

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

Гар бичмэлийн эрхтэй@

ЭНХЖАРГАЛЫН БААСАНСҮРЭН

**TLR7-ИЙН ЛИГАНД БОЛОН IFN- γ -ААР ИДЭВХЖСЭН ДОХИО
ДАМЖИЛТАНД ЗОХИЦУУЛАГЧ УУРГИЙН НӨЛӨӨГ
ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН**

Е 09120105 Дархлаа судлал

Анагаах ухааны магистрын зэрэг горилсон нэг сэдэвт бүтээл

Улаанбаатар хот
2018 он

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

ЭНХЖАРГАЛЫН БААСАНСҮРЭН

**TLR7-ИЙН ЛИГАНД БОЛОН IFN-γ-ААР ИДЭВХЖСЭН ДОХИО
ДАМЖИЛТАНД ЗОХИЦУУЛАГЧ УУРГИЙН НӨЛӨӨГ
ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН**

Эрдэм шинжилгээний ажлын удирдагч:

Анагаах ухааны доктор Ц.Билэгтсайхан

Эрдэм шинжилгээний ажлын зөвлөх:

Анагаах ухааны доктор Л.Энхсайхан

Эрдэм шинжилгээний ажлын шүүмжлэгч:

Анагаах ухааны доктор О.Эрдэнэзаяа

Улаанбаатар хот
2018 он

ТОВЧ ХУРААНГУЙ

Түлхүүр үгс: TLR7, IFN-γ, END-D, SOCS1, SHP2, PIAS1, p-p38, имиквимод

Сэдэв: TLR7/IFN-γ-аар идэвхжсэн дохио дамжилтанд зарим зохицуулагч уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

Үндэслэл: TLR нь өвөрмөц бус дархлаа тогтолцоог идэвхжүүлэхэд чухал оролцоотой байдаг. TLR7 нь имидазохинолин, локсирибин, бропиримин болон дан утаслагт PHX-ийг өвөрмөцөөр таньж холбогддог. SOCS1, SHP2 болон PIAS1 уургууд нь интерферон гамма болон TLR-ийн дохио дамжилтад сөрөг зохицуулагч молекул юм. Харин p38 уураг энэхүү дохио дамжилтад эерэг зохицуулагч молекул юм. TLR7-ийн лиганд нь IFN-γ-ийн дохио дамжилтыг дэмждэгийг бид өмнөх судалгаагаараа тодорхойлсон. Харин энэ удаагийн судалгаагаараа бид энэ хоёр механизмд оролцож байгаа эерэг болон сөрөг зохицуулагч уургуудыг тодорхойлохыг зорилоо.

Зорилго: Эндотель эсэд TLR7/IFN-γ-ийн харилцан дэмжих үйлчлэлд эерэг болон сөрөг зохицуулагч уургийн нөлөөг тодорхойлох

Хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй: Судалгаанд хулганын аортын шугаман эндотель (END-D) эсийг идэвхигүйжүүлсэн 10%-ийн тугалын хээлийн ийлдэс (FCS), антибиотикийн холимог (penicillin G, Streptomycin) агуулсан эсийн (DMEM) орчинд 5% CO₂-ийн чийгшилтэй 37°C хэмд өсгөвөрлөн ашигласан болно. Эсээс уургийг ялгахдаа протеаза ферментийн ингибитор агуулсан задлагч уусмал хэрэглэдэг. Ялган авсан уургийн концентрацийг Pierce BCA protein assay kit ашиглан тодорхойлж, ижил концентрацитай уургуудыг гель-электрофорез явуулж хүндийн жингээр нь ялгана. Гель дээрх уургуудыг цахилгаан хүчдэлийн тусламжтайгаар нитроцеллюлозон мембранлуу шилжүүлэн өвөрмөц анхдагч эсрэгбиеээр будна. β-актины эсрэгбиеийг дотоод хяналтаар хэрэглэсэн. Үүссэн дархан бүрдэл дээр тунхуугийн пероксидаза зүүсэн хоёрдогч эсрэгбиеээр будаж, үүний дараа хемилюминесценци бүхий бодис нэмснээр BioRad ChemDoc багажаар тодруулж харсан.

