

DOI: 10.13376/j.cblls/2014127

文章编号: 1004-0374(2014)09-0891-06

细胞质内模式识别受体及其抗病毒免疫研究

曹丽艳¹, 李广兴¹, 王克雄², 任玉东^{2,3*}, 任晓峰^{1*}

(1 东北农业大学动物医学学院, 哈尔滨 150030; 2 哈尔滨动物生物制品国家工程研究中心有限公司, 哈尔滨 150001; 3 东北农业大学电气与信息学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 先天性免疫监视机制的核心是通过模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病毒分子诱导抗病毒防御, 使宿主免受感染。PRRs 表达在不同类型细胞的不同细胞区室, 包括细胞膜、内体膜、溶酶体膜和胞质。病毒进入细胞区室后将被一个或多个模式识别受体所识别并激活机体的免疫反应。主要对细胞质内模式识别受体视黄酸诱导基因 I 样受体 (retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors, RLRs)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors, NLRs)、DEXDc 螺旋酶受体 (DLRs) 及最近发现的 DNA 模式识别分子——DAI(DNA-dependent activator of interferon-regulatory factors) 识别病毒核酸并诱导 I 型干扰素产生的分子机制作一综述。

关键词: 先天性免疫; 抗病毒反应; 模式识别受体

中图分类号: Q939.91; R392 **文献标志码:** A

Research of cytoplasmic pattern recognition receptor and antiviral immunity

CAO Li-Yan¹, LI Guang-Xing¹, WANG Ke-Xiong², REN Yu-Dong^{2,3*}, REN Xiao-Feng^{1*}

(1 College of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

2 Harbin National Engineering Research Center for Animal Biological Products Co., Ltd., Harbin 150001, China;

3 College of Electrical and Information, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Pattern recognition receptors (PRRs), which are key constitutors of innate immunity network, monitor the presence of viral molecules and induce antiviral defense to protect the host from infection. PRRs express in diverse cellular compartments of different types of cells, including cell membrane, endosome membrane, lysosome membrane and cytoplasmic matrix. Viruses gain access into cell compartments and are then under active recognition by one or more kinds of pattern recognition receptors. In this review, we focused on the recognition of viral nucleic acids and the molecular mechanisms of type I interferon (IFN) induction through retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors (RLRs), nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs), DEXDc helicases (DLRs) and the more recently identified DNA-dependent activator of interferon-regulatory factors (DAI).

Key words: innate immunity; antiviral immune response; pattern recognition receptor

模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 是先天免疫系统重要组成成分, 它们共同作为病原体的监视器来监测细胞内、外感染的现象。通过近些年的深入研究, 已经确定有越来越多的种系编码并能监测和识别病毒核酸的 PRRs, 它们表达在不同类型细胞的不同细胞区室, 如细胞膜、内体膜、溶酶体膜和胞质, 主要负责监测病毒分子的存在, 以启动机体炎症反应和抗病毒免疫, 使宿主免受感染。病毒侵入宿主细胞后将产生新的病毒基因组,

病毒转录本或转录和复制中间体的病毒 RNA 或 DNA 在细胞内累积。因此, 在很大程度上细胞内

收稿日期: 2014-06-08

基金项目: 国家自然科学基金面向项目(31372438, 31270187); 教育部博士点基金项目(20122325110019); 黑龙江省普通高等学校长江学者后备支持计划项目(2013CJHB002)

*通信作者: E-mail: renxf@neau.edu.cn(任晓峰); ydren@neau.edu.cn(任玉东)

