

综述



侯法建, 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心研究员、博士生导师。研究天然免疫与炎症的生化细胞机理及相关疾病; 聚焦RIG- I -MAVS信号通路, 利用生物化学和分子生物学方法在细胞和动物水平解析天然免疫信号传导中的分子细胞机制; 研究信号通路与自身免疫性疾病发生的相关性及其在肿瘤治疗中的功能作用。研究工作发表在*Cell*、*Elife*、*EMBO J*、*Nat Commun*等学术期刊。

RIG- I 样受体介导的RNA识别及其功能机制

王长万¹, 侯法建^{1,2*}

(¹国科大杭州高等研究院生命与健康科学学院, 中国科学院大学, 浙江省系统健康科学重点实验室, 杭州 310024; ²中国科学院分子细胞科学卓越创新中心, 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所, 核糖核酸功能与应用重点实验室, 中国科学院大学, 上海 200031)

摘要: 天然免疫系统通过多种受体识别RNA病毒并通过信号传导产生 I 型干扰素引发抗病毒反应。视黄酸诱导基因 I 样受体(RIG- I like receptor, RLR)是感知宿主胞质内病毒RNA的主要受体。一方面, RLR识别病毒来源的RNA并引发下游信号通路激活, 产生 I 型干扰素, 抵抗病毒感染; 另一方面, 研究也发现一些细胞自身的RNA可以与RLR结合并刺激 I 型干扰素产生, 由此引起的异常免疫激活导致自身免疫病的发生。本文将对激活RLR的自身和非自身RNA进行概述, 并介绍RLR对RNA配体的识别机制, 包括受体识别的特性及受体区分自身和非自身RNA的机制。

关键词: 天然免疫; 核糖核酸; 识别; 病毒感染

RIG- I -like receptors mediated RNA recognition and their mechanism

WANG Changwan¹, HOU Fajian^{1,2*}

(¹Key Laboratory of Systems Health Science of Zhejiang Province, School of Life Science, Hangzhou Institute for Advanced Study, University of Chinese Academy of Science, Hangzhou 310024, China;

²Key Laboratory of RNA Innovation, Science and Engineering, Chinese Academy of Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

收稿日期: 2024-07-01

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(B类)(XDB0570100); 国家自然科学基金项目(32070902)

第一作者: E-mail: wangchangwan2015@sibcb.ac.cn

*通信作者: E-mail: fhou@sibcb.ac.cn

Abstract: The innate immune system recognizes RNA viruses through various receptors and triggers antiviral responses by producing type I interferons (IFNs) via signal transduction. Retinoic acid-inducible gene I-like receptors (RIG- I-like receptors, RLRs) are the main receptor system for detecting RNA viruses within the host cytoplasm. On one hand, RLRs recognize virus-derived RNA and activate downstream signaling pathways to produce type I interferons, thereby combating viral infections. On the other hand, many studies have found that some cellular RNAs can bind to RLRs and stimulate the production of type I interferons, which may lead to abnormal immune activation and result in autoimmune diseases. This paper provides an overview of self and non-self RNAs that are recognized by RLRs, and introduces the mechanisms by which RLRs recognize RNA ligands, including the characteristics of receptor recognition and the mechanisms by which receptors differentiate between self and non-self RNAs.

Key Words: innate immunity; RNA; recognition; viral infection

病原微生物是高等有机体生存与健康的重大威胁。在长期的进化过程中,有机体形成了一系列抵抗病原微生物入侵的生理机制,譬如人体的皮肤屏障,其中最重要的防御机制是人体内的免疫反应。免疫反应包括天然免疫和适应性免疫。天然免疫是指个体出生时即具备的、非特异性而且较为广谱的抗病原微生物的机体免疫能力,它没有免疫记忆且作用时间较短。天然免疫能够快速感知和消除入侵的病原微生物,因此被称为有机体抵抗病原微生物的第一道防线^[1]。天然免疫还能够监视宿主自身的内环境,监测内源的非正常变化^[2]。具体来说,脊椎动物天然免疫系统发挥的主要功能有:通过产生细胞因子招募免疫细胞到被感染的位点;激活补体系统识别细菌、激活相应的细胞来清除死细胞或者抗体复合物;识别和清除器官、组织、血液、淋巴中的异源物质;通过抗原呈递来激活适应性免疫;形成物理、化学屏障防御病原体。此外,抗病毒天然免疫反应产生的干扰素有直接抗肿瘤作用,也能够强化放疗、化疗的效果。因此,天然免疫研究在疫苗研制、药物开发等方面的重要性引起广泛关注,成为近年来免疫学乃至整个生物医学的前沿研究热点。

天然免疫反应起始于宿主细胞的受体分子模式识别受体(pattern-recognition receptor, PRR),对病原微生物特异分子进行识别。这些病原微生物特异分子即病原微生物相关联的分子模式(pattern-associated molecular pattern, PAMP)。研究表明,PRR在高等有机体内广泛分布(如在体液、细胞

膜、细胞质等均有发现),能够激活补体、呈递病原微生物相关联的PAMP给其他PRR或者识别特定的病原微生物(病毒、细菌、真菌等)^[3]。PAMP是病原微生物繁殖和生存所必需的基础分子,主要包括来源于细菌外膜的组成成分如脂多糖、脂蛋白以及与病毒或者细菌相关的核酸等。这些分子模式是宿主细胞区别“自我”和“非我”的依据。PRR对PAMP进行分子识别后激发细胞外的级联反应(如补体通路等)和细胞内的信号传导通路等天然免疫反应。这些信号传导通路能够诱导包括干扰素和炎性因子在内的趋化因子和细胞因子的产生,从而进一步招募吞噬细胞,动员抗原呈递细胞以及激活免疫杀伤细胞,同时引起炎症反应^[1]。由此能够有效地清除病原微生物,保护机体的健康。

