

# 胞浆内核酸受体 RLRs 的研究进展\*

廖倩, 吴谡琦\*, 孙修勤

(国家海洋局第一海洋研究所, 山东青岛 266061)

**摘要:** 机体如何识别以及清除入侵的病毒一直是免疫学研究的重点, 然而对于病毒与宿主细胞相互作用的最早期信号事件的了解甚微。近几年的研究工作在先天性免疫系统如何识别早期病毒的入侵方面取得了重大进展。RIG-I 样受体 (RIG-I Like Receptors, RLRs) 是一类新发现的胞浆内模式识别受体, 能够识别细胞质中的病毒核酸, 由 3 个成员组成, 分别是 RIG-I (Retinoic Acid-inducible Gene 1)、MDA5 (Melanoma Differentiation-Associated Gene 5) 和 LGP2 (Laboratory of Genetics and Physiology 2)。它们可通过自身的 CARD 结构域与下游信号分子线粒体连接蛋白 (Mitochondrial Antiviral Signalling Protein, MAVS) 的 CARD 结构域间的相互作用, 激活细胞转录因子 IRF 和 NF- $\kappa$ B, 诱导干扰素和促炎症细胞因子的产生, 从而启动固有免疫应答和调节随后的获得性免疫应答, 增强机体抵抗病毒的能力。因此, RLRs 对抗病毒天然免疫的建立起着非常重要的作用。文章将分别就 RLRs 的组成结构、对病毒核酸等靶分子的识别及其相关信号传导途径方面所取得的主要研究进展做一概述, 以期海洋生物 (特别是硬骨鱼类) 的抗病毒免疫应答等相关研究提供参考。

**关键词:** RIG-I 样受体; RIG-I; MDA5; LGP2

**中图分类号:** Q819

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-6647(2013)01-0153-08

机体的固有免疫系统在抵抗病毒感染方面发挥着重要作用。病毒感染宿主细胞后, 宿主细胞可以通过模式识别受体 (Pattern Recognition Receptors, PRRs) 监测病原相关分子模式 (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) 的存在, 从而激活宿主的固有免疫反应, 诱导干扰素 (Interferon, IFN)、促炎症细胞因子等一系列抗病毒因子的产生。除了 RLRs (RIG-I Like Receptors) 之外, 目前已发现的 PRRs 还包括: TLRs (Toll Like Receptors)、CLRs (C-type Lectin Receptors) 以及 NLRs (Nucleotide Oligomerization Domain-Like Receptors) 等<sup>[1-2]</sup>。Toll 样受体家族是一类重要的 PRRs, 在病毒的识别过程中发挥重要作用, 如 TLR3 识别 dsRNA; TLR9 识别病毒或细菌 DNA 包含的非甲基化 CpG 等。但由于 TLRs 家族成员均为跨膜蛋白, 只能识别细胞外或靠近胞内膜的病毒, 对于细胞质中的 RNA 病毒, TLRs 则不易做出反应。RLRs 则是存在于胞浆中的 1 个具有 Asp-Glu-X-Asp/His (DExD/H) 特征基序的 RNA 解旋酶家族, 能够通过识别胞浆内的病毒核酸, 将信号传递给转录因子, 从而活化 I 型干扰素的合成并诱导其它抗病毒相关基因的表达<sup>[1]</sup>。因此, RLRs 在抗病毒免疫应答方面具有极其重要的作用。

## 1 RLRs 的结构、功能及分布

目前已发现的 RLRs 成员有 3 个, 分别为视黄酸诱导基因 I (Retinoic Acid-inducible Gene 1, RIG-I)、黑色素瘤分化相关基因 5 (Melanoma Differentiation Associated Gene 5, MDA5) 与 LGP2 (Laboratory of Genetics and Physiology 2)。上述 3 个分子具有相似的结构, 含有 3 个基本结构域包括: 1) N 末端的 CARD 结

\* 收稿日期: 2012-04-24

资助项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目——鱼类多价疫苗的设计与应用策略 (2006CB101807); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目——牙鲆主要免疫细胞的功能鉴定与抗原识别和提呈机制的研究 (GY-2008T31)

作者简介: 廖倩 (1988-), 女, 贵州省贵定县人, 主要从事鱼类免疫医学方面研究。E-mail: csuliaoqian@hotmail.com

\* 通讯作者, E-mail: wusuqi@fio.org.cn

(王佳实 编辑)