病毒核酸作为主要病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 被一个或多个模式识别受体所识别, 激活受体特异性的信号转导通路, 从而诱导促炎症因子、趋化因子和干扰素 (interferons, IFNs) 的表达, 产生特异性抗病毒反应^[1-4]。根据 PRRs 在细胞内位置的不同, 可将到目前为止发现的介导抗病毒天然免疫的 PRRs 分为两类: 位于内涵体或细胞表面的 Toll 样受体 (toll like receptors, TLRs) 和位于细胞质内的 PRRs。其中后者包括多个成员^[5], 如视黄酸诱导基因 I 样受体 (retinoic acid-inducible gene I (RIG-I)-like receptors, RLRs)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptors, NLRs)、DEXDc 螺旋酶受体 (DLRs) 及 DNA 模式识别分子——DAI (DNA-dependent activator of interferon-regulatory factors)。此外, 还有黑色素瘤缺乏因子 2 样受体 (absent in melanoma 2 (AIM2)-like receptors, ALRs) 也位于细胞质中, 是 DNA 的识别受体, 能识别双链 DNA, 并与激活半胱天冬酶 1 (caspase 1) 的接头蛋白 ASC (apoptosis associated speck-like protein) 组装形成 AIM2 炎性体, 主要介导促炎性细胞因子的产生, 而与 IFNs 的产生无关^[6-7]。目前的研究主要集中在 I 型干扰素的产生和促炎症反应方面^[8]。在这里, 我们主要针对细胞质内诱导 I 型 IFN 产生的宿主防御在先天免疫这一方面的分子机制作一综述。

1 I型干扰素的产生

IFNs 的产生是抗病毒免疫应答的关键, 也是机体抵抗病毒感染的第一道防线。IFNs 通常分为 I 型和 II 型干扰素。I 型 IFN 是先天性免疫抗病毒的主要细胞因子。I 型 IFN 通过作用于免疫细胞 (包括先天性和适应性免疫细胞) 以及非免疫细胞, 如上皮细胞发挥抗病毒作用。病毒入侵宿主细胞后, 细胞内的 PRRs 将识别病毒的 PAMPs, 随后将其递呈给下游转录因子并经一系列信号转导最终导致抗病毒效应基因 IFNs 的表达。I 型 IFN 的产生是由许多因子, 尤其是细胞内受体通过识别病毒 RNA 或 DNA 所激发。

2 介导I型IFN产生的核心信号通路

尽管细胞内存在多种受体诱导 IFN- α/β 基因转录, 但多数与 TANK 结合激酶 1 (TBK1) 和抑制性 κ B 激酶 ϵ (IKK ϵ) 有关^[9-11]。在 TBK1 的上游, 接头

分子整合各传感受体和 TBK1 激酶之间的信号并经一系列信号转导启动 IFN- α/β 基因的表达。到目前为止, 已经确立了 3 个不同的接头分子^[12]: (1) 诱导 β 干扰素 TIR 结构域结合蛋白 (TIR domain-containing adaptor inducing IFN- β , TRIF); (2) 定位于线粒体膜上的含有半胱天冬酶激活招募区 (caspase activation and recruitment domain, CARD) 的一种蛋白——线粒体抗病毒信号传送蛋白 (mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS), 又名干扰素启动子刺激蛋白 1 (interferon promoter stimulating protein 1, IPS-1)、VISA 或者 CARDIF; (3) 内质网固有蛋白干扰素刺激物 (stimulator of interferon genes, STING), 也称为跨膜蛋白 173 (TMEM173)、IRF-3 活化介质 (mediator of IRF3 activation, MITA)、内质网干扰素刺激物 (endoplasmic reticulum IFN stimulator, ERIS) 或 MHC II 类相关的跨膜蛋白 (membrane transpanner associated with MHC class II, MPYS)。磷酸化的 TBK1 和 IKKs (IKK α 、IKK β 和 IKK ϵ) 激酶能使转录因子干扰素调节因子 3 (IRF3) 和 IRF7 激活^[8-9]。磷酸化的 IRF3 和 (或) IRF7 形成同源二聚体转入核并与 CREB 结合蛋白 (CBP)/P300 相互作用形成三聚体。活化的 IRF3 和 IRF7 与转录因子 NF- κ B 组装, 从而激活转录因子 2 (ATF-2) 和 c-Jun, 最终促进 IFN- α/β 基因的转录^[13]。

2.1 诱导 β 干扰素TIR结构域结合蛋白(TRIF)

