



干扰素刺激基因的抗病毒机制

白思宇, 杨倩, 仇华吉*

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 黑龙江 哈尔滨 150069

摘要: 干扰素刺激基因(Interferon-stimulated genes, ISGs)作为由干扰素(Interferons, IFNs)诱导表达的基因, 在宿主抵抗病毒感染过程中发挥着至关重要的作用。越来越多的研究表明, ISGs 能够靶向病毒复制的不同阶段进而抵抗病毒感染。由于 ISGs 成员众多, 且各自的结构及其在细胞中的定位也各不相同, 这决定了 ISGs 在宿主体内以不同机制来发挥抗病毒作用。本文将简要介绍 IFNs 如何通过 JAK-STAT 通路调控 ISGs 的表达, 并归纳和讨论不同 ISGs 家族蛋白较为典型的抗病毒机制。

关键词: 干扰素刺激基因, 干扰素, 天然免疫, 抗病毒机制

固有免疫是生命进化选择的必然结果, 它是机体抵抗病原体入侵后产生的第一道屏障, 而干扰素(Interferons, IFNs)介导的抗病毒作用是其中极为重要的环节。1957年, Isaacs 与 Lindenmann 最先定义了 IFNs, 意为由细胞产生的、能够干扰流感病毒感染的物质^[1]。IFNs 是一种分泌型蛋白, 由细胞识别病原相关分子模式(Pathogen-associated molecule patterns, PAMPs)诱导产生^[2]。IFNs 产生后与细胞表面的 IFNs 受体相结合, 进而启动下游 JAK-STAT 信号通路, 并诱导大量干扰素刺激基因(Interferon-stimulated genes, ISGs)的转录。随着 IFNs 研究的不断深入, 研究者最终解析了 IFNs 是如何通过 JAK-STAT 通路调控 ISGs 的表达。但

是各种 ISGs 的抗病毒机理还有待深入研究^[3]。

不同病毒感染后会导致宿主体内各种基因表达发生改变, 使宿主呈现不同的生理状态。病毒侵入机体后, 通过诱导 I 和 III 型 IFNs 刺激机体细胞产生成百上千种 ISGs, 进而发挥抗病毒作用。ISGs 所表达的蛋白不仅能够直接抑制病毒的复制, 而且能够反馈调节 IFNs 的表达量间接发挥抗病毒作用^[3]。现有大量研究报道了多种 ISGs 蛋白以及多个 ISGs 家族蛋白的抗病毒作用及相关机制, 结果表明, 不同的 ISGs 能够对病毒从入侵到释放的多个阶段产生抑制作用。本文将简述 ISGs 的诱生机制, 并着重叙述 ISGs 的各种抗病毒机制。

基金项目: 国家自然科学基金(31572540, 31672537)

*通信作者。Tel/Fax: +86-451-51051708; E-mail: huajiqu@hvri.ac.cn

收稿日期: 2017-04-16; 修回日期: 2017-06-04; 网络出版日期: 2017-07-27

1 ISGs 的诱导产生

IFNs 能够通过细胞表面受体非常快速地将信号传递至细胞内部, 诱导 ISGs 的表达, 发挥抗病毒作用。根据 IFNs 的受体可将其分为 3 类, 即 I、II 及 III 型 IFNs。不同种类的细胞因其具体功能不同, 可分泌不同类型的 IFNs, 并通过不同的信号转换途径激活各自的 ISGs 体系^[4-5]。因而, IFNs 对 ISGs 表达的调控及其产物的生物学功能和抗病毒活性是研究 IFNs 抗病毒机制的核心内容。

IFNs 通过 JAK-STAT 通路将胞外信号传递至胞内后诱导 ISGs 转录。在没有 IFNs 刺激的情况

下, 酪氨酸激酶(Janus kinases, JAKs)以无活性的状态围绕在 IFNs 受体周围, 一旦 IFNs 与其受体结合后, JAKs 被激活。激活的 JAKs 使转录因子 STAT (Signal transducer and activator of transcription)的酪氨酸发生磷酸化, 活化的 STAT 从 IFN 受体周围离开并进入细胞核调控 ISGs 的表达。例如 I 型和 III 型 IFNs 的信号能够使 STAT1 与 STAT2 发生磷酸化形成异源二聚体, 再与 IRF9 (Interferon-regulatory factor 9)结合形成复合物 ISGF3 (Interferon-stimulated gene factor 3)。ISGF3 能够入核并结合到 ISGs 的上游序列干扰素刺激应答元件(Interferon-stimulated response elements, ISRE)上, 诱导 ISGs 大量转录(图 1)。IFN- γ 与细