目前已知的PRR主要分为三大类,分别是Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)、视黄酸诱导基因 I 样受体(RIG- I like receptor, RLR)和Nod样受体(nucleotide-binding oligomerization domain like receptor, NLR)。它们分别识别来自不同病原体的PAMP。抗RNA病毒的天然免疫信号传导通路主要由TLR和RLR作为PRR来介导。TLR由富含亮氨酸的重复序列、跨膜结构域和胞质区Toll/白细胞介素-1受体同源结构域组成^[4]。在哺乳动物中发现的13个TLR中,TLR3、TLR7、TLR8和TLR9参与识别微生物核苷酸。这些TLR表达于内体和内质网的囊泡表面。TLR3识别双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA),而TLR7和TLR8识别单链RNA

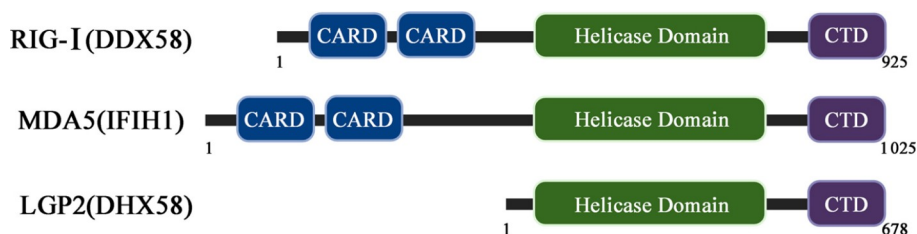
(single-stranded RNA, ssRNA)。TLR9识别非甲基化CpG-DNA基序。与相应配体结合的TLR招募包含胞质区结构域的适配蛋白,如招募MyD88和含有TIR结构域的接头蛋白TRIF,从而激活下游转录因子;招募核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF),并最终引起促炎细胞因子和I型干扰素的表达。由于TLR是跨膜蛋白,无法检测细胞质中的病毒相关的分子模式。RLR是在细胞质中侦测RNA病毒并诱导天然免疫反应的受体家族,包括三个成员——视黄酸诱导基因蛋白I(retinoic acid-inducible gene- I, RIG- I)、黑色素瘤分化相关蛋白5(melanoma differentiation associated factor 5, MDA5)和人遗传学和生理学实验室蛋白2(laboratory of genetics and physiology 2, LGP2)。它们的蛋白质结构类似哺乳动物的内切核糖核酸酶蛋白(Dicer)家族,都具有解旋酶结构域和C端的自身抑制结构域。此外,RIG- I和MDA5的N端还有含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶招募域(cysteiny aspartate specific proteinase recruiting domain, CARD),LGP2则不具有CARD结构域,如图1所示。

如图2所示,RIG- I和MDA5识别入侵的病毒或合适的RNA配体后激活下游的信号通路,诱导干扰素和炎症因子的产生。此外,RLR家族的蛋白质表达均受到干扰素的正反馈调节。RIG- I和MDA5在大部分细胞中发挥识别RNA病毒的作用,而LGP2由于不具有CARD结构域,其功能可能是作为RIG- I和MDA5介导的信号通路的调节分子^[5]。RIG- I或MDA5激活线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS)之

后,MAVS激活下游的kappa B抑制因子激酶(inhibitor of kappa B kinase, IKK)和TANK结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK1);IKK和TBK1进一步激活转录因子NF- κ B和IRF3。NF- κ B和IRF3在细胞核中形成蛋白质复合物增强子(enhanceosome),从而启动I型干扰素的表达^[6]。干扰素被分泌到胞外进入循环系统,然后结合细胞表面的受体,激活第二轮的信号传导,即通过JAK-STAT信号通路激活干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISGs)的表达来抑制入侵病毒的繁殖和扩增。本文主要介绍RIG- I和MDA5识别病原体RNA的机制,以及宿主细胞区分自身和外源RNA的机制。

1 RLR识别外源RNA及RLR的机制

2004年,一个来自日本的实验室利用聚肌胞苷酸[poly(I:C)]模拟病毒的双链RNA,找到了其结合蛋白RIG- I,后续实验结果验证了RIG- I在抗RNA病毒天然免疫中具有作为PRR识别病毒入侵的重要作用^[7]。RIG- I能够感知一系列病毒的感染,包括新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)、仙台病毒(Sendai virus, SeV)、水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis, VSV)^[8,9]、黄病毒^[10,11]和正黏液病毒(流感病毒A和B)等^[12,13]。和RIG- I同属于RLR家族的MDA5则主要识别小核糖核酸病毒(picornavirus),如脑心肌炎病毒(encephalomyocarditis, EMCV)、脊髓灰质炎病毒(poliovirus, PV)^[11]等。RIG- I和MDA5都能够识别西尼罗病毒(West Nile virus, WNV)和登革病毒(dengue virus, DENV)^[12]。借助于RNA聚合酶III,RIG- I也能够识别某些DNA病毒的感染,进而引



RIG- I、MDA5和LGP2都包含一个中央解旋酶结构域,该结构域包含保守的亚结构域。三个RLR都具有一个碳末端结构域(C terminal domain, CTD)。氮末端串联的CARD结构域仅存在于RIG- I和MDA5受体。图中标注了各个蛋白质的氨基酸序列长度

