挥重要作用^[5]。IRFs蛋白由300~500个氨基酸(amino acid, aa)组成, 具有相似的分子结构, 其氨基端(N-末端)为保守的DNA结合结构域(DNA binding domain, DBD), 该区域含有5个色氨酸重复序列(如图1蓝色结构所示), 负责与IFN刺激响应元件(IFN-stimulated response element, ISRE)结合, 启动相关基因表达^[6]; 在DBD区域内或者相邻部位, 大多数IRFs含有核定位序列(nuclear localization site, NLS, 如图1红色结构所示), 提供将IRFs运送到细胞核所需的信号。其后是调节结构域(regulatory domain, 如图1米色结构所示)^[6], 与IRFs的活性调节密切相关; IRF-2、-3、-4、-5以及-7还含有自抑制结构域(autoinhibitory domain, AID, 如图1紫色结构所示)^[7-9], 静息状态时负责抑制其转录活性, 在与上游信号蛋白结合或者修饰之后调控IRFs的活化状态。其中, IRF-3在N-末端和羧基端(C-末端)各有一个AID, IRF-2、IRF-5和IRF-7仅在C-末端具有一个AID^[7,9], IRF-4 C-末端的AID结构上具有一定的灵活性, 可以充当与转录因子PU.1(PU box binding protein; PU box: a purine-rich DNA sequence)相互作用的开放结合口袋^[8]。IRFs的不同功能主要由C-末端的特异性所赋予, 除



Figure 1 Molecular structure of interferon regulatory factors (IRFs). IAD: IRF association domain

IRF-6 外, 其他 IRFs 的 C-末端包含 IRF 结合结构域 (IRF association domain, IAD, 如图 1 墨绿色结构所示), 介导自身结合形成二聚体, 或者与本家族其他成员或其他转录因子形成异源二聚体或复合物进行信号传导。IAD 包括 IAD1 和 IAD2 两类, 其中, IAD2 由 PEST 结构域 (proline-, glutamic acid-, serine-, threonine-rich domain, 富含脯氨酸、谷氨酸、丝氨酸和苏氨酸) 组成; IAD1 为位于其他 IRFs C-末端的一段约含有 180 个氨基酸残基的保守序列; IRFs 通过 IAD 结构域与其他 IRFs 或者转录因子 (例如 PU.1、E47 等) 形成复合物, 从而激活自身转录活性并与目的基因结合^[10-13]。IRF-5 和 IRF-7 具有核输出信号 (nuclear export signal, NES, 如图 1 橙色竖条所示), 在静息状态时将蛋白定位在细胞浆, 因此 NES 与 NLS 控制不同状态下蛋白的核-质穿梭过程^[14]。此外, IRF-1、-2、-3、-5、-7 和 -8 还含有不同的磷酸化位点, 可经过磷酸化修饰调控其活性, 其中 IRF-1 在 IAD 和调节结构域各有一个磷酸化位点, IRF-2 和 -8 磷酸化位点位于 IAD 区域, 而 IRF-3、-5 和 -7 的磷酸化位点位于 C-末端自抑制结构域^[11,15-17]。

通过调控干扰素及其他细胞因子的基因表达, IRFs 家族蛋白可调控巨噬细胞等免疫细胞的发育及活化状态。作为转录因子, IRFs 通过自身保守的 DBD 结构域特异性调控启动子或增强子含有 *ISRE* 的基因转录过程, 其中, IRF-1、IRF-3 以及 IRF-7 可以直接结合目的序列, 而 IRF-4 与 IRF-8 需要通过 IAD 与其他转录因子形成复合物才可以有效结合 DNA 并启动转录^[12,18,19]。机体免疫细胞在受到病原体或者其他危险信号刺激之后, 胞内 IRFs 与 NF- κ B (nuclear factor κ B)、ATF2/c-Jun (cyclic AMP-dependent transcription factor 2/c-Jun)、STAT1 等转录因子共同启动干扰素以及促炎/抗炎细胞因子的基因转录过程^[11,20]。然而, 由于刺激分子以及细胞种类不同, 最终的基因转录谱也会有所差别。因此, IRFs 的主要功能在于通过调控自身活性以及与不同的转录因子形成复合物之后启动不同的基因转录过程, 从而触发不同的免疫反应, 对机体起到保护作用。

1.2 IRFs 活性调节模式 除 IRF-6 外, 其他 IRFs 均为组成型表达, 在特定的胞外刺激下可进一步诱导表达, 蛋白水平瞬时升高。然而, IRFs 仍需要经过蛋白修饰后激活并转位到细胞核诱导相关基因表达, 主要的蛋白修饰途径有磷酸化和泛素化修饰, 还可以通过乙酰化等修饰方式直接改变与 DNA 的亲合性。其中, IRF-3、-5 和 -7 可通过 C-末端 Ser 残基的磷酸化激活, IRF-1、-2、-4 和 -8 也存在磷酸化修饰, 但尚未证实是否为调节转录活性所必需^[21]。