TRIF 是独立于 MyD88 的 TLRs 的另一个接头蛋白, 包含两个结构域, 这两个结构域均可以激活 NF- κ B、AP-1 等转录因子^[14]。其 N 端可以直接与 TRAF6 结合, 其 C 端的 TIR 结构域 (介导与 TLRs 的 TIR 结构域相互作用) 负责与 TIR 结构域一起介导自身的泛素化, 使得 TRIF 与 TRAF6 结合, 导致由 TAK1、TAB1 和 TAB2 蛋白组成的蛋白激酶的激活, 从而激活 NF- κ B、AP-1 等转录因子。TRIF 还可以募集 TRAF3 激活 IKKs 和 TBK1, 导致 IRF-3 丝氨酸残基的磷酸化, 诱导 I 型 IFNs 的转录。

2.2 线粒体抗病毒信号传送蛋白(MAVS)

MAVS 定位在线粒体上, 是 RLRs 信号通路关键接头分子, 并且 MAVS 的线粒体定位对于其激活下游信号非常重要^[15]。MAVS 由 540 个氨基酸组成, 包含三个区域: CARD 区、脯氨酸富集区及疏水跨膜区。其 CARD 区主要与上游分子 RIG-I/MDA5 的 CARD 区相互作用。脯氨酸富集区能够与一系列信号分子发生相互作用, 如 TRAF3、TRAF6、TRAF2、RIP1 和 FADD 等。跨膜区主要负责将 MAVS 定位

于线粒体外膜上。超表达 MAVS 能有效激活 NF- κ B、IRF3 以及 I 型 IFNs 的表达。

2.3 内质网固有蛋白干扰素刺激物(STING)

胞质内许多 DNA 信号通路的一个共同特点是都有 STING 的参与。STING 是新发现的能介导胞内 DNA 诱导天然免疫的重要分子, 含有 4 个或 5 个跨膜区的蛋白质^[16-17]。大量证据指出, STING 在抗病毒 DNA 应答中起主要作用, 细胞内超表达该蛋白能够有效激活 IRF3, 抑制病毒的复制。STING 定位在线粒体上, 与 MAVS 相互作用, STING 被 TBK1 磷酸化 (Ser-358), 磷酸化后的 STING 有助于招募 TBK1 到线粒体上, 从而便于 TBK1 使 IRF3 磷酸化^[18]。遗传研究表明, 一些 DNA 病毒以及越来越多的细菌病原体, 如单核细胞李斯特氏菌感染后, STING 在胞内识别 DNA 并诱导 IFN α/β 应答方面发挥着必不可少的重要作用。

3 诱导干扰素的RNA感受器

3.1 视黄酸诱导基因I样受体(RLRs)

视黄酸诱导基因蛋白 I (RIG-I) 和黑色素瘤分化相关基因 5 (MDA5) 是细胞质中最先确定的能识别病毒产物的受体^[19]。RIG-I 可识别病毒基因组的 5'-三磷酸基团或负链 ssRNA 病毒的转录本^[20]。另外, 5' 端三磷酸化的 ssRNA (5'-ppp-ssRNA) 可作为 RIG-I 的配体^[21], 5'-ppp-RNA 加帽或经核苷酸修饰后, 则不能被 RIG-I 识别。这被认为是 RIG-I 严格区分宿主细胞自身 RNA 和病毒 RNA 的机制^[22]。与此相反, MDA5 识别较长的 dsRNA 或正链 ssRNA 病毒复制的中间产物。RIG-I 和 MDA5 都具有 DExD/H- 盒 RNA 解旋酶结构域及两个 N- 末端 CARDs 区^[20]。RNA 与 RIG-I 和 MDA5 结合后, 通过 CARD-CARD 相互作用招募接头蛋白 MAVS^[15,23]。近来, 结构分析为 RIG-I 激活的分子机制提供了重要的线索^[24-27]。该结构揭示, 在静息状态下, RIG-I 以单体形式存在, 处在非活性状态, 其 CARDs 被解旋酶结构域固定在一个封闭的构象当中。一旦 C 端的抑制结构域和螺旋酶结构域结合 RNA 和 ATP, 构象立即发生改变, 随之暴露出 CARDs, 然后与 E3 泛素连接酶及 TRIM25 相互作用。TRIM25 使 CARD 的 K63 泛素化, 从而募集 MAVS。MAVS 蛋白在线粒体膜的抗病毒信号复合物的装配中起着至关重要的作用, 可以激活 IKK ϵ /TBK1 和 IKK α 、IKK β 和 IKK γ , 最终使 IRF3、IRF7 和 NF- κ B 活化, 进入细胞核启动 I 型干扰素的转录。研究表明,

