

文章编号 :1004-0374(2011)01-0077-04

动物关键模式识别受体及其抗病毒天然免疫作用研究进展

李国勤, 卢立志*

(浙江省农业科学院畜牧兽医研究所, 杭州 310021)

摘要:天然免疫系统是动物抵御病原入侵的第一道防线,在机体抗病毒感染过程中发挥重要作用,模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs)是天然免疫系统的重要成分,动物机体的抗病毒免疫机制是由一系列PRRs对病原体的识别所启动的。近年来识别和感受病原体的一系列动物PRRs受到广泛关注,成为动物医学领域的研究热点,为揭示动物复杂的抗病毒天然免疫反应提供了新思路。该文简要介绍动物Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)和维甲酸诱导基因样受体(RIG-I like receptors, RLRs)的分子特征及其介导的抗病毒天然免疫作用研究进展。

关键词:动物;模式识别受体;天然免疫;抗病毒

中图分类号:S852.42;R392.12 文献标识码:A

Research advances on major pattern-recognition receptors and their innate immune responses against virus invasion in animals

LI Guo-Qin, LU Li-Zhi*

(Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: The innate immune system is responsible for early detection of potentially pathogenic microorganisms and plays an important role in the process of host defence against virus invasion. Pattern-recognition receptors (PRRs) are important components of the innate immune system, enabling early detection of pathogenic infection. In recent years, the various members of the different PRR families are recognized and become currently a hot subject of research in veterinary medicine, which provide important information about the role of PRRs in the complex mechanism of the innate immune against viruses in animals. In the present article, the molecular traits of Toll-like receptors (TLRs) and RIG-I like receptors (RLRs) and their innate immune responses against virus infection in animals are briefly introduced.

Key words: animal; pattern-recognition receptor; innate immune; anti-virus response

模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs)是一类主要表达于天然免疫细胞表面,非克隆性分布,可识别一种或多种病原相关分子模式(PAMP)的识别分子,在机体抗病毒天然免疫中发挥重要作用。根据病毒进入细胞的方式和PAMPs在细胞内定位的不同,机体内的PRRs主要有两类:一类是膜结合受体,如Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)可识别胞外微生物,然后活化细胞内信号来激发机体的免疫反应;另一类是细胞内的模式识别受体,包括核苷酸寡聚化域样受体

(NLR)和维甲酸诱导基因I样受体(RIG-I like receptors, RLRs)^[1,2]。这些PRRs如同天然免疫的“眼睛”,监视与识别PAMPs,启动细胞内信号转导通路,诱导特异性基因表达,分泌细胞因子/趋化因子,以一种协同的方式,在不同类型的细胞

收稿日期:2010-06-21;修回日期:2010-08-03

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(nycytx-45-02)

*通讯作者:E-mail: lulizhibox@163.com

中发挥抗病毒作用。在动物中,TLRs与RLRs的分子结构与抗病毒功能研究取得重大进展,为揭示动物复杂的抗病毒天然免疫反应机制奠定了基础。

1 动物重要 PRRs 的分子特征

TLRs是近年发现并备受关注的非特异性免疫系统中重要的一类PRR,迄今已在人类和动物中发现至少16种^[3],但TLR家族的每个成员都有类似的结构特征,它们均属I型跨膜蛋白,由胞外区、跨膜区和胞内区三个部分组成。胞外区富含亮氨酸重复序列(LRRs);跨膜区富含半胱氨酸;胞内区与白介素1受体(interleukin-1 receptor, IL-1R)的胞内区结构相似,称为TIR同源区(TLR/IL-1R homologous region)。通过对果蝇、爬行动物、鸟类和哺乳动物DNA序列比较分析,发现TLR基因具有很高的保守性,而胞外LRR结构域的同源性却较低。

RLRs是一类新发现的模式识别受体,目前发现的RLR家族成员主要包括3个:维甲酸诱导基因-I(RIG-I)、黑色素瘤分化相关基因5(MDA5)和LGP2^[4]。RIG-I蛋白N端有2个串联重复的半胱氨酸激活招募区(caspase activation and recruitment domain, CARD),这一结构域也为其他的胞内识别受体所具有,如NOD1、NOD2;中间为DEXD/H解旋酶区;C端包含1个抑制区(repressor domain, RD)。MDA5与RIG-I结构基本类似,CARD与解旋酶区氨基酸同源性分别为23%和35%。LGP2则不含CARD结构域,其解旋酶区与RIG-I和MDA5的同源性分别为31%和41%,C端有与RIG-I类似的RD区。