Үр дүн

TLR7 болон IFN-γ-аар идэвхжиж байгаа дохио дамжилтанд нь сөрөг зохицуулагч SOCS1, SHP-2, PIAS1 уургийн нийлэгжилтэнд имиквимод болон IFN-γ-аар дангаар нь үйлчлэхэд ихэссэн харин имиквимод болон IFN-γ-г хамт үйлчилсэн бүлэгт дарангуйлагдсан байлаа. IFN-γ-аар идэвхжиж байгаа SOCS1, SHP2, PIAS1 уургийн идэвхжлийг имиквимод нь 2 цагаас хойш дарангуйлах нөлөөтэй байсан. Мөн TLR7-оор идэвхжиж байгаа SOCS1,

SHP-2 уургийн идэвхжлийг IFN-γ 1 нь цагаас хойш дарангуйлах нөлөөтэй байлаа. TLR7 болон IFN-γ-аар идэвхжиж байгаа дохио дамжилтанд нь эерэг зохицуулагч p-p38 уургийн идэвхжлийг имиквимод болон IFN-γ-аар хамт үйлчилсэн бүлэгт дэмжих нөлөө ажиглагдахгүй байлаа.

Дүгнэлт

1. TLR7/IFN-γ-аар харилцан дэмжих үйлчлэлд сөрөг зохицуулагч SOCS1, SHP2, PIAS1 уургийн идэвхжилийг имиквимод болон IFN-γ хамтдаа дарангуйлсанаар TLR7/IFN-γ дохио дамжилтыг нэмэгдүүлж байна.
2. TLR7/IFN-γ-аар харилцан дэмжих үйлчлэлд эерэг зохицуулагч p38 уургийн идэвхжилд имиквимод болон IFN-γ хамтдаа эрчимжүүлэх нөлөө үзүүлэхгүй байна.

ABSTRACT

Topic: Determination of regulator molecules effect on TLR7 ligand/IFN- γ induced signaling

Background: Toll like receptors (TLRs) are a class of proteins that key role in the innate immune system. The SOCS1, SHP2 and PIAS1 proteins are negative-feed loop inhibitors of signaling of JAK/STAT and TLRs pathways. The p-p38 protein is positive-feed back activation of signaling of JAK/STAT and TLRs pathways.

Purpose: To determine negative and positive regulator protein activation which is activated through TLR7 ligand/IFN- γ signal transduction in endothelial cells.

Methods: We used mouse aortic linear endothelial cell (END-D); protein expression was detected by immunoblotting. Immunoblotting was carried out as described elsewhere. Briefly, the whole cell lysates were extracted by the lysis buffer with protease and phosphatase inhibitors at -4° . The protein concentration of each sample was determined by the bicinchoninic acid protein assay reagent . The proteins were electrically transferred to a membrane and the membranes were treated with a series of appropriately diluted antibodies. An anti-actin antibody was used for a internal control. The immune complexes were detected with horseradish peroxidase-conjugated second antibody (Cell Signaling Technology) at 1 : 10000 for 2 hr. The protein bands were visualized using a chemiluminescence reagent and the chemiluminescence was detected by a light capture system analyser Lab 5 programm.