构域(Caspase Activation and Recruitment Domain, CARD),由 1 个或 2 个线性排列的 CARDs 串联而成,为半胱天冬酶活化与招募结构域(LGP2 中缺失);2)中间的解旋酶结构域,属于 RNA 解旋酶 DExD/H 家族,包含 9 个短的基序:Q, I, Ia, Ib, II~VI(基序 I, II 又分别称为 Walker A、B 模体)9 个短的基序;3)C 末端结构域(C-terminal Regulatory Domain, CTD)。MDA5 的 CARD 结构域,解旋酶结构域及 CTD 与 RIG-I 的相应结构域之间的同源性分别为 23%, 35%, 30%<sup>[3-4]</sup>。RIG-I 的解旋酶结构域及 CTD 与 LGP2 的相应结构域之间的同源性分别为 31%, 29%。另外,MDA5 的解旋酶结构域及 CTD 与 LGP2 的相应结构域之间的同源性则分别为 41%, 34%<sup>[5]</sup>。

RLRs 的 CARD 结构域通过与线粒体连接蛋白 MAVS(Mitochondrial Antiviral Signalling Protein)的 CARD 同源结合启动下游信号传导过程,从而在线粒体相关复合体处募集并活化更多的信号分子(LGP2 由于缺失 CARD 结构域因而不参与信号传导过程);解旋酶结构域能够水解 ATP,同时与 RNA 结合(也可能促使 RNA 的解聚);CTD 可与 dsRNA 或 5'ppp-ssRNA 结合形成共同结构,并由此决定了不同 RLRs 与病毒 RNA 结合能力的强弱,同时在 RIG-I 中 CTD 结构域还具有自我调节功能,即在缺少 RNA 配体的条件下,CTD 与 CARD 间会形成一个紧密的结构,从而阻止其下游信号的传递<sup>[3,6]</sup>。

RLRs 通常在绝大多数组织的细胞中低量表达,在病毒和干扰素的刺激下 RLRs 的表达会迅速上调<sup>[3]</sup>。在小鼠和人的成纤维细胞、巨噬细胞和常规树突细胞(Conventional Dendritic Cells, cDCs)中 RIG-I 为主要监测细胞质 RNA 病毒感染的分子<sup>[3]</sup>。在非极化上皮细胞中,RIG-I 位于膜脊上,与细胞骨架上的 F-肌动蛋白存在相互作用,而 MDA5 位于胞质中,与肌动蛋白间无明显的共分布,同时发现 RIG-I 在极化上皮和内皮细胞的顶端结点也有分布,而 MDA5 则无此分布<sup>[6]</sup>。

## 2 RLRs 对外源核酸的识别

无论是先天免疫或是适应性免疫,其核心均在于对免疫原的正确识别。RLRs 能够直接识别 RNA 病毒核酸并产生相应的应答,而对 DNA 病毒核酸则需经 RNA 聚合酶 III 作用产生 5'ppp-ssRNA 后才能间接识别。与 RNA 结合后,RIG-I 与 MDA5 经过 ATP 依赖型的构象变化,其 N 末端的 CARD 暴露且诱导寡聚化,使得 CARD 与线粒体连接蛋白 MAVS(也称 IPS-1, VISA 或 Cardif)的 CARD 相互作用而起始下游信号的传递<sup>[3]</sup>。

### 2.1 RLRs 对 RNA 病毒的识别

尽管 RIG-I 与 MDA5 的结构相似,但其识别的病毒却明显不同。目前的研究显示,MDA5 主要识别小 RNA 病毒如脑心肌炎病毒(Encephalomyocarditis virus, EMCV)、脑脊髓炎病毒(Theiler's murine encephalomyelitis virus, TMEV)、门戈病毒(Mengo virus, MV)及相对长的 polyI:C(大于 2 kb);RIG-I 主要识别的 RNA 病毒包括甲型流感病毒(Influenza A virus, IAV),水泡性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus, VSV),新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV),日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV),丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV),呼吸道合胞病毒(Respiratory syncytial virus, RSV)等及相对短的 polyI:C(通常小于 1 kb)。同时也存在部分病毒都能被 RIG-I 及 MDA-5 识别,如登革病毒(Dengue virus, DEN),西尼罗河脑炎病毒(West Nile virus, WNV)和呼吸道肠道病毒(Reovirus, RV)。这表明 RIG-I 与 MDA5 在功能上有部分重合的<sup>[3]</sup>。