图1 RLR家族蛋白的结构域示意图

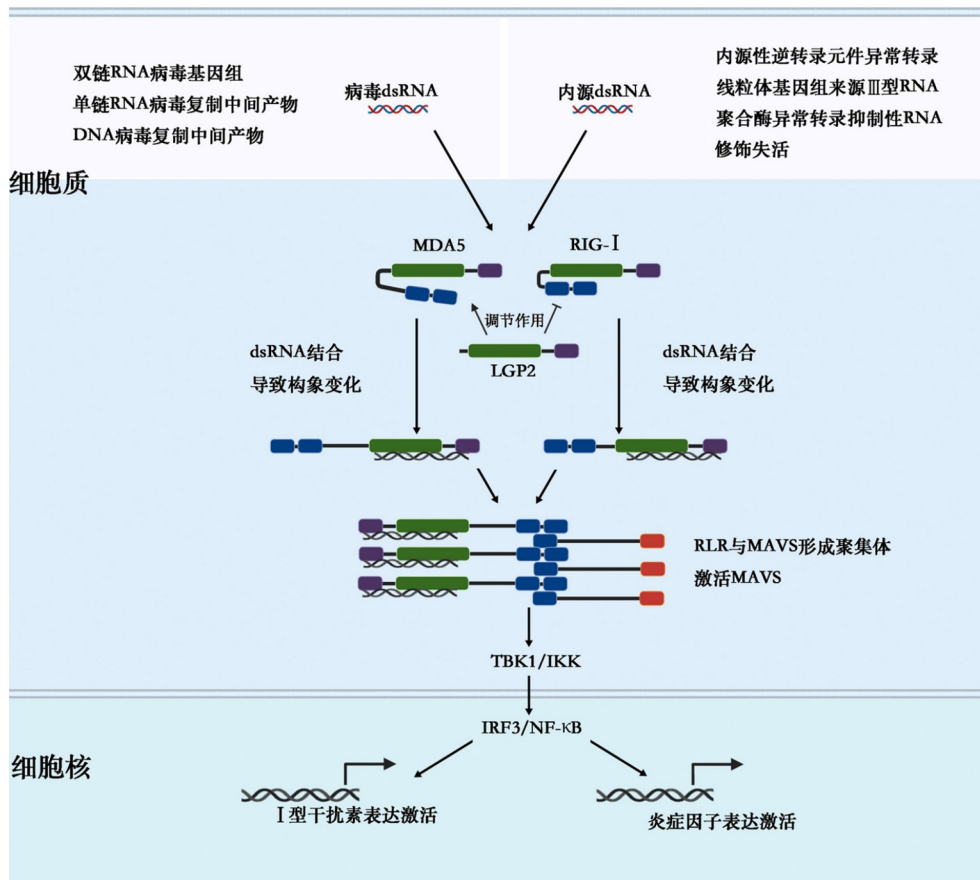


图2 感知内源及病毒RNA的RLR信号通路

起天然免疫反应^[14,15]。RIG- I 也能够识别丙肝病毒 (hepatitis C virus, HCV)的3'端非翻译区的多聚尿嘧啶胞嘧啶富集的RNA区域^[16]。

RIG- I 还可以识别来自细菌的RNA。胞内致病细菌如李斯特菌的RNA释放到细胞质中, 可以被RIG- I 识别^[17,18]。其他胞内细菌, 包括肠沙门氏菌和结核分枝杆菌, 也会激活RIG- I , 介导干扰素的产生^[19,20]。一项研究表明, 李斯特菌分泌的RNA与细菌RNA结合蛋白Imo2686/zea复合后也可以被RIG- I 识别^[21]。此外, 结核分枝杆菌的RNA被递送到巨噬细胞的细胞外囊泡中, 从而在未感染细胞中激活RIG- I ^[22]。这些结果表明, RIG- I 介导的下游信号通路激活在针对病原体感染的自我防御机制中具有针对细菌和病毒的广谱效应。近年来对包括人在内的哺乳动物的肠道和呼吸道研究发现, 这些位置广泛存在大量的共生微生物。这些微生物可能会激活所在肠道或呼吸道上皮细胞中的RIG- I 。因此探究这些特殊部位的

细胞如何维持免疫稳态和控制微生物的繁殖是十分重要的研究方向^[23-25]。

早期试图探索RIG- I 配体性质的研究是通过将化学合成或体外转录生成的RNA分子转染递送到哺乳动物细胞中, 来检测相关RNA分子激活干扰素的能力。这些研究鉴定了一些被RIG- I 识别的RNA的结构和化学特性。例如, 5'端存在三磷酸(PPP)和双链平末端结构是RIG- I 识别的一大类RNA结构特征^[26-29]。另外, RIG- I 对RNA长度也有一定的识别要求, 其优先结合短dsRNA分子, 这些RNA分子的长度从10~19碱基到300碱基不等^[26,27,30-32]。大多数脊椎动物细胞质中的RNA并不具备RIG- I 识别的分子特征, 因为脊椎动物细胞的胞质RNA在出核前的加工过程中5'端被加帽修饰并被除去两个磷酸, 只剩单磷酸修饰。这可能也是RIG- I 得以区分病毒和自身RNA的识别机制。人和鸭子的RIG- I 的蛋白晶体结构阐明了RIG- I 与5'-PPP dsRNA之间相互作用的机理^[33-35]: 在

RIG- I 与配体结合过程中, RIG- I 发生构象变化, 导致其CARD结构域暴露出来, 并将信号向下游传导^[34]。对于RIG- I 蛋白不同结构域的进一步研究表明, 病毒感染前, RIG- I 处于一个“部分开放”的构象, CARD和解旋酶部分区域的结合使RIG- I 处于无活性状态^[34]。RIG- I 和dsRNA分子结合后暴露出它的CARD结构域, 接着和分子伴侣14-3-3 ϵ 形成复合物^[36], 进一步招募泛素连接酶三联基序蛋白25(tripartite motif containing 25, TRIM25), 促进RIG- I 的N端CARD结构域在172位的赖氨酸发生第63位赖氨酸(K63)连接的多聚泛素化, 使RIG- I 被激活^[37]。RIG- I 的激活也被另外一个泛素连接酶环指蛋白135(ring finger protein 135, RNF135)正向调节。这一调节也是通过对RIG- I 进行K63位连接的多聚泛素化实现的^[38]。去泛素化酶圆柱瘤蛋白(cylindromatosis, CYLD)通过移除RIG- I 上的K63位连接的多聚泛素链而对RIG- I 介导的天然免疫信号传导进行下调^[39]。另有报道认为, 线性泛素链组装复合物(LUBAC)通过对TRIM25的作用从而对RIG- I 介导的天然免疫反应有下调作用^[40], RIG- I 的识别也受到唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素-G(sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin-G, Siglec-G)的负调节作用影响^[41]。

在缺失了RIG- I 的人或小鼠细胞中, 研究者转染人工合成的dsRNA, 并探究这些RNA与其免疫激活能力的关系, 从而鉴定出了能激活MDA5的dsRNA特征。MDA5识别的配体是长度至少为两千碱基的dsRNA, 即MDA5识别的关键特征^[31,42-47], 这与RIG- I 的配体长度形成鲜明对比。此外, 对于RIG- I 结合的配体至关重要的5'-PPP部分对MDA5的识别是非必需的^[31,43,45]。这些差异突显了两种RLR的互补性。研究进一步对人MDA5和dsRNA结合形成的复合物的结构进行分析, 发现聚合的MDA5与dsRNA分子的磷酸骨架结合^[48]。研究人员将从感染天花病毒(variola virus, VV)细胞中提取的RNA依据相对分子质量大小进行分离, 得到几种RNA类型: ssRNA、dsRNA和有序的高相对分子质量RNA^[43]。然后, 将这些RNA分别转染到野生型或缺乏MDA5的小鼠细胞中。结果表明, 只有高相对分子质量的具有网状结构的ssRNA