Result: Negative regulators of signal transduction activated by TLR7 and IFN- γ , SOCS1, SHP-2, PIAS1 proteins expression was elevated when treated with only IFN-gamma and imiquimod, respectively. But the treatment with both IFN- γ and imiquimod inhibited the expression of these proteins. After 2 hours imiquimod had inhibiting effect on SOCS1, SHP-2, PIAS1 proteins expression which is activated by IFN- γ . But after an hour IFN- γ had inhibiting effect on SOCS1, SHP-2 proteins expression which is activated by TLR-7. Expression of p-p38, a protein which is the positive regulator of signal transduction activated with IFN- γ , did not show any activating effect in group treated with both imiquimod and IFN-gamma. **Conclusion:** 1. By inhibiting SOCS1, SHP2, PIAS1 negative regulators of TLR7/IFN-gamma coactivation, imiquimod and IFN-gamma increase TLR7/IFN- γ signal transduction. 2. Together both imiquimod and IFN-gamma did not show any activating effect on p-p38, a positive regulator of coactivation with TLR7/IFN-gamma.

Keywords: TLR7, Imiquimod, IFN- γ , END-D, SOCS1, SHP2, PIAS1, p-p38

1.12. SHP-2 уургийн бүтэц ба үйл ажиллагаа	28
1.13. p38 уургийн бүтэц ба үйл ажиллагаа	29
1.14. Эндотель эс	30
1.15. Хулганын аортын шугаман эндотель эс дээр хийгдсэн судалгаа	30

ХОЁРДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН БА АРГА ЗҮЙ

2.1 . Судалгааны загвар	32
2.2. Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй	32
2.3. Судалгааны ажлын арга зүй	32
2.3.1. Эсийн өсгөвөр	32
2.3.2. END-D шугаман эсийг сэргээх аргачлал	32
2.3.3. END-D шугаман эсийг сэлгүүлэх аргачлал	33
2.3.4. Иммуноблотинг	34
2.3.5. Үр дүнгийн боловсруулалт	38

ГУРАВДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН

3.1.1. SOCS1 уургийн идэвхжлийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон дүн (1 цаг)	39
3.1.2. SOCS1 уургийн идэвхжлийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон дүн (2 цаг)	40
3.1.3. SOCS1 уургийн идэвхжлийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон дүн (4 цаг)	41
3.1.4. SOCS1 уургийн идэвхжлийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон дүн (8 цаг)	41
3.1.5. IFN-γ-аар идэвхжиж байгаа SOCS1 уургийн идэвхжилд имиквимодийн нөлөөг тодорхойлсон дүн (1-8 цаг)	42
3.1.6. TLR7-оор идэвхжиж байгаа SOCS1 уургийн идэвхжилд IFN-γ-ийн нөлөөг тодорхойлсон дүн (1-8 цаг)	43
3.2.1. SHP-2 уургийн идэвхжлийг иммуноблотингийн аргаар тодорхойлсон дүн (0,5 цаг)	44

ГАРЧИГ

ТОВЧ ХУРААНГУЙ

ГАРЧИГ	3
МОНГОЛ ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ	7
ГАДААД ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ	8
ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ	11
ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ	13
УДИРТГАЛ	14
Судалгааны ажлын үндэслэл	14
Судалгааны ажлын зорилго, зорилт	15
Судалгааны практик ач холбогдол	15
Судалгааны ажлын шинэлэг тал	15
Судалгааг хэлэлцүүлсэн байдал	15
НЭГДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ	
1.1. TLR	18
1.2. TLR-ийн дохио дамжилтын механизм	19
1.3. TLR7	20
1.4. TLR7-ийн бүтэц	21
1.5. Имиквимод, түүний клиник ач холбогдол	22
1.6. Интерферон	22
1.7. Интеорферон дохио дамжилт	23
1.8. Интерфероны гамма	25
1.9. Цитокины эерэг болон сөрөг зохицуулагч уураг	25
1.10. SOCS1 уургийн бүтэц ба үйл ажиллагаа	26
1.11. PIAS1 уургийн бүтэц ба үйл ажиллагаа	27