对于特定病毒的识别,RIG-I 与 MDA5 呈现高度的细胞特异性。在仙台病毒(Sendai virus, SeV)感染的 MEFs 细胞中,SeV 由 RIG-I 来识别,而在 cDCs 中,主要由 MDA5 负责 SeV 的识别<sup>[7]</sup>。然而关于细胞对病毒特异性的识别是由受体的差异性表达引起,还是由不同细胞中病毒复制的差异性引起的机制目前尚不明确。

从病毒的本质来看,RIG-I 特异性的结合 5'ppp-ssRNA,从而产生相应的免疫应答<sup>[8]</sup>。然而,不同学者

的实验表明 5' ppp-ssRNA 需要碱基配对结构才能通过 RIG-I 活化抗病毒信号途径,且此 RNA 的结构为短的平末端 5' ppp-dsRNA<sup>[3]</sup>。因为在负链 RNA 病毒的单链基因组的锅饼结构域含 5'三磷酸的平末端短双链 RNA,所以,RIG-I 可以检测的负链 RNA 病毒<sup>[3]</sup>。由于小 RNA 病毒的基因组 RNA 及其复制中间体 RNA 的 5'末端不被磷酸化,其是与一种小蛋白 Vpg 共价结合,所以小 RNA 病毒是由 MDA5 而非 RIG-I 识别的<sup>[8]</sup>。

从病毒的免疫逃逸角度也可看出 RLRs 的抗病毒感染中的作用。在 EMCV 感染过程中,病毒编码的 3C 蛋白酶与半胱氨酸蛋白酶共同作用可致 RIG-I 降解,因此阻断了细胞的抗病毒途径<sup>[9]</sup>。另外,在脊髓灰质炎病毒(Poliovirus, PV)感染的细胞中,MDA5 可被蛋白酶体、半胱氨酸蛋白酶而非蛋白酶 2A 或 3C 的作用下降解<sup>[10]</sup>。这被认为是病毒演化出的一种抵抗因病毒感染诱导宿主细胞产生 I 型 IFN,有利于病毒的增殖的机制。甲型流感病毒的非结构蛋白可与 RIG-I 相互作用,进而阻断了 RIG-I 的抗病毒信号实现了病毒的逃逸<sup>[8]</sup>。HCV 则通过编码蛋白酶 NS3/4A 作用于宿主细胞 MAVS 的 C 端,使 MAVS 不能在线粒体上发生寡聚化进而阻断 RIG-I 信号通路,造成细胞不能传递病毒入侵的信号<sup>[3]</sup>。

哺乳动物中 LGP2 可影响 RIG-I 和 MDA5 对 RNA 病毒的识别。当 LGP2 缺失时,RIG-I 和 MDA5 诱发的抗病毒效应都会减弱<sup>[11]</sup>。但另一方面也有研究显示 LGP2 可作为抗病毒效应的反馈抑制子与 MAVS 形成复合物,从而抑制 RIG-I 与 MDA5 诱发的抗病毒效应<sup>[12]</sup>。此外,另有研究发现 LGP2 对 EMCV 和 VSV 的感染分别起着相反的作用,即 LGP2 对 MDA5 和 RIG-I 的抗病毒应答分别起到正负调控的作用<sup>[13]</sup>。Pippig Diana A. 等<sup>[14]</sup>发现 LGP2 的 RNA 结合区结合能力最强,而 MDA5 的最弱,并提出了 LGP2 对 RIG-I 及 MDA5 的调节模型:dsRNA 结合至 LGP2 的 C 末端及 DExH 基序,从而竞争性抑制了 dsRNA 依赖的 RIG-I 的激活:完整的 LGP2 又可以与 MDA5 共同识别 dsRNA 以增强 MDA5 介导的信号转导。虽然 LGP2 对其它 RLRs 的调控作用目前还没有定论,但上述结果明确说明 LGP2 在 RLRs 所组成的抗病毒体系中也起到了重要的作用。

## 2.2 RLRs 对 DNA 病毒的识别

正常细胞需要合成自身所需的 RNA,但这种 RNA 需要经过多种不同方式的加工,才能保护了正常产物不被 RIG-I 或 MDA5 所识别,如 mRNA 需要在 5'端加上 7-甲基鸟苷,tRNA 经过 5'切割和一系列核苷酸的修饰,rRNA 与核糖体蛋白结合成为核糖核蛋白体等。然而,无论是由于感染而新进入的病毒 RNA,还是由于病毒复制而产生的 RNA 都包含着非自身的标记 5'三磷酸。因此,由 DNA 病毒产生的 5' ppp-ssRNA 可能被 RIG-I 很好的检测。