IRF-3 C-末端具有 Ser385/Ser386 和 Ser396/398/402/405/Thr404 两组磷酸化位点, 它们同时磷酸化才能完全激活 IRF-3^[22]。这一磷酸化过程受激酶和磷酸酶共同调控, 如 TRIF (TIR domain-containing adapter-inducing IFN) 依赖性信号通路中 TBK1 (TANK-binding kinase 1) 和 IKK ϵ (inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase ϵ) 介导 IRF-3 的磷酸化激活, 而蛋白磷酸酶 1 (protein phosphatase 1, PP1) 可以直接和 IRF-3 结合使 Ser385 和 Ser396 残基发生去磷酸化从而负调控其活性^[23]。此外, IRF-3 的磷酸化也可负向调控自身的活性状态。Mst1 (mammalian sterile 20-like kinase 1) 是第一个被发现对 IRF-3 进行负调控的激酶。Mst1 介导 IRF-3 Thr75 和 Thr253 残基磷酸化, 其中, Thr253 磷酸化使得 IRF-3 构象产生空间位阻和静电排斥, 抑制其发生二聚化从而阻断 IRF-3 入核行使转录因子功能; Thr75 残基位于核定位序列附近, 这一位点磷酸化阻碍 IRF-3 的核定位以及与 DNA 的结合^[24,25]。IRF-7 与 IRF-3 结构类似, 在病毒感染的情况下, IRF-7 也可以经由 TBK1 和 IKK ϵ 介导磷酸化入核之后诱导 IFN- α/β 表达^[26,27]。然而, IRF-7 在 TLR7/TLR9 途径中的激活主要依赖 MyD88 (myeloid differentiation primary response protein 88) 和 IRAK1/2/4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 1/2/4) 信号复合物所介导的磷酸化, 而非 TBK1 和 IKK ϵ ^[27,28]。IRF-5 在生物学效应上和 IRF-3 相似, 它们的活性调节模式也近乎相同。受体相互作用蛋白 (receptor-interacting protein, RIP) 家族的 RIP2 和 IKK 家族的 TAK1、TBK1、IKK α 、IKK β 、IKK ϵ 介导 IRF-5 磷酸化, 其中 IKK β 通过催化 Ser462、Ser445 残基磷酸化诱导 IRF-5 移位到细胞核行使转录功能^[29,30]。然而, IKK α 对 IRF-5 的磷酸化修饰可通过阻碍 TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6) 介导的 IRF-5 K63 泛素化过程, 进而阻止 IRF-5 的入核, 最终导致对 I 型干扰素以及炎症因子的抑制效应^[31,32]。

泛素化过程是由 E1 泛素激活酶、E2 泛素结合酶和 E3 泛素连接酶介导的三酶级联反应, E3 泛素连接酶最为重要, 它决定了泛素化的特异性, 其中 K63 形式连接的泛素化修饰多介导蛋白的激活, 而 K48 泛素化修饰则介导蛋白酶体途径降解^[31,33,34]。E3 泛素连接酶如 TRAF6 和 pelino-1 可引起 IRF-5 的 K63 位泛素化。其中, 在 MyD88 依赖的 TLR 途径, TRAF6 介导 IRF-5 的 Lys410 和 Lys411 位点发生 K63 泛素化, 若将这两个氨基酸位点突变, IRF-5 将无法入核行使转录功能^[31]。此外, 在 LPS/IFN- γ 刺激下, pelino-1 也可以直接结合于 IRF-5 并介导其发生 K63 泛素化活化, 从而将巨噬细胞极化为 M1^[35]。K48 形式的泛素化则通过介导

IRFs的蛋白酶体途径降解起到负调控其活性的作用,如病毒感染诱导 TRIM26 (tripartite motif containing protein 26) 进入细胞核介导 IRF-3 在核内发生 K48 泛素化降解,从而终止 IRF-3 的功能,降低 IFN- α 和 IFN- β 的产生,而且这一过程只发生在细胞核内,位于细胞核内的 IRF-3 或者磷酸化活化形式的 IRF-3 均可由 TRIM26 进行 K48 泛素化标记后降解,缺少核定位序列的 IRF-3 则不能被 TRIM26 降解,这保证了 IRF-3 活性负调控过程的精确性^[34]。此外,IRFs 可以同时进行磷酸化和泛素化,共同调控其活性。文献报道,在受到外界刺激之后,胞内 IRF-1 表达水平瞬时升高并转位入核,此时, GSK3 β 介导结合于 DNA 的 IRF-1 在 T181 位点发生磷酸化,这一磷酸化基团被与泛素-蛋白酶体降解机制相关的受体蛋白识别,最终导致 IRF-1 由具有转录功能到降解的转化过程^[36]。

IRFs 在适应性免疫和天然免疫反应中均起到重要作用,其活性受到严格而精细的调控,从而保证在机体受到病原微生物入侵或其他损伤时启动适当的防御反应,并避免不适合的激活对机体造成损害。

2 IRFs 对巨噬细胞功能表型的调控作用

2.1 参与介导促炎表型巨噬细胞 (M1) 的 IRFs

IRFs 家族有 7 个成员 (IRF-1、-2、-3、-4、-5、-8 和 -9) 参与巨噬细胞的极化过程,其中 IRF-1、-5、-8 和 -9 参与介导 M1 型细胞极化 (图 2)。IRF-1 在静息状态的巨噬细胞中处于较低的表达水平,在受到炎症信号刺激时被激活转位到细胞核启动相关炎症因子的表达,包括分泌型白细胞蛋白酶抑制剂 (secretory leucocyte protease inhibitor, SLPI)、IL-12p35 和 IL-12p40 等^[37-39]。此外,IRF-1 和 NF- κ B 协同增强促炎细胞因子基因表达,最终使得巨噬细胞极化为 M1 表型^[40]。另外,也有文献报道 IRF-1 和 IRF-2 可以与 *IL-4* 基因启动子结合,充当 *IL-4* 启动子的阻遏物,从而抑制巨噬细胞极化为 M2 表型^[41]。

IRF-5 受 TLR、RIG-I 样受体 (RIG-I like receptors, RLRs) 和 NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLRs) 等模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 相关多种促炎信号的刺激而被诱导激活,促进 *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-12* 和 *Tnf* 等 M1 相关基因的表达,抑制 *IL-10* 和 *Mrc1* 等 M2 相关基因的表达,在 M1 型巨噬细胞极化中起到重要作用^[42-45]。巨噬细胞可以通过 TLR4-MyD88 通路激活 IRF-5,进而极化为 M1 表型^[46]。Hedl 等^[47]发现使用细菌肽聚糖成分胞壁酰二肽 (muramyl dipeptide, MDP) 作用于 NOD2 (PRR 的一种) 之后诱导 IRF-5 磷酸化激活,活化的 IRF-5 进一步通过激活 Akt2 同时增强糖酵解及促进巨噬细胞产生促炎因子,这一发现可能为探