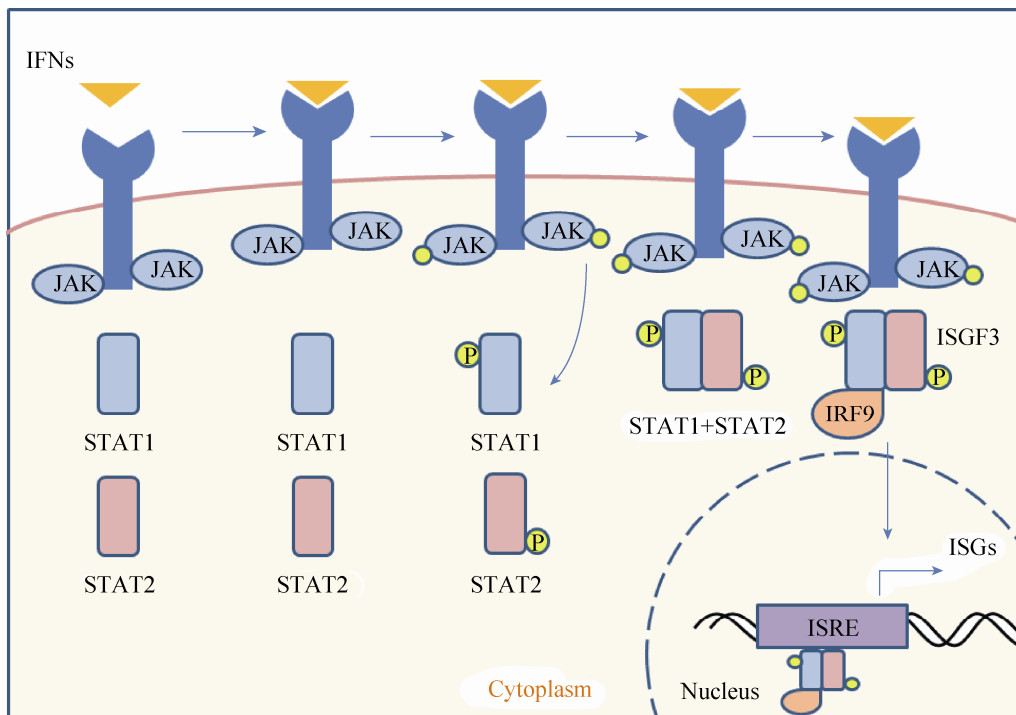


图 1. I 型与 III 型干扰素激活胞内的 JAK-STAT 通路示意图(改编自参考文献[6])

Figure 1. Activation of the JAK-STAT pathway by types I and III IFNs (adapted from reference [6]). When IFNs bind to their receptors, the JAKs are activated and phosphorylated. And the phosphorylation of JAKs leads to the recruitment and phosphorylation of STAT1 and STAT2, which induce them to dimerize. The heterodimer in turn recruits IRF9 to form ISGF3. And ISGF3 translocates to the nucleus, where it can regulate the genes expression. IFNs: Interferons; JAKs: Janus kinases; STAT: Signal transducer and activator of transcription; IRF9: Interferon-regulatory factor 9; ISGF3: Interferon-stimulated gene factor 3.

胞表面的受体结合后, 激活 JAKs, 引起 STAT1 发生磷酸化并形成同源二聚体, 进入细胞核后激活 GAS (Gamma-activated sequence) 元件, 诱导 ISGs 的表达^[6]。而 STAT2 还可以与 IRF9 形成复合物, 直接入核并调控 ISGs 的转录^[7]。

2 ISGs 的抗病毒作用

IFNs 现已被用于治疗病毒性疾病。ISGs 作为 IFNs 抗病毒的主要执行者, 其研究价值不言而喻。ISGs 表达的蛋白涵盖极广, 种类繁多, 且具有多种生物学活性, 难以简单地通过结构或功能对其进行全面地分类。病毒的复制周期主要包括入侵、脱壳、复制、装配以及释放阶段, 而目前的研究显示, ISGs 能够有效靶向病毒复制周期的各个阶段, 抑制其复制, 从而实现抗病毒作用。因此, 本文将 ISGs 所针对的病毒复制的不同阶段对 ISGs 进行分类整理, 并以其中几个主要的 ISGs 家族为例对 ISGs 的抗病毒功能及相关机制进行阐述。