НОМ ЗҮЙ

1. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Seminars in immunology*. Feb 2007;19(1):24-32.
2. Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, Akira S, Reis e Sousa C. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*. Mar 05 2004;303(5663):1529-1531..
3. Steiner H, Hultmark D, Engstrom A, Bennich H, Boman HG. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* 292: 246-248. 1981. *Journal of immunology*. Jun 1 2009;182(11):6635-6637.
4. Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 2002;20:197-216.
5. Cai X, Chiu YH, Chen ZJ. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling. *Molecular cell*. Apr 24 2014;54(2):289-296.
6. Botos I, Segal DM, Davies DR. The structural biology of Toll-like receptors. *Structure*. Apr 13 2011;19(4):447-459.
7. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*. May 2010;11(5):373-384.
8. Celhar T, Magalhaes R, Fairhurst AM. TLR7 and TLR9 in SLE: when sensing self goes wrong. *Immunologic research*. Sep 2012;53(1-3):58-77.
9. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. Feb 24 2006;124(4):783-801.
10. Regan T, Nally K, Carmody R, et al. Identification of TLR10 as a key mediator of the inflammatory response to *Listeria monocytogenes* in intestinal epithelial cells and macrophages. *Journal of immunology*. Dec 15 2013;191(12):6084-6092.
11. Shi Z, Cai Z, Sanchez A, et al. A novel Toll-like receptor that recognizes vesicular stomatitis virus. *The Journal of biological chemistry*. Feb 11 2011;286(6):4517-4524.
12. Coban C, Igari Y, Yagi M, et al. Immunogenicity of whole-parasite vaccines against *Plasmodium falciparum* involves malarial hemozoin and host TLR9. *Cell host & microbe*. Jan 21 2010;7(1):50-61.
13. Mathur R, Oh H, Zhang D, et al. A mouse model of *Salmonella typhi* infection. *Cell*. Oct 26 2012;151(3):590-602.
14. Yarovinsky F, Zhang D, Andersen JF, et al. TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein. *Science*. Jun 10 2005;308(5728):1626-1629.

15. Koblansky AA, Jankovic D, Oh H, et al. Recognition of profilin by Toll-like receptor 12 is critical for host resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunity*. Jan 24 2013;38(1):119-130.
16. Kagan JC, Medzhitov R. Phosphoinositide-mediated adaptor recruitment controls Toll-like receptor signaling. *Cell*. Jun 2 2006;125(5):943-955.
17. Barbalat R, Lau L, Locksley RM, Barton GM. Toll-like receptor 2 on inflammatory monocytes induces type I interferon in response to viral but not bacterial ligands. *Nature immunology*. Nov 2009;10(11):1200-1207.
18. Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nature immunology*. Feb 2006;7(2):131-137.
19. Heil F, Hemmi H, Hochrein H, et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*. Mar 5 2004;303(5663):1526-1529.
20. Ito T, Amakawa R, Kaisho T, et al. Interferon-alpha and interleukin-12 are induced differentially by Toll-like receptor 7 ligands in human blood dendritic cell subsets. *The Journal of experimental medicine*. Jun 3 2002;195(11):1507-1512.
21. Hornung V, Rothenfusser S, Britsch S, et al. Quantitative expression of toll-like receptor 1-10 mRNA in cellular subsets of human peripheral blood mononuclear cells and sensitivity to CpG oligodeoxynucleotides. *Journal of immunology*. May 1 2002;168(9):4531-4537.
22. Shibata T, Ohto U, Nomura S, et al. Guanosine and its modified derivatives are endogenous ligands for TLR7. *International immunology*. May 2016;28(5):211-222.
23. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. Sep 12 1957;147(927):258-267.
24. Pestka S, Krause CD, Walter MR. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunological reviews*. Dec 2004;202:8-32.
25. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of leukocyte biology*. Feb 2004;75(2):163-189.
26. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, et al. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nature immunology*. Jan 2003;4(1):69-77.