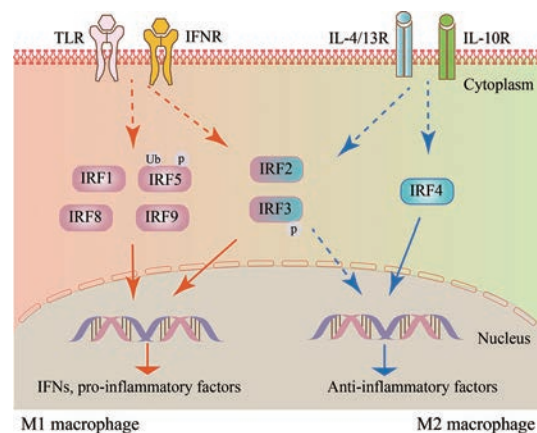


Figure 2 IRFs participated in macrophage polarization. TLR: Toll-like receptor; IFNR: Interferon receptor; IL-4/13R: Interleukin 4/13 receptor; IL-10R: Interleukin 10 receptor; IFNs: Interferons; Ub: Ubiquitination; p: Phosphorylation

究代谢与免疫细胞表型生成的相互作用机制提供新的关键联结点。

以往的研究发现,IRF-8 不仅在造血干细胞分化为巨噬细胞的过程中发挥重要作用,并且参与调控巨噬细胞的表型可塑性,这是由于 IRF-8 结合于不同的 DNA 序列所引起的。在静息状态的巨噬细胞中,IRF-8 通过与 PU.1 形成复合物控制维持巨噬细胞基本功能的基因的表达;在 LPS 刺激后,IRF-8 与 IRF-1、API (activating protein-1) 相互作用,结合至新启动子上,诱导促炎细胞因子的表达,包括 IFN- β 、IL-12p40 和 IL-12p35 等,使巨噬细胞表现为促炎表型^[48]。另有研究发现,IRF-8 是 Notch-RBP-J (recombining binding protein suppressor, RBP-J) 通路调控 M1 型巨噬细胞的下游靶点^[49]。*Irf-8* 基因敲除小鼠的相关实验结果进一步证实 IRF-8 对巨噬细胞促炎表型的影响,与野生型小鼠相比,*Irf-8* 基因敲除小鼠外周器官 (包括骨髓、脾脏和外周血) 促炎表型的单核/巨噬细胞明显减少,而且在病毒感染之后,浸润进入炎症部位的 M1 型巨噬细胞也明显减少,这些结果表明 IRF8 通过介导巨噬细胞的 M1 极化参与机体炎症过程^[50,51]。

在 I 型和 II 型 IFN 刺激下,IRF-9 与 STAT1、STAT2 形成三元复合物,称为干扰素刺激基因因子 3 (IFN-stimulated gene factor-3, ISGF3),结合于 *ISRE* 和干扰素刺激基因 (interferon-stimulated gene, *ISG*) 启动子区域,诱导促炎因子的表达^[52]。然而,近期研究表明,在不存在干扰素刺激的静息状态,巨噬细胞 IRF-9 与 STAT2 形成复合物,维持本底状态的 ISGs 表达水平;IFN 刺激时迅速诱导形成 ISGF3,强烈启动 ISGs 表达^[53],引起巨噬细胞极化为 M1 表型。此外,文献报道, microRNA93

可通过抑制 IRF-9 将缺血性肌肉组织浸润的巨噬细胞极化为 M2 表型, 从而增强外周动脉病变小鼠的动脉修复以及血管再生^[54]。

2.2 参与介导抗炎表型巨噬细胞 (M2) 的 IRFs IRFs 家族主要有 IRF-3 和 IRF-4 参与 M2 巨噬细胞的极化, 其中 IRF-4 是 M2 巨噬细胞极化的关键调节因子, 但具体作用机制尚未完全阐明。

脊髓损伤模型小鼠使用低剂量 LPS 预处理可改善机体免疫状态, 对机体起到一定的保护作用, 其机制在于低剂量 LPS 预处理会激活脑内小胶质细胞 IRF-3 的转录活性, 此时 IRF-3 激活引起抗炎因子 IL-10 的表达水平上调, 从而使得巨噬细胞极化为 M2 表型^[55]。此外, 小胶质细胞 IRF-3 还可通过激活 PI3K/Akt 信号抑制促炎因子 IL-1 α 、IL-1 β 、TNF α 、IL-6、IL-8 和 CXCL1 (C-X-C motif chemokine ligand 1) 的表达, 同时增强抗炎因子 IL-10 的表达, 最终引起巨噬细胞表型从 M1 型向 M2 型的转换^[56]。

M2 型巨噬细胞刺激因子 IL-4 可诱导 IRF-4 蛋白表达水平明显上调^[57], 同时, M2 型巨噬细胞相关基因的表达也依赖于 IRF-4 的存在, 包括 Arg1、Ym1 和 Fizz1 等^[58], 这些研究结果表明 IRF-4 是介导巨噬细胞极化为 M2 表型的关键分子。而且, IRF-4 的基因表达水平受到去甲基化酶 Jmjd3 (Jumonji domain containing-3) 控制^[58]。此外, 同为巨噬细胞极化的关键调节因子, IRF-4 常与 IRF-5 竞争结合 MyD88, 从而促进细胞极化为 M2 而非 M1 表型^[59]。

2.3 其他 IRFs IRF-2 和 IRF-1 蛋白结构具有一定的同源性, 在目的基因的启动子中识别相同的调控元件, IRF-2 可通过与 IRF-1 竞争这些位点的结合来抑制 IRF-1 介导的基因转录过程^[60], 因此 IRF-2 对 M1 巨噬细胞的极化有一定的抑制作用, 并对 IRF-1 诱导的炎症和肝脏损伤具有保护作用^[61]。但 IRF-2 在巨噬细胞极化中的作用较为复杂, 一方面如上所述, IRF-2 通过与 IRF-1 竞争抑制 M1 型巨噬细胞的极化。另一方面也有文献报道, IRF-2 缺失导致 LPS 刺激巨噬细胞产生的 IL-1、IL-6 和 IL-12 等促炎因子减少^[62]。此外, 在感染性疾病中, IRF-2 促进巨噬细胞介导的炎症^[63]; 而在无菌性炎症中则表现出抗炎特性^[61]。与之类似, IRF-3 通过参与 TLR3、TLR4 信号通路转录 IFN β 以及其他促炎因子介导巨噬细胞极化为 M1 表型^[64,65], 然而, IRF-3 在有些病理条件下也可以激活抗炎因子 IL-10 的表达, 使巨噬细胞表现为 M2 表型^[55]。这可能是因为在不同的上游信号刺激下, IRF-3 产生了不同的激活形式, 从而对目的基因的亲和力有所差别。