和dsRNA分子能够诱导I型干扰素蛋白的分泌, 而简单的长dsRNA和ssRNA则无此功能^[43]。这些结果提示, 形成网状结构是激活MDA5所必需的RNA特征。与此同时, 人们在研究中发现, 与野生型细胞相比, 缺失了RNA腺苷脱氨酶1(adenosine deaminase RNA specific 1, ADAR1)基因的细胞中干扰素出现异常的高表达现象^[49,50]。这说明RNA编辑酶ADAR1可能阻止了长的dsRNA在正常细胞中的累积, 从而避免了由MDA5识别长链dsRNA引发的干扰素异常表达。另外, 有研究揭示了RIG- I 和MDA5识别的RNA分子中存在的某些特定二级结构或序列。例如能够激活RIG- I 的流感病毒中的锅柄(panhandle)状结构^[13]以及能激活MDA5鼠肝炎病毒(murine hepatitis virus, MHV)包含的负链RNA5'-多聚尿嘧啶(PUN RNA)的锅柄dsRNA结构^[51]。由于SARS-CoV-2与MHV同属冠状病毒科, 可能通过类似的机制被MDA5识别。除了病毒RNA, MDA5还能识别来自疟原虫的RNA。疟原虫感染细胞并通过MDA5和MAVS依赖的方式诱导I型干扰素产生, 从而限制寄生虫血症的进程^[52,53]。

2 RLR识别内源性RNA

长期以来, 人们一直怀疑细胞中存在内源性的免疫刺激性RNA。有研究表明, 激活RIG- I 的RNA分子不一定来源于病毒, 宿主细胞本身的某些RNA分子在RNA或DNA病毒感染后被核糖核酸酶L(ribonuclease L, RNase-L)加工成小分子RNA, 这些小分子RNA也能够激活RIG- I ^[54]。通过对从感染病毒的细胞中分离的RIG- I /RNA复合物进行RNA-seq分析发现, 这些内源的免疫刺激性分子主要包括一些由III型RNA聚合酶转录的非编码RNA、Y-RNA、小非编码RNA和Alu RNA^[55-57]。在真核细胞中, 这些RNA通常与RNA结合蛋白结合, 其免疫刺激性被高度屏蔽, 因此无法触发免疫反应。在缺乏RNA结合蛋白屏蔽的情况下, 内源性RNA会被包装到病毒颗粒中^[58]。因此, 受病毒攻击的细胞可能通过将III型RNA聚合酶催化的内源性RNA转录本包装到新组装的病毒颗粒或分泌体中引起旁分泌抗病毒反应的发生。III型RNA聚合酶转录本与病毒RNA具有一些结构相似性, 如都具有5'-PPP末端的茎环结构^[55-62]。此外, 包括

爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、I型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus I, HSV-1)和腺病毒在内的DNA病毒也编码Ⅲ型RNA聚合酶转录本, 这些转录本可以激活RIG- I^[14,15]。因此, 鉴于Ⅲ型RNA聚合酶能够利用细胞或病毒模板产生RIG- I配体, 它似乎在抗病毒免疫中扮演着关键角色。

近年来, 越来越多的研究表明, 内源性逆转录元件在免疫系统疾病的发病机制和免疫系统的正常生理功能中都起着重要作用^[63]。内源性逆转录元件分为基因两侧有长末端重复序列(long terminal repeat, LTR)的元件和没有LTR的元件。LTR逆转录元件利用LTR进行转录起始和终止。它们的转录本编码必要的核酸酶, 如将RNA复制为DNA的逆转录酶和为插入而切割基因组位点的核酸内切酶。其中, LTR逆转录元件中包含的一大类序列——内源性逆转录病毒(endogenous retrovirus, ERV), 被越来越多报道与免疫的激活相关。与LTR类型不同, 非LTR逆转录元件利用更多的是自身5'非翻译区(untranslated region, UTR)或附近宿主基因内的启动子和增强子。这类逆转录元件包括长散在重复序列(long interspersed nuclear element, LINE)和短散在重复序列(short interspersed nuclear element, SINE)。SINE可以由Ⅱ型RNA聚合酶转录成内含子或UTR的形式, 或由Ⅲ型RNA聚合酶转录成独立的转录本。后者可以整合到新的基因组位点, 前者缺乏由LINE编码的逆转录酶和核酸内切酶识别的特征而不能被整合。因此, SINE的转录, 特别是由Ⅲ型RNA聚合酶转录形成的SINE, 在大多数细胞中被表观遗传调控而不能转录。但在各种压力因素的刺激下, 这些SINE仍可以被重新激活^[64]。这些压力因素包括热休克^[65]、病毒感染^[56]以及DNA损伤剂^[66-69], 如DNA甲基转移酶抑制剂的处理。前文提到的研究中报道了病毒感染条件下出现的Alu RNA序列^[56], 便属于SINE元件。

最早关于ERV激活天然免疫的发现来自对B细胞激活机制的研究^[70]。B细胞在激活过程中, NF- κ B活化引起ERV的转录, 生成的转录本RNA进一步激活了RIG- I和MDA5。另外, 在研究DNA甲基转移酶抑制剂治疗癌症的过程中, 研究者发

现, ERV的双向转录被激活, 由此产生的正义和反义转录本在来自不同组织的人癌细胞中可能形成了dsRNA, 这些dsRNA激活MDA5, 诱导了干扰素的产生^[71-73]。因此, DNA甲基转移酶抑制剂在辅助免疫检查点疗法中发挥的作用依赖于其激活MDA5通路诱导的抗病毒免疫反应。另外, 在病毒感染条件下, ERV也被激活并引起抗病毒免疫反应^[74]。