RIG-I 在抵抗黄病毒科、副黏病毒科、正黏病毒科和弹状病毒科病毒感染时发挥主要作用, 而 MDA5 在抗小核糖核酸病毒脑心肌炎病毒 (EMCV) 时作用显著^[28-29]。RIG-I 和 MDA5 对轮状病毒和人鼻病毒诱导 I 型干扰素的产生起着至关重要的作用^[30-31]。LGP2 是 RLRs 家族的第三个成员, 在结构上类似于 RIG-I 和 MDA5, 但缺乏 CARDs。LGP2 能与 RIG-I 和 MDA5 竞争结合 RNA, 是 RLRs 的负调节因子^[32]。还有证据显示 LGP2 也能正向调控 RLRs, 是 RIG-I 和 MDA5 识别 RNA 病毒所必需的^[33]。

3.2 核苷酸结合寡聚化结构域(NOD2)

NLRs 有两个亚类: NOD (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD) 家族和 NALP (NACHT-LRR-PYD containing protein, NALP) 家族。NLR 家族是细菌微生物在细胞内的感受器, 由 3 个部分组成: (1) 多变的 N 端区域、半胱天冬酶招募结构域 (CARD) 或热蛋白结构域 (pyrin domain, PYD); (2) 核苷酸结合区 (nucleotide-binding domain, NBD); (3) C 端为亮氨酸富集区 (LRR)。NOD1 和 NOD2 是最早被发现的 NOD 蛋白家族成员。NOD1 和 NOD2 均能识别细菌肽聚糖^[34], 但是 NOD1 具有较严格的特异性, 它只识别存在于大多数革兰氏阴性菌中的含有二氨基庚二酸 (mesodiaminopimelic acid, DAP) 的肽聚糖^[35-36]。NOD1 和 NOD2 通过其 CARD 区募集受体相互作用蛋白 2 (receptor interaction protein 2, RIP2), 使丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPKs) 和核转录因子 NF- κ B 活化, 并诱导炎症反应。NOD2 的突变可引发克隆氏病 (Crohn's disease, CD) 和 Blau 综合征 (Blau syndrome, BS) 这两种慢性炎症^[37]。出人意料的是, NOD2 也识别单链 RNA (ssRNA), 并介导一些病毒的 I 型干扰素反应^[38]。NOD2 位于胞浆中, 检测 ssRNA 的方式类似于 RIG-I, 而对于其所识别的 ssRNA 的特性还不清楚。一旦 NOD2 识别 ssRNA, 其核苷酸中央结合结构域和 C- 末端 LRR 结构域相当于 RIG-I 的 CARD 区招募 MAVS, 从而诱导激活下游信号分子, 最终诱导 IFN 及一些炎症因子的产生。敲除 NOD2 的小鼠不能识别水泡性口炎病毒 (VSV) 和呼吸道合胞病毒 (RSV) 诱导产生 I 型 IFN。

3.3 DDX1、DDX21和DHX36

DDX1、DDX21 及 DHX36 是 DExD/ H 盒解旋酶家族成员, 是 dsRNA 的传感器, 依赖 TRIF 通路激活 I 型干扰素应答^[39-40]。DDX1、DDX21 及 DHX36 是 Poly(I:C) 识别的三联复合物, DDX1 结合 dsRNA,