3 巨噬细胞 IRFs 对相关疾病进展的影响

3.1 炎症性疾病 在炎症反应中, M1 型巨噬细胞出现在初始阶段, M2 型巨噬细胞则在炎症消退过程中占主导地位, 这两种巨噬细胞的相继出现可以保护机体免受病原体入侵并且在恰当的时机终止炎症并修复组织^[1]。鉴于 IRFs 对巨噬细胞极化的重要调节作用, 探究 IRFs 的详细作用机制及活性调控特点, 精细控制其激活模式, 可能为相关疾病提供新的治疗策略。

IRF-5 可通过介导巨噬细胞 M1 极化参与炎症性疾病的病理过程^[42,66-68]。Dong 等^[69]发现多壁碳纳米管诱导小鼠肺部发生明显的急性炎症反应和纤维化, 并且随着疾病进展, 肺脏巨噬细胞表型呈现时间依赖性的变化, 其中, M1 型细胞相关指标在刺激之后 3 天达到顶峰 (炎症状态), 之后 M2 型细胞相关指标明显升高并持续维持在较高水平 (纤维化)。相应地, p-STAT1 和 IRF-5 在刺激之后 3 天达到较高表达水平, 介导巨噬细胞极化为促炎表型, 随后下降; 而 p-STAT3、p-STAT6 以及 IRF-4 在 3 天之后明显升高, 将巨噬细胞逆转为 M2 表型, 导致小鼠产生肺部纤维化, 因此, IRF-5/IRF-4 的活性平衡可能是肺部炎症-纤维化进展的关键调节点。Wei 等^[70]发现新生儿坏死性小肠结肠炎 (necrotizing enterocolitis, NEC) 患者肠道组织浸润的巨噬细胞 IRF-5 表达水平明显升高, 而且升高的 IRF-5 结合于 *Ccl4*、*Ccl5*、*Tnf* 以及 *Il-12b* 等 M1 型细胞相关炎症因子启动子, 诱导肠道浸润巨噬细胞极化为 M1 表型, 破坏肠道屏障功能; 而髓系细胞特异性敲除 *Irf-5* 基因可通过抑制巨噬细胞的 M1 表型缓解实验性 NEC 小鼠的炎症反应, 维持其肠道屏障功能完整。

与 IRF-5 不同, IRF-1 在炎症疾病中对巨噬细胞的调控方式更为多样。来自全基因组关联分析 (genome wide association study, GWAS) 的最新数据证实 IRF-1 是炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 的潜在致病因子, 在 IBD 患儿和 IBD 模型小鼠基因组中都检测到了 IRF-1 的高表达^[30]; 同样, 急性冠脉综合征 (acute coronary syndromes, ACS) 患者体内较高的 ROS 激活 PBMC (peripheral blood mononuclear cell) 来源的巨噬细胞中 IRF-1, IRF-1 进而通过激活氧化型低密度脂蛋白诱导巨噬细胞焦亡以及炎症小体活化, 促进疾病进展^[71]。在 IFN- γ 刺激条件下, 巨噬细胞内转录因子复合物 IRF-8/IRF-1/STAT1/PU.1 启动 *Tnf*、*Nos2* 等促炎因子的转录过程, 引起细胞的 M1 极化, 然而, 巨噬细胞 IRF-8/IRF-1 还调控多种基因的转录, 参与肺结核等感染性疾病以及肠炎等慢性炎症性疾病进程^[72]。

因此, IRFs 的表达或活性异常往往与免疫系统以及炎症性疾病的发生发展密切相关, 深入研究 IRFs 的

功能特点,寻找潜在的可调控位点,为炎症性疾病的治疗探索新的思路。

3.2 自身免疫性疾病 IRFs在病原体诱导的先天免疫反应和适应性免疫反应中起关键作用,IRFs信号失调被认为是自身免疫性疾病的发病机制之一。自身免疫性疾病包括IBD、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)和干燥综合征(sicca syndrome, SS)等^[73]。因巨噬细胞表型在自身免疫性疾病中表现得十分多样,IRFs对疾病进展的影响也错综复杂。通过GWAS分析已经发现了多个与RA发病机制相关的易感基因位点,IRF-5是其中较为重要的一个^[74],RA患者滑膜包含有较多活化的巨噬细胞(30%~40%)和T细胞(约30%),滑膜组织IRF-5表达水平明显上调,M1型巨噬细胞相关指标IL23、DR5也明显升高,促进关节炎的进展,最终导致关节软骨和骨损伤^[75];另一方面,临床研究表明,与健康人群相比,RA患者IRF-5基因启动子甲基化水平显著升高,而且这一特征在不同严重程度及接受不同治疗的患者之间差异不显著,表明IRF-5基因多态性可能成为预测疾病风险的潜在指标^[76]。SLE患者的相关研究揭示了IRF-5也是该疾病的易感基因^[77]。此外,SLE疾病状态下IRF-5表达和活性上调引起M1型巨噬细胞极化、Th1/Th17细胞增加,血清炎症因子水平升高,机体炎症状态失控,使得疾病进一步恶化^[78]。

3.3 肿瘤 越来越多的研究表明,肿瘤组织中含有大量肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM),而且其表型与患者预后密切相关,M1型巨噬细胞与M2型巨噬细胞的比例越高,患者存活率越高,可能是因为M2巨噬细胞促进肿瘤细胞的侵袭和迁移以及肿瘤组织的血管生成,从而导致预后不良和疾病的恶性进展^[79]。