研究者在对病毒感染细胞的研究中发现, RIG- I/MDA5可以被SINE激活。单纯疱疹病毒的即早期蛋白ICP27通过激活Ⅲ型RNA聚合酶介导Alu元件的转录^[75]。在小鼠伽玛疱疹病毒68(murine gammaherpes virus 68, MHV68)感染的条件下, 研究者也在鼠细胞中观察到了类似的Ⅲ型RNA聚合酶介导的SINE转录现象^[76]。SINE的表达上调导致MAVS依赖和非依赖方式的NF- κ B激活。此前研究发现, Ⅲ型RNA聚合酶在细胞质和细胞核中都具有功能, 并且细胞质中的Ⅲ型RNA聚合酶在提供适当的DNA模板时可以生成RIG- I配体^[14,15]。这些现象说明, Ⅲ型RNA聚合酶依赖细胞质DNA模板引起的抗病毒免疫反应激活与Ⅲ型RNA聚合酶转录的SINE引起的激活之间可能存在机制上的共性。

在针对ADAR1基因的研究中人们也发现了SINE在RIG- I/MDA5激活中的作用。ADAR1是一种dsRNA依赖的腺苷脱氨酶, 它将双链RNA中的腺苷(A)修饰成次黄嘌呤(I)。这种A-to-I修饰对于一般dsRNA不存在序列偏好性, 尽管在一些不完全配对的dsRNA中观察到了一些序列偏好^[77]。在人和小鼠细胞中, ADAR1靶标之一是倒位重复的Alu RNA^[78,79]。倒位重复的Alu RNA形成约300碱基长的回折发夹结构, 这些结构通常出现在信使RNA的3'UTR中^[80,81]。缺失ADAR1或其酶活性的小鼠会出现高水平的炎症和造血干细胞的损伤并因此导致胚胎致死^[82,83]。ADAR1功能缺失突变导致AGS综合征的发生^[84], 这一现象进一步支持了ADAR1在抑制I型干扰素免疫反应中的作用。ADAR1缺失导致的炎症特征可以通过MDA5或MAVS的双重敲除来缓解^[49,85,86]。机制上, ADAR1通过脱氨腺嘌呤破坏细胞质中稳定的dsRNA结构, 干扰MDA5在dsRNA上形成丝状聚集体, 从而避免天然免疫反

应的发生^[87,88]。

另有研究发现,具有免疫原性的dsRNA可能不是源自Alu重复序列,而是来源于顺式天然反义转录本(cis antisense transcripts, cis-NATs)——即以相反方向转录的互补RNA^[89,90]。与Alu不同, cis-NATs包含从数百到超过一千碱基对不等的完美互补的dsRNA,使其更适合作为稳定的MDA5多聚体配体^[81,91]。虽然在细胞质中cis-NATs相较于倒位重复Alu含量稀少,但其特性决定了它们可以更稳定地结合MDA5并在行使激活MDA5功能的dsRNA中占较大权重。有研究通过基于全基因组关联研究(GWAS)定义的基因组位点的富集发现, cis-NATs的编辑与许多自身炎症和免疫相关疾病有关^[90]。

除了上述提到的内源性dsRNA,有研究表明,另一类由线粒体基因组(mitochondrial DNA, mtDNA)产生的dsRNA也可以被MDA5识别,并诱导干扰素的产生^[92]。尽管mtDNA正义链与反义链同时转录产生的线粒体双链RNA会释放进入细胞质,但通常存在降解机制抑制其在细胞中的持续存在^[93,94]。因此,研究表明, RNA降解机制中关键酶的耗竭可能导致细胞中的干扰素表达上调^[92]。

此外,研究表明,将一类外源性环状RNA(circular RNA, circRNA)转染到细胞中可以激活RIG- I。而这些circRNA不包含5'-PPP或双链结构。反向剪接生成的内源性环状RNA存在N6-甲基腺苷修饰,从而避免了RIG- I的识别^[95]。然而,有研究也表明,在体外生成环状RNA过程中存在ssRNA污染,由这些被污染的环状RNA介导的RIG- I激活可能是ssRNA引起的^[96]。因此, circRNA能否介导RIG- I激活及其生理意义需要进一步的研究来证实。

3 总结

越来越多的研究阐明了RLR感知病毒来源的RNA和自身RNA的作用机制及其介导的信号传导的分子机制和生理意义。针对RLR激动剂和拮抗剂的研究成为抗病毒和抗肿瘤免疫治疗以及自身免疫病治疗的热点。例如, 5'-PPP-dsRNA已被证明对流感病毒感染具有抗病毒活性^[97]。此外,有研究报道, RIG- I激动剂SLR14表现出显著的抗肿瘤活性^[98]。为了抑制干扰素过度产生, RIG- I拮抗

剂也已被鉴定出来^[99]。这可能对由RNA引起的天然免疫过度激活引发的自身免疫病有治疗作用。

当前,全球正处于由新冠肺炎病毒引起的新冠肺炎大流行后期,地区性爆发的新冠肺炎流行威胁着人们的健康。未来还可能发生由RNA病毒(如埃博拉病毒、禽流感病毒等)引起的传染病地区或全球大流行。RLR/MAVS介导的抗病毒天然免疫反应发挥着抵抗病毒的感染和清除病原体的重要作用。然而, RLR/MAVS介导的免疫反应的过度激活也可能引发细胞因子风暴,这种现象在新冠肺炎患者中也被观察到;持续的免疫激活还会诱发自身免疫疾病。这些现象表明该通路在人体免疫系统中具有双刃剑的作用。此外,由于该通路的调控受到病毒自身与宿主因子之间相互作用的显著影响,从时空角度阐明每种病毒感染的详细调控机制,鉴别其引起免疫反应的模式识别受体分子,并以综合方式理解病毒在感染过程中引发的一系列宿主反应显得至关重要。对RLR/MAVS这一通路相关调控机制的深入理解可以为未来开发针对传染病、癌症和自身免疫疾病的新疗法提供重要信息。