而 DDX21 和 DHX36 招募 TIR 接头分子 TRIF 向下游传递信号。利用 RNA 干扰 (siRNA) 技术, 使这几种解螺旋酶表达量降低, 将抑制 A 型流感病毒和呼肠孤病毒诱导 IFN α/β 。与 RLRs 相比, DDX1、DDX21 和 DHX36 的作用仍不清楚。相比之下, RIG-I 和 MDA5 在细胞中的表达水平很低, 需要 I 型 IFN 信号上调它们的表达。DDX1、DDX21 和 DHX36 的抗病毒作用主要体现在感染早期, 而 RIG-I 和 MDA5 在其之后发挥作用^[41]。同时进一步的研究发现, DDX1、DDX21 及 DHX36 复合物识别病毒 dsRNA 后结合 TRIF, 从而激活依赖 TRIF 通路的 I 型 IFNs 应答^[41]。

4 诱导干扰素的DNA感受器

如上文所述, 除了 RNA 检测机制外, 胞浆内越来越多的 DNA 信号通路也被确定, 其传感机制类似于 RNA, 也是由多种受体介导的。DNA 是病毒在感染复制过程中产生的另一类重要的 PAMPs, 因此, 识别 DNA 的受体同样受到研究者的关注。当宿主组织破坏或病毒入侵时, DNA 将作为激活剂激活机体的免疫应答反应。在早期发现的模式识别受体中, 仅 TLR9 是外源 DNA 的识别受体。随后, Stetson 和 Medzhitov^[42] 发现了第一个不依赖 TLR9 途径检测 DNA 的通路。2006 年, Cheng 等^[43] 发现 RIG-I 既是 RNA 的识别受体, 也是 DNA 的识别受体。Ishii 等^[44] 证明 dsDNA 在缺乏 TLR 信号的细胞中也能诱导产生 I 型干扰素。随后的研究表明, 在胞内存在大量的模式识别受体可以检测到外源 DNA。下面将对几个诱导 IFNs 的 DNA 的胞内识别受体作一介绍。

4.1 DNA模式识别分子(DAI)

DAI 是一种能识别胞质双链 DNA 并调节 I 型干扰素应答的新发现的 DNA 感受器, 其命名为 DNA 依赖的干扰素调节因子激活物 (DNA-dependent activation of interferon regulatory factor, DAI)^[45]。DAI 又名 DLM-1 或 ZBP1 (Z-DNA binding protein1), 属于 Z-DNA 结合蛋白家族成员, 包含 4 个结构域: Z α (Z-DNA binding domain α)、Z β 、DNA 结合域 3 (region required for DNA binding, D3) 和信号转导域 (signaling domain, SD)^[46-47]。DAI 可以直接与 TBK1 和 IRF3 作用, 并激活 IRF3 对 dsDNA 的应答。DAI 可以识别人工合成的 DNA 或单纯疱疹病毒 1 (HSV-1), 并通过依赖 TBK1-IRF3 途径诱导 IFN α/β 基因的表达。研究表明, 敲除 DAI 基因后, poly

(dAT:dAT) 在鼠成纤维细胞系 (L929) 中不能诱导 IFN- β 的产生, 而在鼠胚胎成纤维细胞系 (MEF) 中仅有一定程度的下降^[48]。此外, 在 HEK293 细胞中超表达人源 DAI 可以增强 poly (dAT:dAT) 诱导的 IFN- β 启动子活性, 但是在 A549 细胞中超表达人源 DAI 却对 IFN- β 的表达没有任何影响^[49]。这些结果提示, DAI 在天然免疫中的作用具有细胞特异性和种属特异性^[50]。