IRFs不仅是免疫反应的关键调节因子,也参与细胞存活、凋亡和分化等过程,其中肿瘤细胞的IRF-1是一种抑癌基因,与多种人类肿瘤相关,IRF-1染色体变异是白血病的常见原因之一^[80]。巨噬细胞IRFs主要通过调控巨噬细胞功能表型参与肿瘤进展。前文提到,IRF-1与IFN- β 可能存在相互作用,并且参与IRF-5调控的M1型巨噬细胞极化,此外,在LPS和IFN- γ 刺激条件下,不论是抑制IRF-1或者IFN- β ,巨噬细胞培养上清均可促进肿瘤细胞增殖及侵袭,表明IRF-1参与巨噬细胞的M1极化过程并具有抗肿瘤功能^[80]。IRFs还可以通过促进巨噬细胞分泌一氧化氮(nitric oxide, NO)杀伤肿瘤,Nascimento等^[81]探究腹腔巨噬细胞对L929纤维肉瘤细胞系的体内和体外细胞毒活

性,发现在缺失IRF-1的情况下,巨噬细胞在体内外都无法产生NO杀死肿瘤细胞,表明腹腔巨噬细胞对L929的直接接触杀伤作用依赖于IRF-1的存在。

IRF-3和IRF-7具有相似的活性特征,二者都是较强的IFN- α/β 表达诱导因子,而IFN- α/β 可以帮助增强抗肿瘤功效^[82]。借助重组腺病毒将活性形式的Irf-7转染原代巨噬细胞也可以增强其体内抗肿瘤活性,机制在于既可以直接诱导I型干扰素的产生,还可以通过产生的细胞因子招募其他免疫细胞,同时抑制肿瘤转移和血管新生相关基因表达,多方面机制协同作用杀伤肿瘤细胞;然而,转染活化形式的Irf-3则会导致巨噬细胞的死亡,推测IRF-3可能通过其他的作用机制发挥抗肿瘤功能^[83,84]。

乏氧是肿瘤微环境的一个重要特征。研究发现,在乏氧条件下,巨噬细胞IRF-8水平明显上调,诱导趋化因子CCL4(C-C motif chemokine ligand 4)分泌增多,作用于胶质瘤细胞表面的CCR5(C-C chemokine receptor 5)受体,进而导致胶质瘤细胞MMP9(matrix metalloproteinase 9)表达增多,侵袭能力增强,促进了肿瘤细胞的恶性进展^[85]。尽管乏氧条件下巨噬细胞IRF-8的调控方式尚未明确,这一研究揭示了IRF-8在肿瘤细胞-巨噬细胞信息交流过程中的重要作用。

4 基于IRFs的药物研究进展

目前,针对巨噬细胞IRFs的治疗策略还没有正式应用于临床,但是,已经有很多研究证实一些临床药物或者小分子化合物可以通过间接调控IRFs对疾病起到改善作用。这些调节分子可以通过作用于TLRs或者IFNRs通路上游信号分子,阻断信号传导过程,或者抑制IRFs与其他信号蛋白的相互作用,从而抑制IRFs发挥功能^[11]。抗精神失常药物如舍曲林、三氟拉嗪和氟非那嗪,可特异性抑制TLR3-IRF-3信号通路^[86];抗生素四环素可以抑制小胶质细胞内IRF-1的核易位过程改善小鼠自身免疫性脑脊髓炎^[87];免疫调节剂来氟米特可以抑制成纤维细胞IRF-1的表达,但是对巨噬细胞IRF-1作用不明显^[88]。

近年来,提取自传统中草药的活性小分子化合物受到越来越多的关注,其中,很多活性化合物对IRFs具有一定的调节作用。黄酮类化合物木犀草素可抑制小胶质细胞IRF-1和STAT1的转录活性,从而改善脑部炎症^[89];百里香醌通过靶向作用于TBK1抑制IRF-3的活性,最终抑制巨噬细胞分泌促炎细胞因子^[90];具有麻醉活性的四氢大麻酚和大麻二酚可抑制TLR3/4通路IRF-3的激活过程,降低巨噬细胞表达相应的促炎因子^[91];牡丹皮提取物中的多种活性成分可通过抑制NF- κ B和IRF-3降低巨噬细胞的M1表型,改善小鼠结

肠炎^[92]。因此, 针对 IRFs 设计特异性小分子化合物, 阻断相关信号通路的传导过程具有较好的临床应用前景。研究者需要进一步探究 IRFs 的活性调节模式以及 DNA 相互作用的结构基础, 解析 IRFs 参与疾病进展的详细机制, 为 IRFs 抑制剂的研发铺平道路。

5 展望

巨噬细胞在生理状态和疾病进展过程中表现出细胞功能的高度可塑性, 正在成为治疗相关疾病的新的潜在靶细胞, 精确调节巨噬细胞活化对控制疾病进展和维持组织稳态至关重要。越来越多的研究证明, 一些临床药物以及活性小分子化合物可以通过调控巨噬细胞 IRFs 活性影响疾病进程, 这为相关疾病提供了新的治疗策略。IRFs 与其他转录因子形成复合物之后结合到目的基因行使转录功能, 基于此, DBD 和 IAD 可能是设计特异性小分子抑制剂的理想潜在位点。但是, 由于 IRFs 分布较为广泛, 活性调节模式复杂多变, 为特异性抑制剂的研发带来了一定的困难。因此, 还需要进一步探究 IRFs 的结构特点、活性调节机制以及参与的信号通路网络, 准确把握巨噬细胞 IRFs 在炎症性疾病、自身免疫性疾病和肿瘤等疾病进展中的作用模式, 这将有助于加深研究者对相关疾病的理解, 同时为开发疗效更好、不良反应更小的靶向药物奠定基础。