参考文献

- [1] West AP, Koblansky AA, Ghosh S. Recognition and signaling by Toll-like receptors. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2006, 22(1): 409-437
- [2] Medzhitov R, Janeway Jr CA. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science*, 2002, 296(5566): 298-300
- [3] Lee MS, Kim YJ. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk. *Annu Rev Biochem*, 2007, 76(1): 447-480
- [4] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, 124(4): 783-801
- [5] Ng CS, Kato H, Fujita T. Recognition of viruses in the cytoplasm by RLRs and other helicases—how conformational changes, mitochondrial dynamics and ubiquitination control innate immune responses. *Int Immunol*, 2012, 24(12): 739-749
- [6] Maniatis T, Falvo JV, Kim TH, et al. Structure and function of the interferon-enhanceosome. *Cold Spring Harb Symposia Quantitative Biol*, 1998, 63(0): 609-620
- [7] Yoneyama M, Kikuchi M, Natsukawa T, et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-

- stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat Immunol*, 2004, 5(7): 730-737
- [8] Kato H, Sato S, Yoneyama M, et al. Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity*, 2005, 23(1): 19-28
- [9] Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, et al. Shared and unique functions of the DExD/H-Box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol*, 2005, 175(5): 2851-2858
- [10] Foy E, Li K, Sumpter Jr. R, et al. Control of antiviral defenses through hepatitis C virus disruption of retinoic acid-inducible gene-I signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 2986-2991
- [11] Kato H, Takeuchi O, Sato S, et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*, 2006, 441(7089): 101-105
- [12] Rehwinkel J, Tan CP, Goubau D, et al. RIG-I detects viral genomic RNA during negative-strand RNA virus infection. *Cell*, 2010, 140(3): 397-408
- [13] Loo YM, Fornek J, Crochet N, et al. Distinct RIG-I and MDA5 signaling by RNA viruses in innate immunity. *J Virol*, 2008, 82(1): 335-345
- [14] Chiu YH, MacMillan JB, Chen ZJ. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I Interferons through the RIG-I pathway. *Cell*, 2009, 138(3): 576-591
- [15] 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. *Nat Immunol*, 2009, 10(10): 1065-1072
- [16] Saito T, Owen DM, Jiang F, et al. Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of hepatitis C virus RNA. *Nature*, 2008, 454(7203): 523-527
- [17] Hagmann CA, Herzner AM, Abdullah Z, et al. RIG-I detects triphosphorylated RNA of listeria monocytogenes during infection in non-immune cells. *PLoS ONE*, 2013, 8(4): e62872
- [18] Abdullah Z, Schlee M, Roth S, et al. RIG-I detects infection with live Listeria by sensing secreted bacterial nucleic acids. *EMBO J*, 2012, 31(21): 4153-4164
- [19] Schmolke M, Patel JR, de Castro E, et al. RIG-I detects mRNA of intracellular salmonella enterica serovar typhimurium during bacterial infection. *mBio*, 2014, 5(2): e01006
- [20] Cheng Y, Schorey JS. *Mycobacterium tuberculosis* -induced IFN- β production requires cytosolic DNA and RNA sensing pathways. *J Exp Med*, 2018, 215(11): 2919-2935
- [21] Pagliuso A, Tham TN, Allemand E, et al. An RNA-binding protein secreted by a bacterial pathogen modulates RIG-I signaling. *Cell Host Microbe*, 2019, 26(6): 823-835
- [22] Cheng Y, Schorey JS. Extracellular vesicles deliver *Mycobacterium* RNA to promote host immunity and bacterial killing. *EMBO Rep*, 2019, 20(3): e46613
- [23] Liu L, Gong T, Tao W, et al. Commensal viruses maintain intestinal intraepithelial lymphocytes via noncanonical RIG-I signaling. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1681-1691
- [24] Zhu H, Xu WY, Hu Z, et al. RNA virus receptor RIG-I monitors gut microbiota and inhibits colitis-associated colorectal cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 2
- [25] Bradley KC, Finsterbusch K, Schnepf D, et al. Microbiota-driven tonic interferon signals in lung stromal cells protect from influenza virus infection. *Cell Rep*, 2019, 28(1): 245-256
- [26] Schmidt A, Schwerdt T, Hamm W, et al. 5'-triphosphate RNA requires base-paired structures to activate antiviral signaling via RIG-I. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(29): 12067-12072
- [27] Schlee M, Roth A, Hornung V, et al. Recognition of 5' triphosphate by RIG-I helicase requires short blunt double-stranded RNA as contained in panhandle of negative-strand virus. *Immunity*, 2009, 31(1): 25-34
- [28] Hornung V, Ellegast J, Kim S, et al. 5'-triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science*, 2006, 314(5801): 994-997
- [29] Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, et al. RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science*, 2006, 314(5801): 997-1001
- [30] Kim DH, Longo M, Han Y, et al. Interferon induction by siRNAs and ssRNAs synthesized by phage polymerase. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(3): 321-325
- [31] Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Sato E, et al. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J Exp Med*, 2008, 205(7): 1601-1610
- [32] Kohlway A, Luo D, Rawling DC, et al. Defining the functional determinants for RNA surveillance by RIG-I. *EMBO Rep*, 2013, 14(9): 772-779
- [33] Devarkar SC, Wang C, Miller MT, et al. Structural basis for m7G recognition and 2'-O-methyl discrimination in capped RNAs by the innate immune receptor RIG-I. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(3): 596-601
- [34] Kowalinski E, Lunardi T, McCarthy AA, et al. Structural Basis for the Activation of innate immune pattern-recognition receptor RIG-I by viral RNA. *Cell*, 2011, 147(2): 423-435
- [35] Cui S, Eisenacher K, Kirchhofer A, et al. The C-terminal regulatory domain is the RNA 5'-triphosphate sensor of RIG-I. *Mol Cell*, 2008, 29(2): 169-179