2 TLRs 介导的抗病毒天然免疫作用

TLRs具有识别病毒颗粒或DNA、dsRNA和ssRNA等核酸,诱导I型干扰素等细胞因子产生和树突状细胞(DC)成熟,启动获得性免疫反应的功能^[5,6]。目前在人类已经证明具有病毒识别功能的有TLR2、TLR3、TLR4、TLR7、TLR8和TLR9,但不同TLRs识别的PAMPs不同,如TLR3识别双链RNA病毒以及病毒复制过程中产生的双链RNA中间体;TLR7和TLR8识别富含G/U的单链RNA病毒;TLR9识别DNA病毒的非甲基化CpG DNA序列。它们在抗病毒天然免疫反应中具有重要作用,如Karpala等^[7]报道TLR3的配体poly(I:C)可迅速诱导鸡的I型IFN分泌,与哺乳动物研究结果一致。在H5N1型禽流感病毒感染期间,TLR3和IFN- β 表达

上调,表明鸡TLR3具有重要的天然免疫功能和抗禽流感病毒感染作用;Liu等^[8]报道猪感染dsRNA病毒——猪繁殖与呼吸综合症病毒(PRRSV)后,其淋巴组织和细胞中TLR2、3、4、7和8 mRNA表达上调;Miller等^[9]发现经PRRSV激活的猪肺泡巨噬细胞TLR3可以提高INF- α 的表达,抑制PRRSV的传播,表明这些TLRs可能具有抗猪PRRSV感染和免疫功能;Wong等^[10]发现采用TLR3激动剂预处理的小鼠对致死剂量的高致病性H5N1型禽流感病毒及致死剂量的季节性流感病毒(H1N1和H3N2型)均具有高水平的保护作用。运用RT-PCR分析发现经TLR3激动剂处理的小鼠肺脏组织中TLR3 mRNA表达水平升高,因而认为TLR3激动剂有望成为安全、高效和广谱的抗流感药物,用于防治季节性、传染性和流行性流感病毒感染^[11]。TLR9能识别非甲基化CpG基序的DNA序列,在宿主抗DNA病毒感染中起一定作用。研究发现有些DNA病毒,如小鼠巨细胞病毒(MCMV)和腺病毒,因其基因组富含CpG DNA基序,能够通过表达在pDCs上的TLR9诱导IFN的产生^[12]。同时发现,TLR9缺陷小鼠的pDCs感染DNA病毒后产生INF- α 的能力下降,并具有较高的病毒滴度和死亡率^[13,14]。Heike等^[15]发现尽管鸡缺失TLR8与TLR9基因,但体外培养的鸡脾脏细胞对哺乳动物TLR7/8和TLR9配体发生反应,产生IFN- α 与IL-6,推测认为鸡体内存在某些发挥TLR8与TLR9抗病毒免疫功能的受体。此外,由于TLR7和TLR8在结构上具有高度的同源性^[16],因而在识别核酸方面具有很高的相似程度,它们均可被类似的单链RNA(ssRNA)配体活化,共同参与ssRNA病毒的识别,从而激起机体的天然免疫反应^[17,18]。TLR7缺陷型小鼠感染ssRNA病毒,如流感病毒或水泡性口膜炎病毒(VSV)后,其浆细胞样树突状细胞(pDCs)合成INF- α 的能力明显下降^[17],表明TLR7对ssRNA病毒的识别是必需的;鸡感染马立克氏病毒后肺脏组织中TLR7与TLR3基因的表达增强,与IL-1 β 和IL-8基因表达上调相关,表明TLR7和TLR3与鸡抗马立克氏病毒感染有关^[19]。然而,有些病毒可以通过编码特异的蛋白质,抑制TLRs的表达和I型干扰素的生成,从而逃避宿主天然免疫的杀伤作用,如Lee等^[20]发现牛病毒性腹泻病毒(BVDV)能够通过改变TLR7与TLR3的表达及其信号途径的方式逃避机体免疫反应;Chang等^[21]发现poly(I:C)刺激能够下调猪肺泡巨噬细胞(AMs)和非成熟DCs(imDCs)中TLR7与TLR8的

表达,PRRSV感染可以抑制AMs和imDCs中TLR3与TLR7表达。因此,深入研究病毒受体识别机制和这些信号转导途径中的调控机制,可为预防和治疗动物病毒感染性疾病提供新途径。