作者贡献: 郝舒姝、姜晨晨负责综述的文献收集、撰写以及示意图的绘制工作; 冯黎黎负责文章思路设计及文字修改。

利益冲突: 本文所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Ginhoux F, Schultze JL, Murray PJ, et al. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17: 34-40.
- [2] Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions [J]. *Immunity*, 2010, 32: 593-604.
- [3] Wang F, Zhang S, Jeon R, et al. Interferon gamma induces reversible metabolic reprogramming of M1 macrophages to sustain cell viability and pro-inflammatory activity [J]. *EBio-Medicine*, 2018, 30: 303-316.
- [4] Miyamoto M, Fujita T, Kimura Y, et al. Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN-beta gene regulatory elements [J]. *Cell*, 1988, 54: 903-913.
- [5] Negishi H, Taniguchi T, Yanai H. The interferon (IFN) class of cytokines and the IFN regulatory factor (IRF) transcription factor family [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, 10: a028423.
- [6] Escalante CR, Yie J, Thanos D, et al. Structure of IRF-1 with bound DNA reveals determinants of interferon regulation [J]. *Nature*, 1998, 391: 103-106.
- [7] Chen W, Royer WE. Structural insights into interferon regulatory factor activation [J]. *Cell Signal*, 2010, 22: 883-887.
- [8] Remesh SG, Santosh V, Escalante CR. Structural studies of IRF4 reveal a flexible autoinhibitory region and a compact linker domain [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 27779-27790.
- [9] Yamamoto H, Lamphier MS, Fujita T, et al. The oncogenic transcription factor IRF-2 possesses a transcriptional repression and a latent activation domain [J]. *Oncogene*, 1994, 9: 1423-1428.
- [10] Meraro D, Hashmueli S, Koren B, et al. Protein-protein and DNA-protein interactions affect the activity of lymphoid-specific IFN regulatory factors [J]. *J Immunol*, 1999, 163: 6468-6478.
- [11] Antonczyk A, Krist B, Sajek M, et al. Direct inhibition of IRF-dependent transcriptional regulatory mechanisms associated with disease [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1176.
- [12] Li P, Wong JJ, Sum C, et al. IRF8 and IRF3 cooperatively regulate rapid interferon-beta induction in human blood monocytes [J]. *Blood*, 2011, 117: 2847-2854.
- [13] Szelag M, Piaszyk-Borychowska A, Plens-Galaska M, et al. Targeted inhibition of STATs and IRFs as a potential treatment strategy in cardiovascular disease [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 48788-48812.
- [14] Lin R, Yang L, Arguello M, et al. A CRM1-dependent nuclear export pathway is involved in the regulation of IRF-5 subcellular localization [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 3088-3095.
- [15] Thumbigere-Math V, Foster BL, Bachu M, et al. Inactivating mutation in IRF8 promotes osteoclast transcriptional programs and increases susceptibility to tooth root resorption [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34: 1155-1168.
- [16] Huang W, Horvath E, Eklund EA. PU.1, interferon regulatory factor (IRF) 2, and the interferon consensus sequence-binding protein (ICSBP/IRF8) cooperate to activate NF1 transcription in differentiating myeloid cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 6629-6643.
- [17] Lin R, Hiscott J. A role for casein kinase II phosphorylation in the regulation of IRF-1 transcriptional activity [J]. *Mol Cell Biochem*, 1999, 191: 169-180.
- [18] Mancino A, Natoli G. Specificity and function of IRF family transcription factors: insights from genomics [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2016, 36: 462-469.
- [19] van der Stoep N, Quinten E, Marcondes Rezende M, et al. E47, IRF-4, and PU.1 synergize to induce B-cell-specific activation of the class II transactivator promoter III (CIITA-PIII) [J]. *Blood*, 2004, 104: 2849-2857.
- [20] Neish AS, Read MA, Thanos D, et al. Endothelial interferon regulatory factor 1 cooperates with NF-kappa B as a transcriptional activator of vascular cell adhesion molecule 1 [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15: 2558-2569.
- [21] Sharf R, Meraro D, Azriel A, et al. Phosphorylation events modulate the ability of interferon consensus sequence binding protein