4.2 RNA聚合酶III (RNA polymerase III, Pol III)

RNA 聚合酶 III 由多个基因编码, 可以识别胞质中富含 AT 的 DNA^[51-52]。研究表明, 转染 poly (dAT:dAT) (人工合成的含丰富 AT 的 dsDNA) 后, 可以在 RNA 聚合酶 III 的作用下转变成含有无帽子结构的 5'-ppp-dsRNA, 能被 RIG-I 识别, 并通过 RIG-I/IPS-1 依赖的天然免疫信号通路向下游传递信号, 而不是直接激活下游信号。但是, 在转染或用其他类型的 DNA 包括 poly (dG:dC)、小牛胸腺 DNA、PCR 扩增片段或质粒 DNA 处理后的细胞不能检测到相关信号。利用 siRNA 技术将 RNA 聚合酶 III 的组成成分之一——Pol III RF 进行基因沉默或利用 RNA 聚合酶 III 的抑制剂处理细胞后, 发现阻止了 poly (dAT:dAT) 生成 dsRNA。这些研究结果都表明了胞质中的 DNA 首先在 RNA 聚合酶 III 的作用下转变成 5'-ppp-dsRNA, 然后通过 RIG-I 途径来启动免疫应答。例如, 腺病毒和 EB 病毒感染细胞后在 RNA 聚合酶 III 的作用下被 RIG-I 识别, 并依赖 RIG-I 信号通路诱导 IFN α/β 基因的表达^[51-52]。

4.3 富亮氨酸重复序列相互作用蛋白1 (LRRFIP1)

富亮氨酸重复序列相互作用蛋白 1 (leucine rich repeat (in Fli-I) interacting protein 1, LRRFIP1) 在胞内既能识别 dsRNA, 也能识别 dsDNA。LRRFIP1 识别入侵的病原微生物的 DNA 和 RNA 后, 不是利用经典的 STING-TBK1-IRF3 信号通路途径而是通过一种非经典的信号转导通路激活产生 I 型 IFN, 该通路为 LRRFIP1 与 β -catenin 相互作用并促进后者的活化, 活化的 β -catenin 结合在转录因子 IRF3 的 C-末端结构域促进 IFN- β 表达^[53]。研究发现, 细胞内核酸结合蛋白 LRRFIP1 能够促进由水疱性口炎病毒 (VSV) 和李斯特菌引起的干扰素的产生。因此, LRRFIP1- β -catenin-IRF3 构成的另一个非经典的介导 I 型干扰素生成途径, 为将来抗感染药物的研究提供了新的靶点和思路^[54]。

4.4 细胞质内的其他DNA感受器

现阶段研究越来越多的胞内 DNA 传感器是

DDX41, 属于 DExD/H 解旋酶。在骨髓树突状细胞和单核细胞中, 通过 siRNA 敲除 DDX41 基因后, 将不能识别细胞内 dsDNA 诱导产生 I 型 IFNs^[55]。重要的是, 单纯疱疹病毒 1(HSV1) 和腺病毒诱导产生 IFN- β 也依赖于 DDX41。像 DDX1, DDX21 以及 DHX36 在 RNA 的信号通路中, DDX41 在病毒感染早期阶段识别 DNA。

此外, 如前面介绍的能结合 dsRNA 的 DExD/H 盒解旋酶, 其家族成员 DHX36 和 DHX9 在人 pDCs 细胞质中可以分别与 CpG-A DNA 及 CpG-B DNA 结合。一旦识别 CpG DNA, DHX36 和 DHX9 将通过 MyD88 途径激活 IRF7 和 NF- κ B, 使促炎症基因发生转录^[56]。

5 总结与展望

随着人们对 PRRs 介导的病毒核酸识别的先天免疫分子机制的深入研究, 对了解宿主-病原体之间的相互作用也有了深刻的见解。RLRs 作为典型的胞内识别病毒 RNA 的受体, 其配体特异性和配体识别的分子基础研究的已经比较清晰。其他胞内识别病毒核酸的 PRRs 研究也不断取得进步。了解细胞内 PRRs 介导的信号转导通路对发病机制的研究和抗病毒药物的研发有着至关重要的意义。