2.1 针对病毒的入侵阶段

2.1.1 抗黏病毒蛋白(Mx): Mx 是第一个被发现具有抑制病毒入侵功能的 ISG 蛋白, 在人体内该家族编码 Mx1 和 Mx2 两种蛋白。最初证实, Mx1 能够在病毒侵入机体后, 阻碍其核酸进入细胞后的早期转录^[8]。随着研究手段的丰富, 发现该家族蛋白与动力蛋白(Dynamin)家族的蛋白结构上高度相似^[9], 而 Mx1 的抗病毒能力高度依赖其保守的结构域, 其 GTP 酶活性能够使高度聚合化的 Mx1 复合物解离为二聚体以及四聚体, 只有以低聚化复合物的形式存在时, Mx1 才能够阻碍病毒核酸的进入来发挥抗病毒的功能^[9-11]。此外, Mx1 不仅能够通过抑制病毒核酸进入胞内来拮抗病

毒, 还能够通过调节 IRF3 的磷酸化来反向调节胞内 IFNs 的产生^[12]。该家族另一成员 Mx2 蛋白, 存在于细胞核内与胞浆两个区域, 该蛋白末端有核定位信号(NLS), 能够被 IFN- α 上调。研究证实, Mx2 具有抗逆转录病毒的活性, 上调该蛋白后能够抑制人免疫缺陷病毒(HIV)的增殖^[13]。

2.1.2 干扰素诱导跨膜蛋白(IFITM proteins): 人体内存在 4 种该家族的蛋白, IFITM1、IFITM2、IFITM3 和 IFITM5, 该家族蛋白均能抑制流感病毒的感染。随后研究者们通过基因组学筛选进一步确认, 该家族蛋白能够影响流感等多种病毒的侵入以及释放^[14]。不同的 IFITM 家族蛋白针对不同种类的病毒表现出不同的抑制能力^[15], IFITM1 比 IFITM3 更显著地抑制冠状病毒与线状病毒的复制, 而 IFITM3 能更有效地拮抗流感病毒^[16]。该家族蛋白之所以能够抑制多种病毒增殖, 主要是因其能够通过降低膜的流动性以及稳定性, 来阻碍病毒囊膜与细胞膜相融合从而发挥抗病毒作用^[17]。此外, IFITM 家族蛋白对流感病毒膜融合的抑制会受到胞外 pH 调控^[18]。

2.1.3 胆固醇 25-羟基氧化酶(CH25H): 作为一种能够同时被 I 型和 II 型 IFNs 上调的蛋白, 它能够将胆固醇氧化为 25 羟基胆固醇(25-Hydroxycholesterol, 25HC), CH25H 也主要是通过 25HC 这种可溶性物质来抵抗病毒的入侵。近期研究显示, CH25H 的产物 25HC 具有广泛的抗病毒活性。过表达 CH25H 或用 25HC 处理细胞后, 发现囊膜病毒的感染被显著地抑制^[19]。25HC 能够阻碍细胞与多种病毒间的膜融合, 这说明脂膜的羟固醇化可能与 CH25H 的抗病毒作用相关^[19]。25HC 能够通过影响黄病毒科的寨卡病毒(ZIKV)的膜融合来抑制病毒感染, 从而阻止该病毒诱发的小头畸形症状, 这进一步说明了 CH25H 是一

种重要的抗病毒蛋白^[20]。此外, CH25H 能够通过影响拉沙热病毒(LASV) GP1 蛋白的糖基化来阻碍病毒与宿主受体的吸附, 从而抑制病毒的入侵^[21]。