- to interact with interferon regulatory factors and to bind DNA [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 9785-9792.
- [22] Panne D, McWhirter SM, Maniatis T, et al. Interferon regulatory factor 3 is regulated by a dual phosphorylation-dependent switch [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 22816-22822.
- [23] Gu M, Zhang T, Lin W, et al. Protein phosphatase PP1 negatively regulates the Toll-like receptor- and RIG-I-like receptor-triggered production of type I interferon by inhibiting IRF3 phosphorylation at serines 396 and 385 in macrophage [J]. *Cell Signal*, 2014, 26: 2930-2939.
- [24] Meng F, Zhou R, Wu S, et al. Mst1 shuts off cytosolic antiviral defense through IRF3 phosphorylation [J]. *Genes Dev*, 2016, 30: 1086-1100.
- [25] Gao L, Wang L, Dai T, et al. Tumor-derived exosomes antagonize innate antiviral immunity [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19: 233-245.
- [26] Sharma S, tenOever BR, Grandvaux N, et al. Triggering the interferon antiviral response through an IKK-related pathway [J]. *Science*, 2003, 300: 1148-1151.
- [27] Ikushima H, Negishi H, Taniguchi T. The IRF family transcription factors at the interface of innate and adaptive immune responses [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2013, 78: 105-116.
- [28] Liu H, Zhou RH, Liu Y, et al. HIV infection suppresses TLR3 activation-mediated antiviral immunity in microglia and macrophages [J]. *Immunology*, 2020, 160: 269-279.
- [29] Lopez-Pelaez M, Lamont DJ, Peggie M, et al. Protein kinase IKK β -catalyzed phosphorylation of IRF5 at Ser462 induces its dimerization and nuclear translocation in myeloid cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111: 17432-17437.
- [30] Ren J, Chen X, Chen ZJ. IKK β is an IRF5 kinase that instigates inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111: 17438-17443.
- [31] Balkhi MY, Fitzgerald KA, Pitha PM. Functional regulation of MyD88-activated interferon regulatory factor 5 by K63-linked polyubiquitination [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 7296-7308.
- [32] Balkhi MY, Fitzgerald KA, Pitha PM. IKK α negatively regulates IRF-5 function in a MyD88-TRAF6 pathway [J]. *Cell Signal*, 2010, 22: 117-127.
- [33] Komander D, Rape M. The ubiquitin code [J]. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 203-229.
- [34] Wang P, Zhao W, Zhao K, et al. TRIM26 negatively regulates interferon-beta production and antiviral response through polyubiquitination and degradation of nuclear IRF3 [J]. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004726.
- [35] Kim D, Lee H, Koh J, et al. Cytosolic pellino-1-mediated K63-linked ubiquitination of IRF5 in M1 macrophages regulates glucose intolerance in obesity [J]. *Cell Rep*, 2017, 20: 832-845.
- [36] Garvin AJ, Khalaf AHA, Rettino A, et al. GSK3 β -SCFFBX7 α mediated phosphorylation and ubiquitination of IRF1 are required for its transcription-dependent turnover [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 4476-4494.
- [37] Maruyama S, Sumita K, Shen H, et al. Identification of IFN regulatory factor-1 binding site in IL-12 p40 gene promoter [J]. *J Immunol*, 2003, 170: 997-1001.
- [38] Liu J, Cao S, Herman LM, et al. Differential regulation of interleukin (IL)-12 p35 and p40 gene expression and interferon (IFN)-gamma-primed IL-12 production by IFN regulatory factor 1 [J]. *J Exp Med*, 2003, 198: 1265-1276.
- [39] Nguyen H, Teskey L, Lin R, et al. Identification of the secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) as a target of IRF-1 regulation [J]. *Oncogene*, 1999, 18: 5455-5463.
- [40] Carey M. The enhanceosome and transcriptional synergy [J]. *Cell*, 1998, 92: 5-8.
- [41] Elser B, Lohoff M, Kock S, et al. IFN-gamma represses IL-4 expression via IRF-1 and IRF-2 [J]. *Immunity*, 2002, 17: 703-712.
- [42] Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, et al. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12: 231-238.
- [43] Dalmas E, Toubal A, Alzaid F, et al. Irf5 deficiency in macrophages promotes beneficial adipose tissue expansion and insulin sensitivity during obesity [J]. *Nat Med*, 2015, 21: 610-618.
- [44] Feng D, Sangster-Guity N, Stone R, et al. Differential requirement of histone acetylase and deacetylase activities for IRF5-mediated proinflammatory cytokine expression [J]. *J Immunol*, 2010, 185: 6003-6012.
- [45] Lawrence T, Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11: 750-761.
- [46] Takaoka A, Yanai H, Kondo S, et al. Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors [J]. *Nature*, 2005, 434: 243-249.
- [47] Hedl M, Yan J, Abraham C. IRF5 and IRF5 disease-risk variants increase glycolysis and human M1 macrophage polarization by regulating proximal signaling and Akt2 activation [J]. *Cell Rep*, 2016, 16: 2442-2455.
- [48] Mancino A, Termanini A, Barozzi I, et al. A dual cis-regulatory code links IRF8 to constitutive and inducible gene expression in macrophages [J]. *Genes Dev*, 2015, 29: 394-408.
- [49] Xu H, Zhu J, Smith S, et al. Notch-RBP-J signaling regulates the transcription factor IRF8 to promote inflammatory macrophage polarization [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13: 642-650.
- [50] Gupta M, Shin DM, Ramakrishna L, et al. IRF8 directs stress-induced autophagy in macrophages and promotes clearance of *Listeria monocytogenes* [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6379.
- [51] Terry RL, Deffrasnes C, Getts DR, et al. Defective inflammatory monocyte development in IRF8-deficient mice abrogates migration to the West Nile virus-infected brain [J]. *J Innate Immun*, 2015, 7: 102-112.
- [52] Kessler DS, Veals SA, Fu XY, et al. Interferon-alpha regulates