研究表明 HEK293 细胞中,胞浆 dsDNA 诱导 IFN- $\beta$  的产生被 MAVS 的基因沉默部分抑制,说明 MAVS 在人类细胞中可能介导了 dsDNA 的信号转导<sup>[15]</sup>。在 Huh-7 细胞中 RIG-I 及 MAVS 在对于 dsDNA 诱导的 IFN- $\beta$  启动子的活化是必需的。进一步蛋白质相互作用的 Pull down 分析结果表明 RIG-I 虽然介导了 dsDNA 的信号级联反应,但可能并不直接与 dsDNA 结合,而是依靠上游信号分子识别 dsDNA,然后通过 RIG-I 的信号转导途径诱导 IFN- $\beta$  的表达<sup>[16]</sup>。与之对应,Andrea Ablasser 等<sup>[17-18]</sup>发现了 1 条与 RNA 聚合酶 III(RNA Polymerase III RNA Pol-III)及 RIG-I 相关的 DNA 病毒识别途径,在此途径中富含 AT 的 dsDNA 作为 RNA Pol-III 的模板,转录成含 5'三磷酸的 dsRNA,进而活化 RIG-I 并诱导 I 型干扰素的产生同时活化转录因子 NF- $\kappa$ B。因此,RNA 聚合酶 III 及 RIG-I 对于病毒 DNA 的识别至关重要。

进一步研究发现人类细胞中也存在 RNA Pol-III MDA5 DNA 识别途径<sup>[19]</sup>。另外,在 *lgp2*<sup>-/-</sup> MEFs 细胞中,胞浆 dsDNA 分子 poly(dA-dT)转染进入细胞后,与野生型细胞相比,LGP2 的缺失减弱了细胞对 poly(dA-dT)等的反应。体外研究也发现 LGP2 蛋白并不与 DNA 结合,而是间接介导了细胞对 DNA 的反应,这表明 LGP2 也可能通过胞内 RNA Pol-III 途径产生免疫应答<sup>[20]</sup>。以上研究表明,RLRs 很可能都通过 RNA Pol-III 的识别在 DNA 病毒的识别应答中起重要作用。

### 3 RLRs 的信号传导途径

尽管 RIG-I 与 MDA 5 识别的对象有所差异,但它们都遵从相同的信号传导途径。RLRs 信号通路的第一下游接头分子是线粒体连接蛋白 MAVS<sup>[21]</sup>。MAVS 通过其不同的结构区域能够与一系列信号分子发生相互作用,如 FADD (Fas-Associated Death Domain-containing) 和 RIP1 (Receptor-Interacting Protein 1), TRAF2 (Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 2), TRAF6 (Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 6), TRAF3 (Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 3), MITA (Mediator of IRF 3 Activation) 等,通过 IRF3 (Interferon Regulatory Factor 3), IRF7 (Intorferon Regulatory Factor 7), NF- $\kappa$ B 级联传递,最终诱导促炎症细胞因子和 I 型干扰素的表达<sup>[21-28]</sup>。RLRs 的基本信号通路如图 1 所示。