2.2 针对病毒的复制与转录阶段

2.2.1 2'-5' 寡腺苷酸合成酶(OAS): OAS (2'-5'-Oligoadenylate synthetase)与 PKR (Protein kinase R)是最早被发现的由双链 RNA (dsRNA)诱导产生的有活性的蛋白激酶, 这两种酶依赖各自的功能抑制病毒蛋白合成及病毒感染。由 IFNs 诱导产生的 OAS 起初并无活性, 只有在 dsRNA 激活后才能够发挥抗病毒功能^[22], 激活后 OAS 能够诱导 ATP 水解产生 2'-5'寡腺苷酸, 从而激活内源性的内切核糖核酸酶 L (RNase L);活化的 RNase L 可降解病毒和宿主的 RNA, 抑制蛋白合成, 进而发挥抗病毒功能^[23]。生物体内不同的 OAS 蛋白具有不同的结构, 本团队在近期研究中发现, 猪源 OASL 蛋白并不依赖其活化 RNase L 通路来拮抗猪瘟病毒(CSFV), 而是通过与 MDA5 互作从而增强其拮抗 CSFV 的能力^[24]。

2.2.2 双链 RNA 依赖性蛋白激酶 R(PKR): PKR 能够被病毒入侵细胞后复制过程产生的 dsRNA 激活。在 PKR 的氨基端有一个能够识别 dsRNA 的结构域, 其羧基端有一个激酶功能域。该蛋白在胞浆中原本处于无活性的状态, 当病毒的双链 RNA 被其识别后该蛋白发生磷酸化, 并形成二聚体进而激活翻译起始因子 eIF2 α (Eukaryotic initiation factor 2 α , eIF2 α)^[25]。该翻译起始因子的激活不仅能够抑制病毒 mRNA 的翻译阻碍病毒元件的合成, 还能够调控细胞自身以及病毒所诱导的自噬来拮抗病毒^[26-28]。PKR 可通过磷酸化激活 NF- κ B 从而上调 IFNs, 使局部组织迅速对病毒入侵产生

应激。此外, PKR 可引起细胞凋亡进而阻碍病毒的传播^[29], 由于该蛋白的激酶活性, 使其抗病毒机制相对来说比较复杂。

2.2.3 锌指抗病毒蛋白(ZAP): ZAP 是哺乳动物体内的一种抗病毒蛋白, 该蛋白能够有效地抑制多种 RNA 病毒(如反转录病毒、甲病毒以及线状病毒等)复制^[30]。人源 ZAP 蛋白的 mRNA 经过不同的剪切方式能够得到大小不同的两种蛋白, 分子量较大的为 hZAP-L, 较小的为 hZAP-S。IFNs 或 IPS-1 处理能上调 ZAP 蛋白的表达, 而 ZAP 蛋白能够识别并结合病毒 RNA 上的 ZAP 应答元件(ZAP-responsive elements, ZRE), 随后募集多种外切酶降解病毒 RNA。已有研究证实 ZAP 蛋白能利用其自身的锌指结构域识别病毒的 ZRE, 从而降解乙型肝炎病毒(HBV)的前体 RNA 来抑制 HBV 的复制^[31]。最近发现, ZAP 蛋白还能靶向病毒的 5'-UTR 并抑制与心脏相关的炎症因子的表达, 从而抑制柯萨奇病毒的感染^[32]。

2.2.4 IFIT 蛋白家族: IFIT 蛋白是指由 IFNs 诱导的、含肽重复结构域的蛋白(Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats, IFIT)^[33]。该家族蛋白在人体内包含有 4 个家族成员 IFIT1、IFIT2、IFIT3 及 IFIT5, 主要由大量的肽重复序列结构域(Tetratricopeptide repeats, TPRs)构成^[34]。IFIT 家族蛋白能够调节转录起始、细胞增殖与细胞迁移等多种生命活动。该家族的 TPRs 结构域可介导蛋白与蛋白间的互作, 该家族中的 IFIT1 与 IFIT2 能够通过真核起始因子 3 (Eukaryotic initiation factor 3, eIF3)的 e 亚基与 c 亚基互作来抑制翻译复合物的形成, 从而抑制翻译的起始^[35]。此外, 在病毒感染或是 IFNs 诱导后, IFIT 家族蛋白能够与其他家族蛋白以及数种 RNA 结合蛋白

形成复合体,从而清除病毒^[33]。近期随着 IFIT 家族蛋白结构的解析,发现 IFIT1 与 IFIT5 含有一个带有正电的结构能够特异性地结合单链 RNA 的 5'三磷酸,这表明 IFIT 家族蛋白不仅能够通过影响翻译复合体的形成来影响 RNA 翻译,还可能直接与 RNA 相结合从而发挥抗病毒作用^[34]。