- nuclear translocation and DNA-binding affinity of ISGF3, a multimeric transcriptional activator [J]. *Genes Dev*, 1990, 4: 1753-1765.
- [53] Platanitis E, Demiroz D, Schneller A, et al. A molecular switch from STAT2-IRF9 to ISGF3 underlies interferon-induced gene transcription [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 2921.
- [54] Ganta VC, Choi MH, Kutateladze A, et al. A microRNA93-interferon regulatory factor-9-immunoresponsive gene-1-itaconic acid pathway modulates M2-like macrophage polarization to revascularize ischemic muscle [J]. *Circulation*, 2017, 135: 2403-2425.
- [55] Hayakawa K, Okazaki R, Morioka K, et al. Lipopolysaccharide preconditioning facilitates M2 activation of resident microglia after spinal cord injury [J]. *J Neurosci Res*, 2014, 92: 1647-1658.
- [56] Tarassishin L, Suh HS, Lee SC. Interferon regulatory factor 3 plays an anti-inflammatory role in microglia by activating the PI3K/Akt pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 187.
- [57] El Chartouni C, Schwarzfischer L, Rehli M. Interleukin-4 induced interferon regulatory factor (Irf) 4 participates in the regulation of alternative macrophage priming [J]. *Immunobiology*, 2010, 215: 821-825.
- [58] Satoh T, Takeuchi O, Vandenbon A, et al. The Jmjd3-Irf4 axis regulates M2 macrophage polarization and host responses against helminth infection [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11: 936-944.
- [59] Negishi H, Fujita Y, Yanai H, et al. Evidence for licensing of IFN-gamma-induced IFN regulatory factor 1 transcription factor by MyD88 in Toll-like receptor-dependent gene induction program [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103: 15136-15141.
- [60] Harada H, Fujita T, Miyamoto M, et al. Structurally similar but functionally distinct factors, IRM and IRF2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes [J]. *Cell*, 1989, 58: 729-739.
- [61] Klune JR, Dhupar R, Kimura S, et al. Interferon regulatory factor-2 is protective against hepatic ischemia-reperfusion injury [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 303: G666-G673.
- [62] Cuesta N, Salkowski CA, Thomas KE, et al. Regulation of lipopolysaccharide sensitivity by IFN regulatory factor-2 [J]. *J Immunol*, 2003, 170: 5739-5747.
- [63] Fehr T, Schoedon G, Odermatt B, et al. Crucial role of interferon consensus sequence binding protein, but neither of interferon regulatory factor 1 nor of nitric oxide synthase for protection against murine listeriosis [J]. *J Exp Med*, 1997, 185: 921-931.
- [64] Loi P, Yuan Q, Torres D, et al. Interferon regulatory factor 3 deficiency leads to interleukin-17-mediated liver ischemia-reperfusion injury [J]. *Hepatology*, 2013, 57: 351-361.
- [65] Kumari M, Wang X, Lantier L, et al. IRF3 promotes adipose inflammation and insulin resistance and represses browning [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126: 2839-2854.
- [66] Yasuda K, Richez C, Maciaszek JW, et al. Murine dendritic cell type I IFN production induced by human IgG-RNA immune complexes is IFN regulatory factor (IRF)5 and IRF7 dependent and is required for IL-6 production [J]. *J Immunol*, 2007, 178: 6876-6885.
- [67] Steinhagen F, McFarland AP, Rodriguez LG, et al. IRF-5 and NF-kappaB p50 co-regulate IFN-beta and IL-6 expression in TLR9-stimulated human plasmacytoid dendritic cells [J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43: 1896-1906.
- [68] Ouyang X, Negishi H, Takeda R, et al. Cooperation between MyD88 and TRIF pathways in TLR synergy via IRF5 activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354: 1045-1051.
- [69] Dong J, Ma Q. Macrophage polarization and activation at the interface of multi-walled carbon nanotube-induced pulmonary inflammation and fibrosis [J]. *Nanotoxicology*, 2018, 12: 153-168.
- [70] Wei J, Tang D, Lu C, et al. IRF5 deficiency in myeloid cells prevents necrotizing enterocolitis by inhibiting M1 macrophage polarization [J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12: 888-896.
- [71] Guo M, Yan R, Yao H, et al. IFN regulatory factor 1 mediates macrophage pyroptosis induced by oxidized low-density lipoprotein in patients with acute coronary syndrome [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 2917128.
- [72] Langlais D, Barreiro LB, Gros P. The macrophage IRF8/IRF1 regulome is required for protection against infections and is associated with chronic inflammation [J]. *J Exp Med*, 2016, 213: 585-603.
- [73] Matta B, Song S, Li D, et al. Interferon regulatory factor signaling in autoimmune disease [J]. *Cytokine*, 2017, 98: 15-26.
- [74] Karami J, Aslani S, Jamshidi A, et al. Genetic implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis; an updated review [J]. *Gene*, 2019, 702: 8-16.
- [75] Muller-Ladner U, Pap T, Gay RE, et al. Mechanisms of disease: the molecular and cellular basis of joint destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2005, 1: 102-110.
- [76] Ciesla M, Kolarz B, Majdan M, et al. IRF5 promoter methylation as a new potential marker of rheumatoid arthritis [J]. *Pol Arch Intern Med*, 2019, 129: 370-376.
- [77] Panchanathan R, Liu H, Liu H, et al. Distinct regulation of murine lupus susceptibility genes by the IRF5/Blimp-1 axis [J]. *J Immunol*, 2012, 188: 270-278.
- [78] Lazzari E, Jefferies CA. IRF5-mediated signaling and implications for SLE [J]. *Clin Immunol*, 2014, 153: 343-352.
- [79] Heusinkveld M, van der Burg SH. Identification and manipulation of tumor associated macrophages in human cancers [J]. *J Transl Med*, 2011, 9: 216.
- [80] Xie C, Liu C, Wu B, et al. Effects of IRF1 and IFN-beta interaction on the M1 polarization of macrophages and its antitumor function [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38: 148-160.
- [81] Nascimento FR, Gomes EA, Russo M, et al. Interferon regulatory factor (IRF)-1 is a master regulator of the cross talk between macrophages and L929 fibrosarcoma cells for nitric oxide dependent tumoricidal activity [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0117782.

- [82] Jefferies CA. Regulating IRFs in IFN driven disease [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 325.
- [83] Romieu-Mourez R, Solis M, Nardin A, et al. Distinct roles for IFN regulatory factor (IRF)-3 and IRF-7 in the activation of anti-tumor properties of human macrophages [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 10576-10585.
- [84] Solis M, Goubau D, Romieu-Mourez R, et al. Distinct functions of IRF-3 and IRF-7 in IFN- α gene regulation and control of anti-tumor activity in primary macrophages [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72: 1469-1476.
- [85] Wang Y, Liu T, Yang N, et al. Hypoxia and macrophages promote glioblastoma invasion by the CCL4-CCR5 axis [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36: 3522-3528.
- [86] Zhu J, Smith K, Hsieh PN, et al. High-throughput screening for TLR3-IFN regulatory factor 3 signaling pathway modulators identifies several antipsychotic drugs as TLR inhibitors [J]. *J Immunol*, 2010, 184: 5768-5776.
- [87] Nikodemova M, Watters JJ, Jackson SJ, et al. Minocycline down-regulates MHC II expression in microglia and macrophages through inhibition of IRF-1 and protein kinase C (PKC) α /betaII [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 15208-15216.
- [88] Jankovic V, Samardzic T, Stosic-Grujicic S, et al. Cell-specific inhibition of inducible nitric oxide synthase activation by leflunomide [J]. *Cell Immunol*, 2000, 199: 73-80.
- [89] Kao TK, Ou YC, Lin SY, et al. Luteolin inhibits cytokine expression in endotoxin/cytokine-stimulated microglia [J]. *J Nutr Biochem*, 2011, 22: 612-624.
- [90] Aziz N, Son YJ, Cho JY. Thymoquinone Suppresses IRF-3-mediated expression of type I interferons *via* suppression of TBK1 [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 1355.
- [91] Fitzpatrick JM, Minogue E, Curham L, et al. MyD88-dependent and -independent signalling *via* TLR3 and TLR4 are differentially modulated by delta(9)-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in human macrophages [J]. *J Neuroimmunol*, 2020, 343: 577217.
- [92] Chen TF, Hsu JT, Wu KC, et al. A systematic identification of anti-inflammatory active components derived from Mu Dan Pi and their applications in inflammatory bowel disease [J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 17238.