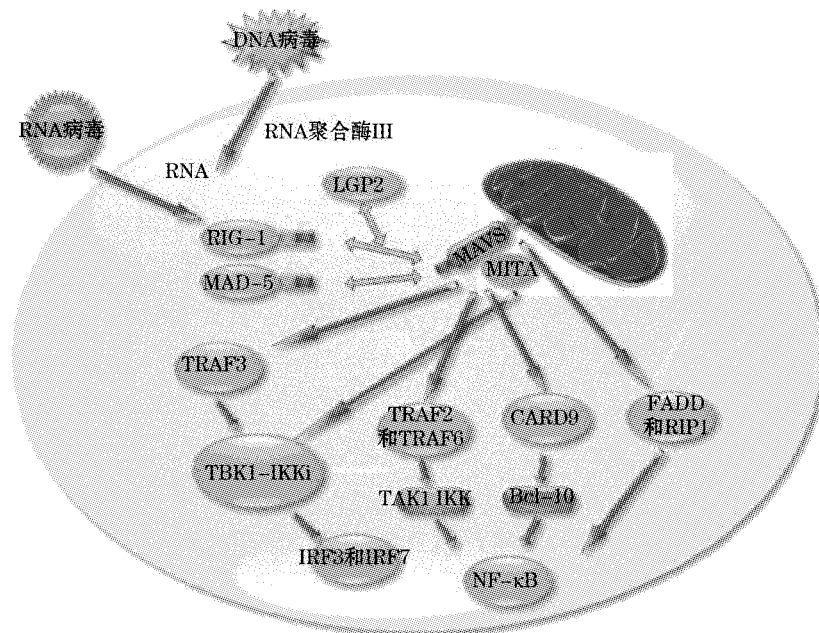


图 1 RLRs 的信号传导通路

Fig. 1 RLRs-mediated signaling pathway

RIG-I 与 MAD5 作为胞浆内核酸受体可识别胞浆的 RNA 分子,与下游信号分子 MAVS 相互作用,招募 TRAF3, TRAF2, CARD9 (Caspase Recruitment Domain-Containing Proteneing 9), FADD 及 RIP1, MITA 等下游接头分子<sup>[21-28]</sup>。激活的 TRAF3, MITA 通过 TBK1-IKK $\alpha$ , IRF3 和 IRF7 活化激酶激活转录因子活化 IRF3 及 IRF7<sup>[24, 26]</sup>。激活的 TRAF2, CARD9 则分别通过与 TAK1-IKK, BCL10 (B-cell lymphoma 10) 的作用活化 NF- $\kappa$ B<sup>[21, 23]</sup>。激活的 FADD 及 RIP1 则直接活化 NF- $\kappa$ B<sup>[21]</sup>。IRF3, IRF7 及 NF- $\kappa$ B 的活化诱导促炎症细胞因子和 I 型干扰素的表达,以抵抗病毒的感染<sup>[3]</sup>。其中, MITA 位于线粒体或内质网上,与 E3 泛素连接酶 RNF5 的泛素化作用有关<sup>[24]</sup>。不同学者研究中, TRAF6 在信号途径中的作用出现不一致的结果,因此需要进一步的实验加以确认。

其中, MAVS 是一个同样具有 CARD 基序的膜结合蛋白。除了 CARD 基序外, MAVS 还有富含脯氨酸的中间区域,以及 C 端的疏水跨膜结构域 (Transmembrane Domain, TM)<sup>[29]</sup>。剔除实验分析显示 MAVS 的 CARD 结构域和 TM (可使 MAVS 其定位于线粒体外膜) 结构域对于其信号传导功能都是必需的<sup>[21]</sup>。同时,据最新报道称, MAVS 在线粒体上通过其 C 端形成的寡聚化,此寡聚化对于 MAVS 向下游传递信号也

是必需的<sup>[30]</sup>。MAVS 与 RIG-I 或 MDA5 之间同源 CARD-CARD 特异性的相互作用启动了信号传导途径。

## 4 RLRs 与其它抗病毒免疫途径的交联

如前所述,RLRs 并不是产生抗病毒免疫应答的唯一途径,而是与其它 PRRs 一同相互协调提供机体对病毒的免疫保护。黄病毒(*Flavivirus*)中的 WNV 感染小鼠很好地体现了不同 PRRs 之间的相互协调作用。WNV 病毒感染初期进入皮中的朗罕式细胞和/或成纤维细胞,感染细胞的 RLRs 诱导局部 IFN 的分泌及其它先天免疫应答,进而控制病毒进入外周血。然而,一旦病毒突破皮肤屏障进入引流淋巴结中的巨噬细胞和 cDCs 进行复制,这些细胞的 RLRs,TLRs 就会启动多种 IFN 与促炎症细胞因子的合成,因而形成局部的炎症反应。RLRs 在应答中是监控 WNV 感染并触发胞内先天免疫应答的关键因子,而 TLRs 则是产生特定细胞因子并启动适应性免疫的根源。TLRs 及多种辅助因子的表达受到 IFN 的调控。因此,起始的 RLRs 信号传导及 IFN 的合成对于强化 TLRs 的表达及其免疫效应有重要作用。RLRs 途径通过影响 MyD88 依赖的信号途径介入到 TLRs 的抗 WNV 病毒感染过程<sup>[31-32]</sup>。另有研究发现 MAVS 可参与到 TLR3 的下游信号途径中,这进一步说明 RLRs 与 TLRs 信号途径间存在关联<sup>[28]</sup>。