2.2.5 干扰素刺激基因 15 (ISG15): 人源 ISG15 的 mRNA 编码一个分子量为 17 kDa 的前体蛋白后,该蛋白的羧基端被切去 8 个氨基酸形成分子量为 15 kDa 的成熟蛋白质^[36]。ISG15 是泛素样蛋白(Ubiquitin-like modifiers, UBLs)家族中的一员,该家族蛋白能够与靶蛋白结合将靶蛋白 ISG 化(ISGylation),从而发挥其活性。UBLs 蛋白的氨基酸序列与泛素蛋白的相似性有限,但是在三维结构上却较为相近^[37]。ISG15 作为一种分泌型细胞因子,可以通过其自身的 LRLRGG 结构域结合靶蛋白,从而使靶蛋白 ISG 化。ISG 化具有广泛的生物学活性,如 IRF3 的 ISG 化能够通过阻碍其泛素化而增加 IRF3 的稳定性^[38]。宿主蛋白 4EHP 的 ISG 化能够增加自身对 mRNA 5'端的亲和力,从而促进 4EHP 对 mRNA 翻译起始的抑制^[39]。ISG15 能够通过其 MVB 蛋白互作使其 ISG 化,并引起该蛋白的降解,从而减少外泌体的分泌^[40]。同时 ISG15 能够使 T 淋巴细胞与 NK 细胞释放 IFN- γ , ISG15 缺陷型小鼠与人更易遭受严重的分枝杆菌感染^[41]。

2.2.6 鸟苷酸结合蛋白(GBPs): GBPs 与 Mx 同属于 GTP 酶家族,存在于大部分脊椎动物体内^[42]。在大部分细胞中,GBPs 蛋白由多种细胞因子诱导产生,如白介素(IL-1 β)、I 型 IFNs 及肿瘤坏死因子,而 IFN- γ 能够更为有效地诱导 GBPs 的表达^[43-44]。GBPs 不仅能够通过其 GTP 酶活性发挥多种生物学功能,还能够以不依赖 GTP 酶活性的方式通过

促炎性因子来调节血管生成^[43,45]。近期,我们发现,GBP1 能够通过其 GTP 酶活性来抑制猪痘病毒(CSFV)的复制^[46]。也有研究发现,GBP5 蛋白能够通过影响 HIV 囊膜蛋白的合成与修饰来抑制 HIV 的感染,而该过程并不依赖于 GBP5 的 GTP 酶活性^[47]。

2.2.7 硫氧还蛋白(Trxs): 硫氧还蛋白是广泛存在于细菌以及动植物体内的一种氧化还原蛋白,该蛋白在动植物体内具有包括氧化还原功能在内的多种生物学活性。Trxs 具有 CGPC 活性位点,是生物细胞中重要的二硫化物还原酶^[48]。研究者通过免疫电镜确定,Trxs 蛋白位于大肠杆菌细胞周至间隙以及大肠杆菌的拟核区两个区域^[49]。Trxs 蛋白在抗病毒方面的报道较少,最近本团队发现,Trx2 能够通过加强转录因子 p65 的核转位来增强 NF- κ B 的转录,从而实现其抗病毒功能^[50]。

2.3 针对病毒的释放阶段

2.3.1 Viperin 蛋白: Viperin 是一种能够有效抑制病毒释放的抗病毒蛋白,在病毒感染的整个过程中发挥了重要的抗病毒作用。多种因子可诱导产生该蛋白,如 I 型和 III 型 IFNs、DNA 和 RNA 病毒衣壳蛋白等。Viperin 可通过两种途径诱导,其一是 JAK-STAT 通路,其二是由 IRF3 直接刺激^[2]。Viperin 能够抑制多种 DNA 和 RNA 病毒,如丙型肝炎病毒(HCV)、流感病毒(Influenza virus)及 HIV 等^[51]。在感染 HCMV 的细胞中,随着 Viperin 在细胞内的迁移,HCMV 的结构蛋白合成以及 HCMV 的装配和成熟都受到抑制^[52]。目前研究表明,Viperin 可通过破坏细胞膜上的脂筏来抑制流感病毒的出芽及释放^[53]。