然而,虽然TLR家族具有十分重要的抗病毒免疫作用,但由于该家族成员只能识别细胞外或内体中的RNA病毒,对于细胞质中的RNA病毒则无法做出反应,需要其他模式识别受体与之协同,在不同类型的细胞和部位发挥抗病毒作用。

3 RLRs介导的抗病毒天然免疫作用

RLRs是一类新发现的模式识别受体,能够识别细胞质中的病毒RNA,通过RLR级联信号诱导IFN和促炎症细胞因子的产生,对抗病毒天然免疫的建立起着非常重要的作用。作为机体抗病毒途径的补充环节,RLRs能有效地识别逃避细胞膜上TLRs识别而入侵到细胞质中的病毒RNA,因而主要在RNA病毒的识别过程中发挥作用,其中以动物RIG-I的抗病毒功能最为重要。Kato等^[22]研究表明,RIG-I缺陷小鼠感染新城疫病毒、仙台病毒或脑炎心肌炎病毒后,pDCs和成纤维细胞几乎不能产生I型干扰素和炎症因子,表明小鼠RIG-I具有重要的抗病毒感染作用。Luo等^[23]发现猪PRRSV感染主要通过干扰RIG-I信号途径中IPS-1活化而抑制IFN- β 产生,从而逃逸机体的免疫防御。Fredericksen等^[24]认为在动物机体抗西尼罗河病毒感染过程中,RIG-I和MDA5均可诱导下游基因表达,表明动物机体内的PRRs协同防御病毒感染和介导抗病毒免疫反应。至于究竟是哪种PRR在病毒识别过程中发挥主要作用,取决于细胞的类型、病毒的种类以及应答识别的阶段。Kato等^[25]利用RIG-I缺陷小鼠和MDA5缺陷小鼠研究发现,MDA5和RIG-I都可以识别Poly(I:C)和RNA病毒,但识别病毒类型有所不同。RIG-I识别一系列的RNA病毒,并在pDC以外的细胞系中发挥抗病毒作用^[22];MDA5则主要负责核糖核酸小RNA病毒的识别。Manuse等^[26]发现猿猴病毒5(SV5)感染细胞中TLR3的激活引起IL-8分泌增强,与RIG-I表达水平升高相关,表明RIG-I在抗SV5感染中发挥重要作用。Barbera等^[27]发现鸭RIG-I可以探测来自无帽病毒转录子的RNA配体,并启动干扰素反应,在鸭的抗禽流感病毒感染方面具有重要作用。鸡的胚胎成纤维细胞系DF-1对RIG-I配体无免疫反应,但将鸭RIG-I基因转染到DF-1细胞后则可以探测RNA配

体,并诱导IFN- β 启动子活性。此外,采用低致病性与高致病性禽流感病毒刺激后,表达鸭RIG-I的DF-1细胞的IFN反应增强,从而降低流感病毒的复制,进一步证明鸭RIG-I的抗禽流感病毒感染功能。由此可见,作为机体抗病毒途径的补充环节,由RIG-I等细胞质内病毒RNA受体介导的信号转导途径,能有效地抵抗逃避细胞膜上TLRs识别的入侵病毒,在增强机体自身免疫力、抵抗入侵病毒的过程中起着巨大的作用。

综上所述,TLRs和RLRs在细胞的不同位置,通过不同的信号传递途径识别病毒的PAMPs,但信号传递都汇合在I型干扰素的诱导生成上,从而遏制了病毒的复制,表明宿主有多种预防机制识别不同的病毒PAMPs,抑制病毒复制。深入研究动物各类PRRs的分子特征、免疫功能及其信号转导机制等,可以揭示动物复杂的抗病毒天然免疫反应,为动物主要病毒病的防治提供新思路。

[参 考 文 献]