由此可见,机体的抗病毒感染都是通过多种免疫途径实现的,而不同途径之间存在复杂的协调关系,以确保生物体产生正常的免疫应答。

## 5 鱼类 RLRs 的研究进展

在鱼类中,RIG-I 的研究最早在大西洋鲑鱼(*Salmo salar*)细胞系 TO 及鲤鱼(*Cyprinus carpio*)细胞 EPC 中进行。Stéphane Biacchesi 等<sup>[1]</sup>鉴定了编码 RIG-I 样分子及 MAVS 的序列,且证实 RIG-I、MAVS 在这些细胞中的过量表达诱导了 IFN 及 IFN 诱导基因的表达,从而实现了细胞对 RNA 病毒感染的完全保护,同时证明了 TO 细胞中 MAVS 位于线粒体膜上。随后,在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*),金鱼(*Carrasius auratus*)中也克隆出 RIG-I 基因,并从 mRNA 水平及鱼类细胞的病变两方面研究了 RIG-I 在抗病毒中的作用<sup>[33-34]</sup>。MDA5 及 LGP2 基因也相继在草鱼、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)及金鱼中被克隆出来,并对它们在抗病毒中的作用进行了初步研究<sup>[35-37]</sup>。另外,在虹鳟鱼中发现了 1 个截短形式的 LGP2 异构体,其在 LGP2 的信号传导中起负调控的作用。与哺乳动物 LGP2 调控 MDA5 信号途径的功能不同,虹鳟鱼的 LGP2 与 MDA5 可能在抗病毒反应中独立发挥作用<sup>[38]</sup>。在斑马鱼(*Danio rerio*)、草鱼、大西洋鲑、牙鲆及虹鳟中也先后发现了 MAVS 基因,但斑马鱼 MAVS 基因没有表现出特定位点位于某个亚细胞器的特征,这可能是由于斑马鱼 MAVS 基因缺失了人同源基因的 C 端跨膜结构域<sup>[38-39]</sup>。这些结果说明鱼类的 MAVS 细胞分布可能与哺乳动物有所不同。

## 6 展 望

RLRs 作为新发现的 PRRs,其在病毒核酸识别中的重要性已经得到证实,但仍有许多问题尚待解决。首先,在 RLRs 途径中,LGP2 对 RIG-I 与 MDA5 中起到了正或负调控的作用,它是如何确定调控作用的方向,这其中的机制急需解决以更加完善 RLRs 抗病毒信号通路。其次,已知 RIG-I 与 MDA5 对不同的 RNA 病毒起到识别作用,而有证据表明同一病毒对不同细胞的感染分别由 RIG-I 与 MDA5 来识别,这些细胞是如何决定何受体发挥作用的,RIG-I 与 MDA5 是如何分工,需要更进一步的研究加以明确。另外,我们需要了解 RLRs 与 TLRs 信号途径对不同病毒的识别应答是如何协作以实现机体更好的自我保护的。为了明确 RLRs 通过 RNA Pol-III 的识别在不同 DNA 病毒的识别应答中起重要作用,更多的研究需要我们去进行。

鱼类是已知兼具固有与获得性免疫最低等的脊椎动物,也具有完全的体液和细胞免疫应答。鱼类属于

变温动物,淋巴细胞的增殖较为缓慢,获得性免疫应答的发生相对滞后(可长达 12 周)。另外,在进化上鱼类的免疫系统也不如高等动物完善,抗体的亲和力、抗体库的大小均明显低于哺乳类,这些决定了鱼类的固有免疫系统在抵抗病原体感染的免疫应答中作用比哺乳动物更为重要。如前所述,RLRs 在哺乳动物中的研究相对丰富,而目前在鱼类 RLRs 领域的研究资料仍相当匮乏。作为控制病毒感染的关键途径,鱼类 RLRs 相关的基础研究不仅对于经济养殖鱼类病毒性疾病的免疫防治研究方面具有重大意义,同时还由于鱼类在进化中的特殊地位,使其对完善以高等哺乳类为基础建立起来的免疫学知识具有重要作用。随着鱼类研究在细胞培养、蛋白质组、基因组等技术领域的发展,对鱼类 RLRs 信号传导途径及其分子机制的深入研究将为重大传染性疾病的免疫防治、新型药物的开发以及高等生物抗病毒免疫体系等方面提供重要的科学依据。