27. Subramaniam PS, Torres BA, Johnson HM. So many ligands, so few transcription factors: a new paradigm for signaling through the STAT transcription factors. *Cytokine*. Aug 21 2001;15(4):175-187.
28. Briscoe J, Rogers NC, Witthuhn BA, et al. Kinase-negative mutants of JAK1 can sustain interferon-gamma-inducible gene expression but not an antiviral state. *The EMBO journal*. Feb 15 1996;15(4):799-809.
29. Greenlund AC, Farrar MA, Viviano BL, Schreiber RD. Ligand-induced IFN gamma receptor tyrosine phosphorylation couples the receptor to its signal transduction system (p91). *The EMBO journal*. Apr 1 1994;13(7):1591-1600.
30. Igarashi K, Garotta G, Ozmen L, et al. Interferon-gamma induces tyrosine phosphorylation of interferon-gamma receptor and regulated association of protein tyrosine kinases, Jak1 and Jak2, with its receptor. *The Journal of biological chemistry*. May 20 1994;269(20):14333-14336.
31. Greenlund AC, Morales MO, Viviano BL, Yan H, Krolewski J, Schreiber RD. Stat recruitment by tyrosine-phosphorylated cytokine receptors: an ordered reversible affinity-driven process. *Immunity*. Jun 1995;2(6):677-687.
32. Heim MH, Kerr IM, Stark GR, Darnell JE, Jr. Contribution of STAT SH2 groups to specific interferon signaling by the Jak-STAT pathway. *Science*. Mar 03 1995;267(5202):1347-1349.
33. Darnell JE, Jr., Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science (New York, N.Y.)*. Jun 3 1994;264(5164):1415-1421.
34. Schindler C, Darnell JE, Jr. Transcriptional responses to polypeptide ligands: the JAK-STAT pathway. *Annual review of biochemistry*. 1995;64:621-651.
35. Ramana CV, Chatterjee-Kishore M, Nguyen H, Stark GR. Complex roles of Stat1 in regulating gene expression. *Oncogene*. May 15 2000;19(21):2619-2627.
36. Frucht DM, Fukao T, Bogdan C, Schindler H, O'Shea JJ, Koyasu S. IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge. *Trends Immunol.* Oct 2001;22(10):556-560.
37. Gessani S, Belardelli F. IFN-gamma expression in macrophages and its possible biological significance. *Cytokine Growth Factor Rev.* Jun 1998;9(2):117-123.
38. Vilcek J. Novel interferons. *Nature immunology*. Jan 2003;4(1):8-9.
39. Cassel SL, Rothman PB. Chapter 3: Role of SOCS in allergic and innate immune responses. *Advances in immunology*. 2009;103:49-76.