如上所述, 已有大量证据证明 IFNs 的激活是由许多因子, 尤其是细胞内受体通过识别病毒 RNA 或 DNA 激发多条信号通路共同作用的结果, 但是, 其潜在的分子机制还是不完全清楚。此外, 除了现有发现的识别病毒核酸的 PRRs 外, 是否还存在一些未被发现的新分子, 这些问题都需要更加深入的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Rathinam VA, Fitzgerald KA. Innate immune sensing of DNA viruses. *Virology*, 2011, 411(2): 153-62
- [2] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 2006, 124(4): 783-801
- [3] Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20(1): 197-216
- [4] Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, 2007, 449(7164): 819-26
- [5] Barbalat R, Ewald SE, Mouchess ML, et al. Nucleic acid recognition by the innate immune system. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 185-214
- [6] Bürckstümmer T, Baumann C, Blüml S, et al. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. *Nat Immunol*, 2009, 10(3): 266-72
- [7] Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*, 2009, 458(7237): 514-8
- [8] Hornung V, Latz E. Intracellular DNA recognition. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(2): 123-30
- [9] Fitzgerald KA, McWhirter SM, Faia KL, et al. IKK ϵ and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nat Immunol*, 2003, 4(5): 491-6
- [10] Sharma S, Grandvaux N, Zhou GP, et al. Triggering the interferon antiviral response through an IKK-related pathway. *Science*, 2003, 300(5622): 1148-51
- [11] Ishii KJ, Kawagoe T, Koyama S, et al. TANK-binding kinase-1 delineates innate and adaptive immune responses to DNA vaccines. *Nature*, 2008, 451(7179): 725-9
- [12] Rathinam VA, Fitzgerald KA. Cytosolic surveillance and antiviral immunity. *Curr Opin Virol*, 2011, 1(6): 455-62
- [13] Panne D, Maniatis T, Harrison SC. An atomic model of the interferon- β enhanceosome. *Cell*, 2007, 129(6): 1111-23
- [14] Yamamoto M, Sato S, Mori K, et al. Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN- β promoter in the Toll-like receptor signaling. *J Immunol*, 2002, 169(12): 6668-72
- [15] Seth RB, Sun L, Ea CK, et al. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- κ B and IRF3. *Cell*, 2005, 122(5): 669-82
- [16] Zhong B, Yang Y, Li S, et al. The adaptor protein MITA links virus-sensing receptors to IRF3 transcription factor activation. *Immunity*, 2008, 29(4): 538-50
- [17] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-8
- [18] Ishikawa H, Ma Z, Barber GN. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity. *Nature*, 2009, 461(7265): 788-92
- [19] 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): 730-7
- [20] Rehwinkel J, Reis e Sousa C. RIGorous detection: exposing virus through RNA sensing. *Science*, 2010, 327(5963): 284-6
- [21] Hornung V, Ellegast J, Kim S, et al. 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science*, 2006, 314(5801): 994-7
- [22] Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Satoh 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): 1601-10
- [23] Sun Q, Sun L, Liu HH, et al. The specific and essential role of MAVS in antiviral innate immune responses. *Immunity*, 2006, 24(5): 633-42
- [24] Jiang F, Ramanathan A, Miller MT, et al. Structural basis of RNA recognition and activation by innate immune