### 参考文献 (References):

- [1] BIACCHES S, LEBERRE M, LAMOUREUX A, et al. Mitochondrial antiviral signaling protein plays a major role in induction of the fish innate immune response against RNA and DNA viruses [J]. *Journal of Virology*, 2009, 83 (16): 7815-7827.
- [2] FIGDOR C G, KOOYK Y V, ADEMA G J. C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2002, 2(2): 77-84.
- [3] LOO Y M, GALE M. Immune signaling by RIG-I-like receptors[J]. *Nature Reviews*, 2011, 34(5): 680-692.
- [4] TANNER N K, CORDIN O, BANROQUES J, et al. The Q motif: a newly identified motif in DEAD box helicases may regulate ATP binding and hydrolysis [J]. *Molecular Cell*, 2003, 11(1): 127-138.
- [5] TAKAHASHI K, KUMETA H, TSUDUKI N, et al. Solution structures of cytosolic RNA sensor MDA5 and LGP2 C-terminal domains: identification of the RNA recognition loop in RIG-I-like receptors [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(26): 17465-17474.
- [6] MUKHERJEE A, MOROSKY S A, SHEN L, et al. Retinoic acid-induced gene-1 (RIG-I) associates with the actin cytoskeleton via caspase activation and recruitment domain-dependent interactions [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(10): 6486-6494.
- [7] YOUNT J S, GITLIN L, MORAN T M, et al. MDA5 participates in the detection of paramyxovirus infection and is essential for the early activation of dendritic cells in response to Sendai Virus defective interfering particles[J]. *The Journal of Immunology*, 2008, 180(7): 4910-4918.
- [8] PICHLMAIR A, SCHULZ O, TAN C P, et al. RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates[J]. *Science*, 2006, 314(5801): 997-1001.
- [9] PAPON L, OTEIZA A, IMAIZUMI T, et al. The viral RNA recognition sensor RIG-I is degraded during encephalomyocarditis virus (EMCV) infection [J]. *Virology*, 2009, 393(2): 311-318.
- [10] BARRAL P M, MORRISON J M, DRAHOS J, et al. MDA-5 is cleaved in poliovirus-infected cells[J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(8): 3677-3684.
- [11] SATOH T, KATO H, KUMAGAI Y, et al. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses[J]. *Proc. Natl Acad. Sci.*, 2010, 107(4): 1512-1517.
- [12] KOMURO A, HORVATH C M. RNA- and virus-independent inhibition of antiviral signaling by RNA helicase LGP2 [J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(24): 12332-12342.
- [13] VENKATARAMAN T, VALDES M, EISBY R, et al. Loss of DEXD/H box RNA helicase LGP2 manifests disparate antiviral responses [J]. *The Journal of Immunology*, 2007, 178(10): 6444-6455.
- [14] PIPPIG D A, HELLMUTH J C, CUI S, et al. The regulatory domain of the RIG-I family ATPase LGP2 senses double-stranded RNA [J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(6): 2014-2025.
- [15] STETSON D B, MEDZHITOV R. Recognition of cytosolic DNA activates an IRF3-dependent innate immune response [J]. *Immunity*, 2006, 24(1): 93-103.
- [16] CHENG G F, ZHONG J, CHUNG J, et al. Double-stranded DNA and double-stranded RNA induce a common antiviral signaling pathway in human cells [J]. *Proc. Natl Acad. Sci.*, 2007, 104 (21): 9035-9040.
- [17] ABLASSER A, BAUERNFEIND F, HARTMANN G, et al. RIG-I dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate[J]. *Nature Immunology*, 2009, 10(10): 1065-1072.
- [18] CHIU Y H, MACMILLAN B, CHEN Z J, et al. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway [J]. *Cell*, 2009, 138(3): 576-591.