40. Shao RX, Zhang L, Hong Z, et al. SOCS1 abrogates IFN's antiviral effect on hepatitis C virus replication. *Antiviral research*. Feb 2013;97(2):101-107.
41. Kamizono S, Hanada T, Yasukawa H, et al. The SOCS box of SOCS-1 accelerates ubiquitin-dependent proteolysis of TEL-JAK2. *The Journal of biological chemistry*. Apr 20 2001;276(16):12530-12538.
42. Ryo A, Suizu F, Yoshida Y, et al. Regulation of NF-kappaB signaling by Pin1-dependent prolyl isomerization and ubiquitin-mediated proteolysis of p65/RelA. *Molecular cell*. Dec 2003;12(6):1413-1426.
43. Fujimoto M, Naka T. SOCS1, a Negative Regulator of Cytokine Signals and TLR Responses, in Human Liver Diseases. *Gastroenterology research and practice*. 2010;2010.
44. Xu D, Qu CK. Protein tyrosine phosphatases in the JAK/STAT pathway. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. May 1 2008;13:4925-4932.
45. An H, Zhao W, Hou J, et al. SHP-2 phosphatase negatively regulates the TRIF adaptor protein-dependent type I interferon and proinflammatory cytokine production. *Immunity*. Dec 2006;25(6):919-928.
46. Sachdev S, Bruhn L, Sieber H, Pichler A, Melchior F, Grosschedl R. PIASy, a nuclear matrix-associated SUMO E3 ligase, represses LEF1 activity by sequestration into nuclear bodies. *Genes & development*. Dec 1 2001;15(23):3088-3103.
47. Duval D, Duval G, Kedinger C, Poch O, Boeuf H. The 'PINIT' motif, of a newly identified conserved domain of the PIAS protein family, is essential for nuclear retention of PIAS3L. *FEBS letters*. Nov 6 2003;554(1-2):111-118.
48. Hochstrasser M. SP-RING for SUMO: new functions bloom for a ubiquitin-like protein. *Cell*. Oct 5 2001;107(1):5-8.
49. Stehmeier P, Muller S. Phospho-regulated SUMO interaction modules connect the SUMO system to CK2 signaling. *Molecular cell*. Feb 13 2009;33(3):400-409.
50. Liao J, Fu Y, Shuai K. Distinct roles of the NH2- and COOH-terminal domains of the protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 (PIAS1) in cytokine-induced PIAS1-Stat1 interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. May 9 2000;97(10):5267-5272.
51. Liu B, Gross M, ten Hoeve J, Shuai K. A transcriptional corepressor of Stat1 with an essential LXXLL signature motif. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Mar 13 2001;98(6):3203-3207.

52. Shuai K, Liu B. Regulation of gene-activation pathways by PIAS proteins in the immune system. *Nature reviews. Immunology*. Aug 2005;5(8):593-605.
53. Liu B, Mink S, Wong KA, et al. PIAS1 selectively inhibits interferon-inducible genes and is important in innate immunity. *Nature immunology*. Sep 2004;5(9):891-898.
54. Liu B, Yang R, Wong KA, et al. Negative regulation of NF-kappaB signaling by PIAS1. *Molecular and cellular biology*. Feb 2005;25(3):1113-1123.
55. Klingmuller U, Lorenz U, Cantley LC, Neel BG, Lodish HF. Specific recruitment of SH-PTP1 to the erythropoietin receptor causes inactivation of JAK2 and termination of proliferative signals. *Cell*. Mar 10 1995;80(5):729-738.
56. Aoki N, Matsuda T. A cytosolic protein-tyrosine phosphatase PTP1B specifically dephosphorylates and deactivates prolactin-activated STAT5a and STAT5b. *The Journal of biological chemistry*. Dec 15 2000;275(50):39718-39726.
57. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nature reviews. Immunology*. Jun 2007;7(6):454-465.
58. Tsolmongyn B, Koide N, Jambalrani U, et al. A Toll-like receptor 2 ligand, Pam3CSK4, augments interferon-gamma-induced nitric oxide production via a physical association between MyD88 and interferon-gamma receptor in vascular endothelial cells. *Immunology*. Nov 2013;140(3):352-361.
59. Sturge CR, Benson A, Raetz M, et al. TLR-independent neutrophil-derived IFN-gamma is important for host resistance to intracellular pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Jun 25 2013;110(26):10711-10716.
60. Yu CF, Peng WM, Schlee M, et al. SOCS1 and SOCS3 Target IRF7 Degradation To Suppress TLR7-Mediated Type I IFN Production of Human Plasmacytoid Dendritic Cells. *Journal of immunology*. Jun 15 2018;200(12):4024-4035.
61. Ghosh AK, Sinha D, Mukherjee S, Biswas R, Biswas T. LPS stimulates and Hsp70 down-regulates TLR4 to orchestrate differential cytokine response of culture-differentiated innate memory CD8(+) T cells. *Cytokine*. May 2015;73(1):44-52.
62. Park JH, Ko R, Lee SY. Reciprocal regulation of TLR2-mediated IFN-beta production by SHP2 and Gsk3beta. *Scientific reports*. Jul 28 2017;7(1):6807.