- [36] Liu HM, Loo YM, Horner SM, et al. The mitochondrial targeting chaperone 14-3-3 ϵ regulates a RIG-I translocon that mediates membrane association and innate antiviral immunity. *Cell Host Microbe*, 2012, 11(5): 528-537
- [37] Gack MU, Shin YC, Joo CH, et al. TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity. *Nature*, 2007, 446(7138): 916-920
- [38] Oshiumi H, Matsumoto M, Hatakeyama S, et al. Riplet/RNF135, a RING finger protein, ubiquitinates RIG-I to promote interferon- β induction during the early phase of viral infection. *J Biol Chem*, 2009, 284(2): 807-817
- [39] Friedman CS, O'Donnell MA, Legarda-Addison D, et al. The tumour suppressor CYLD is a negative regulator of RIG-I-mediated antiviral response. *EMBO Rep*, 2008, 9(9): 930-936
- [40] Inn KS, Gack MU, Tokunaga F, et al. Linear ubiquitin assembly complex negatively regulates RIG-I- and TRIM25-mediated type I interferon induction. *Mol Cell*, 2011, 41(3): 354-365
- [41] Chen W, Han C, Xie B, et al. Induction of Siglec-G by RNA viruses inhibits the innate immune response by promoting RIG-I degradation. *Cell*, 2013, 152(3): 467-478
- [42] Berke IC, Modis Y. MDA5 cooperatively forms dimers and ATP-sensitive filaments upon binding double-stranded RNA. *EMBO J*, 2012, 31(7): 1714-1726
- [43] Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, et al. Activation of MDA5 requires higher-order RNA structures generated during virus infection. *J Virol*, 2009, 83(20): 10761-10769
- [44] Züst R, Cervantes-Barragan L, Habjan M, et al. Ribose 2'-O-methylation provides a molecular signature for the distinction of self and non-self mRNA dependent on the RNA sensor Mda5. *Nat Immunol*, 2011, 12(2): 137-143
- [45] Feng Q, Hato SV, Langereis MA, et al. MDA5 detects the double-stranded RNA replicative form in picornavirus-infected cells. *Cell Rep*, 2012, 2(5): 1187-1196
- [46] Luthra P, Sun D, Silverman RH, et al. Activation of IFN- β expression by a viral mRNA through RNase L and MDA5. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(5): 2118-2123
- [47] Luthra P, Sun D, Silverman RH, et al. Activation of IFN- β expression by a viral mRNA through RNase L and MDA5. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(5): 2118-2123
- [48] Wu B, Peisley A, Richards C, et al. Structural Basis for dsRNA recognition, filament formation, and antiviral signal activation by MDA5. *Cell*, 2013, 152(1-2): 276-289
- [49] Liddicoat BJ, Piskol R, Chalk AM, et al. RNA editing by ADAR1 prevents MDA5 sensing of endogenous dsRNA as nonself. *Science*, 2015, 349(6252): 1115-1120
- [50] Chung H, Calis JJA, Wu X, et al. Human ADAR1 prevents endogenous RNA from triggering translational shutdown. *Cell*, 2018, 172(4): 811-824
- [51] Hackbart M, Deng X, Baker SC. Coronavirus endoribonuclease targets viral polyuridine sequences to evade activating host sensors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(14): 8094-8103
- [52] Liehl P, Zuzarte-Luís V, Chan J, et al. Host-cell sensors for plasmodium activate innate immunity against liver-stage infection. *Nat Med*, 2014, 20(1): 47-53
- [53] Wu J, Tian L, Yu X, et al. Strain-specific innate immune signaling pathways determine malaria parasitemia dynamics and host mortality. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(4): E511-520
- [54] Malathi K, Dong B, Gale Jr M, et al. Small self-RNA generated by RNase L amplifies antiviral innate immunity. *Nature*, 2007, 448(7155): 816-819
- [55] Chiang JJ, Sparrer KMJ, van Gent M, et al. Viral unmasking of cellular 5S rRNA pseudogene transcripts induces RIG-I-mediated immunity. *Nat Immunol*, 2018, 19(1): 53-62
- [56] Zhao Y, Ye X, Dunker W, et al. RIG-I like receptor sensing of host RNAs facilitates the cell-intrinsic immune response to KSHV infection. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4841
- [57] Jiang M, Zhang S, Yang Z, et al. Self-recognition of an inducible host lncRNA by RIG-I feedback restricts innate immune response. *Cell*, 2018, 173(4): 906-919.e13
- [58] Telesnitsky A, Wolin S. The host RNAs in retroviral particles. *Viruses*, 2016, 8(8): 235
- [59] Baum A, Sachidanandam R, García-Sastre A. Preference of RIG-I for short viral RNA molecules in infected cells revealed by next-generation sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(37): 16303-16308
- [60] Runge S, Sparrer KMJ, Lässig C, et al. *In vivo* ligands of MDA5 and RIG-I in measles virus-infected cells. *PLoS Pathog*, 2014, 10(4): e1004081
- [61] Sanchez David RY, Combredet C, Sismeiro O, et al. Comparative analysis of viral RNA signatures on different RIG-I-like receptors. *eLife*, 2016, 5: e11275
- [62] Mura M, Combredet C, Najburg V, et al. Nonencapsidated 5' copy-back defective interfering genomes produced by recombinant measles viruses are recognized by RIG-I and LGP2 but not MDA5. *J Virol*, 2017, 91(20): e00643-17
- [63] Volkman HE, Stetson DB. The enemy within: endogenous retroelements and autoimmune disease. *Nat Immunol*, 2014, 15(5): 415-422
- [64] Varshney D, Vavrova-Anderson J, Oler AJ, et al. SINE transcription by RNA polymerase III is suppressed by histone methylation but not by DNA methylation. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 6569