- [1] 闰鸿斌,高闪电,贾万忠,等.细胞内模式识别受体研究进展.免疫学杂志,2008,24(3):359-62
- [2] Nakhaei P, Genin P, Civas A, et al. RIG-I-like receptors: sensing and responding to RNA virus infection. *Semin Immunol*, 2009, 21: 215-22
- [3] Higgs R, Cormican P, Cahalane S, et al. Induction of a novel chicken Toll-like receptor following *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection. *Infect Immun*, 2006, 74(3): 1692-8
- [4] Bradford B, Priya R, Suryaprakash S, et al. Antiviral defense: RIG-ing the immune system to STING. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2009, 20(1): 1-5
- [5] Meylan E, Tschopp J. Toll-like receptors and RNA helicases: two parallel ways to trigger antiviral responses. *Mol Cell*, 2006, 22(5): 561-9
- [6] Finberg RW, Wang JP, Kurt-Jones EA. Toll like receptors and viruses. *Rev Med Virol*, 2007, 17(1): 35-43
- [7] Karpala AJ, Lowenthal JW, Bean AG. Activation of the TLR3 pathway regulates IFN- β production in chickens. *Dev Comp Immunol*, 2008, 32(4): 435-44
- [8] Liu C, Chaung H, Chang H, et al. Expression of Toll-like receptor mRNA and cytokines in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet Microbiol*, 2009, 136(3/4): 266-76
- [9] Miller LC, Lager KM, Kehrl ME. Role of Toll-like receptors in activation of porcine alveolar macrophages by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Clin Vaccine Immunol*, 2009, 16(3): 360-5
- [10] Wong JP, Christopher ME, Viswanathan S, et al. Activation of toll-like receptor signaling pathway for protection against influenza virus infection. *Vaccine*, 2009, 27(25/26): 3481-3
- [11] Wong JP, Christopher ME, Viswanathan S, et al. Antiviral

- role of toll-like receptor-3 agonists against seasonal and avian influenza viruses. *Cur Pharm Des*, 2009, 15(11): 1269-74
- [12] Bauer S, Pigisch S, Hangel D, et al. Recognition of nucleic acid and nucleic acid analogs by Toll-like receptors 7, 8 and 9. *Immunobiology*, 2008, 213(3-4): 315-28
- [13] Krug A, Luker GD, Barchet W, et al. Herpes simplex virus type 1 activates murine natural interferon producing cells through toll-like receptor 9. *Blood*, 2004, 103(4): 1433-7
- [14] Lund J, Sato A, Akira S, et al. Toll-like receptor 9-mediated recognition of herpes simplex virus by plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*, 2003, 198(3): 513-20
- [15] Heike S, Kirsten S, Annette O, et al. Chicken toll-like receptor 3 recognizes its cognate ligand when ectopically expressed in human cells. *J Interferon Cytokine Res*, 2007, 27(2): 97-101
- [16] MacDonald MRW, Xia J, Smith AL, et al. The duck toll like receptor 7: genomic organization, expression and function. *Mol Immunol*, 2008, 45: 2055-61
- [17] Diebold SS, Kaisho T, Hemmi H, et al. Innate antiviral responses by means of TLR7-mediated recognition of single-stranded RNA. *Science*, 2004, 303(5663): 1529-31
- [18] Barton GM. Viral recognition by Toll-like receptors. *Semin Immunol*, 2007, 9 (1): 33-40
- [19] Abdul-Careem MF, Haq K, Schat KA, et al. Induction of innate host responses in the lungs of chickens following infection with a very virulent strain of Marek's disease virus. *Virology*, 2009, 393(2): 250-7
- [20] Lee SR, Pharr GT, Boyd BL, et al. Bovine viral diarrhea viruses modulate toll-like receptors, cytokines and co-stimulatory molecules genes expression in bovine peripheral blood monocytes. *Comparat Immunol: Micro Infect Dis*, 2008, 31 (5): 403-18
- [21] Chaung H, Chen C, Hsieh B, et al. Toll-like receptor expressions in porcine alveolar macrophages and dendritic cells in responding to poly IC stimulation and porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection. *Comparat Immunol: Micro Infect Dis*, 2010, 33(3): 197-213
- [22] Kato H, Sato S, Yoneyama M. Cell type-specific involvement of RIG-I in antiviral response. *Immunity*, 2005, 23(1): 19-28
- [23] Luo R, Xiao S, Jiang Y, et al. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) suppresses interferon- β production by interfering with the RIG-I signaling pathway. *Mol Immunol*, 2008, 45(10): 2839-46
- [24] Fredericksen BL, Keller BC, Fornek J, et al. Establishment and maintenance of the innate antiviral response to West Nile virus involves both RIG-I and MDA5 signaling through IPS-1. *J Virol*, 2008, 82(2): 609-16
- [25] 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): 101-5
- [26] Manuse MJ, Parks GD. TLR3-dependent upregulation of RIG-I leads to enhanced cytokine production from cells infected with the parainfluenza virus SV5. *Virology*, 2010, 397 (1): 231-41
- [27] Barbera MRW, Aldridge JR Jr, Webster RG, et al. Association of RIG-I with innate immunity of ducks to influenza. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(13): 5913-8