- [19] MELCHJORSEN J, RINTAHAKA J, SOBY S, et al. Early innate recognition of herpes simplex virus in human primary macrophages is mediated via the MDA5/MAVS-dependent and MDA5/MAVS/RNA polymerase III-independent pathways [J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(21): 11350-11358.
- [20] POLLPETER D, KOMURO A, BARBER G N, et al. Impaired cellular responses to cytosolic DNA or infection with listeria monocytogenes and vaccinia virus in the absence of the murine LGP2 protein [J]. *Public Library of Science One*, 2011, 6(4): e18842.
- [21] XU L G, WANG Y Y, HAN K J, et al. VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN-beta signaling[J]. *Molecular Cell*, 2005, 19(6): 727-740.
- [22] ISHIKAWA H, BARBER G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling [J]. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678.
- [23] HENDRIK P, MICHAEL B, OLAF G, et al. Recognition of RNA virus by RIG-I results in activation of CARD9 and inflammasome signaling for interleukin 1 $\beta$  production[J]. *Nature Immunology*, 2010, 11(1): 63-69.
- [24] ZHONG B, YANG Y, LI S, et al. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation[J]. *Immunity*, 2008, 29(4): 538-550.
- [25] YOSHIDA R, TAKAESU G, YOSHIDA H, et al. TRAF6 and MEKK1 play a pivotal role in the RIG-I-like helicase antiviral pathway [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(52): 36211-36220.
- [26] SUPRIYA K, SAHA S K, ERIC M, et al. Regulation of antiviral responses by a direct and specific interaction between TRAF3 and Cardif[J]. *The European Molecular Biology Conference Journal*, 2006, 25(14): 3257-3263.
- [27] LEVY D E, MARIE I, SMITH E, et al. Enhancement and diversification of IFN induction by IRF-7-mediated positive feedback [J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2002, 22(1):87-93.
- [28] SETH RB, SUN L, EA C K, et al. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF-kappaB and IRF 3[J]. *Cell*, 2005, 122(5): 669-682.
- [29] KAWAI T, TAKAHASHI K, SATO S, et al. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction[J]. *Nature Immunology*, 2005, 6(10): 981-988.
- [30] BARIL M, RACHINE M E, PENIN F, et al. MAVS dimer is a crucial signaling component of innate immunity and the target of hepatitis C virus NS3/4A protease[J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(3): 1299-1311.
- [31] FREDERICKSEN B L, GALE M. West Nile virus evades activation of interferon regulatory factor 3 through RIG-I-dependent and -independent pathways without antagonizing host defense signaling[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(6): 2913-2923.
- [32] SZRETTER K J, DAFFIS S, PATEL J, et al. The innate immune adaptor molecule MyD88 restricts West Nile virus replication and spread in neurons of the central nervous system[J]. *Journal of virology*, 2010, 84(23): 12125-12138.
- [33] YANG C R, SU J G, HUANG T, et al. Identification of a retinoic acid-inducible gene I from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and expression analysis in vivo and in vitro[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30 (3): 936-943.
- [34] SUN F, ZHANG Y B, LIU T K, et al. Fish MITA serves as a mediator for distinct fish IFN gene activation dependent on IRF3 or IRF7 [J]. *Journal of Immunology*, 2011, 187(5): 2531-2539.
- [35] OHTANI M, HIKIMA J, KONDO H, et al. Characterization and antiviral function of a cytosolic sensor gene, MDA5, in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2011, 35(5): 554-562.
- [36] CHANG M, COLLET B, NIE P, et al. Expression and functional characterization of the RIG-I-like receptors MDA5 and LGP2 in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(16): 8403-8412
- [37] HUANG T, SU J, HENG J, et al. Identification and expression profiling analysis of grass carp *Ctenopharyngodon idella* LGP2 cDNA [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(2): 349-355
- [38] SU J, HUANG T, DONG J, et al. Molecular cloning and immune responsive expression of MDA5 gene, a pivotal member of the RLR gene family from grass carp *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28(4): 712-718.
- [39] SIMORA RMC, OHTANI M, HIKIMA J, et al. Molecular cloning and antiviral activity of IFN- $\beta$  promoter stimulator-1 (IPS-1) gene in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(6): 979-986.

## Progress in Research on Cytoplasmic RIG-I Like Receptors

LIAO Qian, WU Su-qi, SUN Xiu-qin

(*First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China*)

**Abstract:** How the hosts recognize and clear invading viruses is one of the key issues in molecular immunology. However, the immediate-early signaling events among host and virus interaction were largely unknown. In the past few years, there are great breakthroughs in this rapidly evolving field. RIG-I like receptors (RLRs) have recently been identified as cytoplasmic sensors for nucleic acid of virus, which RIG-I (retinoic acid-inducible gene I), MDA5 (melanoma differentiation associated factor 5) and LGP2 (laboratory of genetics and physiology 2). The CARDs domains within this RLRs mediate associations with its adaptor protein MAVS to activate the transcription factors NF- $\kappa$ B and IRF, and then induce production of type I interferons and pro-inflammatory cytokines. Consequently these factors initiate innate immune responses and the acquired immune responses, enhancing the host's antiviral ability. Therefore RLRs play a key role in the detection and subsequent eradication of the replicating viral genomes. Recent progress is summarized in this paper on types, structures of RLRs, its roles in recognition of virus nucleic acid and molecular mediating signaling after the activation of RLRs in order to provide references for researches on antiviral immunity of marine organisms, especially teleost fishes.

**Key words:** RIG-I like receptors; RIG-I; MDA5; LGP2

**Received:** April 24, 2012