- receptor RIG-I. *Nature*, 2011, 479(7373): 423-7
- [25] 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): 423-35
- [26] Luo D, Ding SC, Vela A, et al. Structural insights into RNA recognition by RIG-I. *Cell*, 2011, 147(2): 409-22
- [27] Zeng W, Sun L, Jiang X, et al. Reconstitution of the RIG-I pathway reveals a signaling role of unanchored polyubiquitin chains in innate immunity. *Cell*, 2010, 141(2): 315-30
- [28] Gitlin L, Barchet W, Gilfillan S, et al. Essential role of mda-5 in type I IFN responses to polyriboinosinic: polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(22): 8459-64
- [29] 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): 335-45
- [30] Broquet AH, Hirata Y, McAllister CS, et al. RIG-I/MDA5/MAVS are required to signal a protective IFN response in rotavirus-infected intestinal epithelium. *J Immunol*, 2011, 186(3): 1618-26
- [31] Slater L, Bartlett NW, Haas JJ, et al. Coordinated role of TLR3, RIG-I and MDA5 in the innate response to rhinovirus in bronchial epithelium. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(11): e1001178
- [32] 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): 2851-8
- [33] Satoh T, Kato H, Kumagai Y, et al. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(4): 1512-7
- [34] Girardin SE, Travassos LH, Hervé M, et al. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2. *J Biol Chem*, 2003, 278(43): 41702-8
- [35] Chamillard M, Hashimoto M, Horie Y, et al. An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid. *Nat Immunol*, 2003, 4(7): 702-7
- [36] Girardin SE, Boneca IG, Carneiro LA, et al. Nod1 detects a unique muropeptide from gram-negative bacterial peptidoglycan. *Science*, 2003, 300(5625): 1584-7
- [37] Martinon F, Tschopp J. Inflammatory caspases: linking an intracellular innate immune system to autoinflammatory diseases. *Cell*, 2004, 117(5): 561-74
- [38] Sabbah A, Chang TH, Harnack R, et al. Activation of innate immune antiviral responses by Nod2. *Nat Immunol*, 2009, 10(10): 1073-80
- [39] Fuller-Pace FV. DExD/H box RNA helicases: multifunctional proteins with important roles in transcriptional regulation. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(15): 4206-15
- [40] Linder P. Dead-box proteins: a family affair - active and passive players in RNP-remodeling. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34(15): 4168-80
- [41] Zhang Z, Kim T, Bao M, et al. DDX1, DDX21, and DHX36 helicases form a complex with the adaptor molecule TRIF to sense dsRNA in dendritic cells. *Immunity*, 2011, 34(6): 866-78
- [42] Stetson DB, Medzhitov R. Recognition of cytosolic DNA activates an IRF3-dependent innate immune response. *Immunity*, 2006, 24(1): 93-103
- [43] Cheng G, Zhong J, Chung J, et al. Double-stranded DNA and double-stranded RNA induce a common antiviral signaling pathway in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(21): 9035-40
- [44] Ishii KJ, Coban C, Kato H, et al. A Toll-like receptor-independent antiviral response induced by double-stranded B-form DNA. *Nat Immunol*, 2005, 7(1): 40-8
- [45] Takaoka A, Wang Z C, Choi M K, et al. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. *Nature*, 2007, 448(7152): 501-5
- [46] Fu Y, Comella N, Tognazzi K, et al. Cloning of DLM-1, a novel gene that is up-regulated in activated macrophages, using RNA differential display. *Gene*, 1999, 240(1): 157-63
- [47] Rothenburg S, Schwartz T, Koch-Nolte F, et al. Complex regulation of the human gene for the Z-DNA binding protein DLM-1. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(4): 993-1000
- [48] Wang ZC, Choi MK, Ban T, et al. Regulation of innate immune responses by DAI (DLM-1/ZBP1) and other DNA-sensing molecules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(14): 5477-82
- [49] Lippmann J, Rothenburg S, Deigendesch N, et al. IFN β responses induced by intracellular bacteria or cytosolic DNA in different human cells do not require ZBP1 (DLM-1/DAI). *Cell Microbiol*, 2008, 10(12): 2579-88
- [50] Chi H, Flavell RA. Immunology: sensing the enemy within. *Nature*, 2007, 448(7152): 423-4
- [51] 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): 1065-72
- [52] 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): 576-91
- [53] Yang P, An H, Liu X, et al. The cytosolic nucleic acid sensor LRRFIP1 mediates the production of type I interferon via a β -catenin-dependent pathway. *Nat Immunol*, 2010, 11(6): 487-94
- [54] Rathinam VA, Sharma S, Fitzgerald KA. Catenin' on to nucleic acid sensing. *Nat Immunol*, 2010, 11(6): 466
- [55] Zhang Z, Yuan B, Bao M, et al. The helicase DDX41 senses intracellular DNA mediated by the adaptor STING in dendritic cells. *Nat Immunol*, 2011, 12(10): 959-65
- [56] Kim T, Pazhoor S, Bao M, et al. Aspartate-glutamate-alanine-histidine box motif (DEAH)/RNA helicase A helicases sense microbial DNA in human plasmacytoid dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(34): 15181-6