- [65] Fornace Jr AJ, Mitchell JB. Induction of B2 RNA polymerase III transcription by heat shock: enrichment for heat shock induced sequences in rodent cells by hybridization subtraction. *Nucleic Acids Res*, 1986, 14 (14): 5793-5811
- [66] Hagan CR, Rudin CM. DNA cleavage and Trp53 differentially affect SINE transcription. *Genes Chromosomes Cancer*, 2007, 46(3): 248-260
- [67] Leonova KI, Brodsky L, Lipchick B, et al. p53 cooperates with DNA methylation and a suicidal interferon response to maintain epigenetic silencing of repeats and noncoding RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(1): E89-98
- [68] Li TH, Spearow J, Rubin CM, et al. Physiological stresses increase mouse short interspersed element (SINE) RNA expression *in vivo*. *Gene*, 1999, 239(2): 367-372
- [69] Clapes T, Polyzoou A, Prater P, et al. Chemotherapy-induced transposable elements activate MDA5 to enhance haematopoietic regeneration. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(7): 704-717
- [70] Zeng M, Hu Z, Shi X, et al. MAVS, cGAS, and endogenous retroviruses in T-independent B cell responses. *Science*, 2014, 346(6216): 1486-1492
- [71] Chiappinelli KB, Strissel PL, Desrichard A, et al. Inhibiting DNA methylation causes an interferon response in cancer via dsRNA including endogenous retroviruses. *Cell*, 2015, 162(5): 974-986
- [72] Roulois D, Loo Yau H, Singhania R, et al. DNA-demethylating agents target colorectal cancer cells by inducing viral mimicry by endogenous transcripts. *Cell*, 2015, 162(5): 961-973
- [73] Saito Y, Nakaoka T, Sakai K, et al. Inhibition of DNA methylation suppresses intestinal tumor organoids by inducing an anti-viral response. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 25311
- [74] Schmidt N, Domingues P, Golebiowski F, et al. An influenza virus-triggered SUMO switch orchestrates co-opted endogenous retroviruses to stimulate host antiviral immunity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(35): 17399-17408
- [75] Jang KL, Collins MK, Latchman DS. The human immunodeficiency virus tat protein increases the transcription of human Alu repeated sequences by increasing the activity of the cellular transcription factor TFⅢC. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 1992, 5(11): 1142-1147
- [76] Karijolich J, Abernathy E, Glaunsinger BA, et al. Infection-induced retrotransposon-derived noncoding RNAs enhance herpesviral gene expression via the NF-κB pathway. *PLoS Pathog*, 2015, 11(11): e1005260
- [77] Bass BL. RNA editing by adenosine deaminases that act on RNA. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71(1): 817-846
- [78] Carmi S, Borukhov I, Levanon EY, et al. Identification of widespread ultra-edited human RNAs. *PLoS Genet*, 2011, 7(10): e1002317
- [79] Chen LL, DeCerbo JN, Carmichael GG. Alu element-mediated gene silencing. *EMBO J*, 2008, 27(12): 1694-1705
- [80] Kim JI, Nakahama T, Yamasaki R, et al. RNA editing at a limited number of sites is sufficient to prevent MDA5 activation in the mouse brain. *PLoS Genet*, 2021, 17(5): e1009516
- [81] Levanon EY, Cohen-Fultheim R, Eisenberg E. In search of critical dsRNA targets of ADAR1. *Trends Genet*, 2024, 40(3): 250-259
- [82] Hartner JC, Walkley CR, Lu J, et al. ADAR1 is essential for the maintenance of hematopoiesis and suppression of interferon signaling. *Nat Immunol*, 2009, 10(1): 109-115
- [83] Wang Q, Khillan J, Gadue P, et al. Requirement of the RNA editing deaminase ADAR1 gene for embryonic erythropoiesis. *Science*, 2000, 290(5497): 1765-1768
- [84] Rice GI, Kasher PR, Forte GMA, et al. Mutations in ADAR1 cause Aicardi-Goutières syndrome associated with a type I interferon signature. *Nat Genet*, 2012, 44 (11): 1243-1248
- [85] Mannion NM, Greenwood SM, Young R, et al. The RNA-editing enzyme ADAR1 controls innate immune responses to RNA. *Cell Rep*, 2014, 9(4): 1482-1494
- [86] Pestal K, Funk CC, Snyder JM, et al. Isoforms of RNA-editing enzyme ADAR1 independently control nucleic acid sensor MDA5-Driven autoimmunity and multi-organ development. *Immunity*, 2015, 43(5): 933-944
- [87] Wright DJ, Rice JL, Yanker DM, et al. Nearest neighbor parameters for inosine-uridine pairs in RNA duplexes. *Biochemistry*, 2007, 46(15): 4625-4634
- [88] Ahmad S, Mu X, Yang F, et al. Breaching self-tolerance to alu duplex RNA underlies MDA5-mediated inflammation. *Cell*, 2018, 172(4): 797-810.e13
- [89] Faghihi MA, Wahlestedt C. Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9): 637-643
- [90] Li Q, Gloudemans MJ, Geisinger JM, et al. RNA editing underlies genetic risk of common inflammatory diseases. *Nature*, 2022, 608(7923): 569-577
- [91] Cottrell KA, Andrews RJ, Bass BL. The competitive landscape of the dsRNA world. *Mol Cell*, 2024, 84(1): 107-119
- [92] Dhir A, Dhir S, Borowski LS, et al. Mitochondrial double-stranded RNA triggers antiviral signalling in humans. *Nature*, 2018, 560(7717): 238-242
- [93] Borowski LS, Dziembowski A, Hejnowicz MS, et al. Human mitochondrial RNA decay mediated by PNPase-

- hSuv3 complex takes place in distinct foci. [Nucleic Acids Res](#), 2013, 41(2): 1223-1240
- [94] Gustafsson CM, Falkenberg M, Larsson NG. Maintenance and expression of mammalian mitochondrial DNA. [Annu Rev Biochem](#), 2016, 85(1): 133-160
- [95] Chen YG, Chen R, Ahmad S, et al. N6-Methyladenosine modification controls circular RNA immunity. [Mol Cell](#), 2019, 76(1): 96-109.e9
- [96] Wesselhoeft RA, Kowalski PS, Parker-Hale FC, et al. RNA circularization diminishes immunogenicity and can extend translation duration *in vivo*. [Mol Cell](#), 2019, 74(3): 508-520.e4
- [97] Chiang C, Beljanski V, Yin K, et al. Sequence-specific modifications enhance the broad-spectrum antiviral response activated by RIG-I agonists. [J Virol](#), 2015, 89(15): 8011-8025
- [98] Jiang X, Muthusamy V, Fedorova O, et al. Intratumoral delivery of RIG-I agonist SLR14 induces robust antitumor responses. [J Exp Med](#), 2019, 216(12): 2854-2868
- [99] Rawling DC, Jagdmann Jr GE, Potapova O, et al. Small-molecule antagonists of the RIG-I innate immune receptor. [ACS Chem Biol](#), 2020, 15(2): 311-317