2.3.2 骨髓基质细胞抗原 2 (Tetherin): Tetherin 是由 *BST2* 基因编码的一种脂筏相关跨膜蛋白^[54]。

I 型 IFNs 能够诱导 Tetherin 蛋白的表达, 起初在 Perez-Caballero 等的研究中发现, 该蛋白是一种能够与病毒囊膜相结合的跨膜蛋白, 使病毒锚定在细胞膜上, 从而抑制病毒的释放^[55]。随后进一步确定了 Tetherin 蛋白能够通过形成二聚体, 一端存在于 HIV 囊膜上另一端存在于宿主的细胞膜上, 从而将新形成的 HIV 粒子锚定在宿主细胞表面^[56]。此外 Tetherin 蛋白还能够与 SIV 的囊膜蛋白相互作用, 从而抑制 SIV 颗粒从宿主细胞表面释放^[57]。Tetherin 蛋白之所以能够拮抗多种有囊膜病毒, 也可能是因为该蛋白与病毒囊膜蛋白均能够靶向宿主细胞的磷脂双分子层, 从而通过蛋白互作等方式来抑制病毒出芽、释放的过程。

2.4 针对病毒复制的多个阶段

TRIM 家族蛋白: TRIM 家族是一个成员众多的蛋白家族, 该家族至少包含有 60 余种蛋白。该家族蛋白因为大多具有 RING 结构域、B-box 结构域以及卷曲螺旋结构域 3 个极为保守的结构域而得名。根据蛋白结构、基因组结构以及进化的方式 TRIM 家族蛋白可被分为两类。第一类 TRIM 家族蛋白的 C 端具有多样性, 而且保守地存在于脊椎动物和无脊椎生物体内。第二类 TRIM 家族蛋白不存在于无脊椎生物体内, 且该类 TRIM 蛋白的 C 端具有一个独特的 SPRY 结构域^[58]。TRIM 蛋白在宿主免疫防御系统中起到重要作用, 能够诱导细胞因子和促炎性因子的产生, 还参与调节宿主的自噬和适应性免疫等^[59-60]。TRIM 家族蛋白不仅能够由 IFNs 诱导产生, 还能够反过来调节 IFNs。有研究证实, 信号因子 I (SOCS1) 能够通过负调控 JAK-STAT 通路来下调 ISGs 的表达。而 TRIM8 能与 SOCS1 结合, 从而促进 SOCS1 的降解, 抑制 SOCS1 对 IFN- γ 信号的下调^[61]。TRIM

家族的抗病毒功能和机制是多样化的。TRIM52 能够与日本脑炎病毒(JEV)的非结构蛋白 NS2A 互作, 发挥其 E3 泛素连接酶的活性并诱导 NS2A 泛素化以及降解^[62]。TRIM5 α 能够通过识别成熟病毒衣壳蛋白的特定结构域来阻碍 HIV 的脱壳^[63]; TRIM11 与 TRIM32 能够抑制 HIV 基因的表达^[64]; TRIM22 与 TRIM15 能够抑制 HIV 的装配^[65]。这说明 TRIM 蛋白的抗病毒作用能够靶向病毒感染生命周期的多个阶段。

总之, ISGs 作为宿主发挥抗病毒作用的一类效应分子, 几乎可以靶向病毒侵入、脱壳、基因组复制、病毒粒子装配以及释放等环节, 从而抑制病毒的增殖, 如图 2。因此, 研究 ISGs 有助于深入了解宿主抗病毒机理, 揭示病毒逃避宿主抗病毒机制。

3 问题和展望

IFNs 激活 ISGs 是固有免疫中发挥抗病毒效应极为关键的一环。除上述抗病毒相关的效应蛋白外, IFNs 还可以诱导很多抗病毒 ISGs。例如 DDX60、IFI44L、IFI6、MAP3K4、MOV10、NAMPT、RTP4、TREX1 和 UNC84B 等 ISGs 表达的蛋白也具有抗病毒的作用^[66], 且某些 ISGs 表达的效应蛋白的抗病毒活性具有病毒特异性。而某些 ISGs 效应蛋白在对一些病毒产生抑制的同时也可能刺激其他病毒的复制, 如 ISG15 促进 HCV 的复制, 并抑制干扰素抗 HCV 活性^[67]。IFNs 能诱导的 ISGs 数量极为庞大, 尽管多年来已经鉴定出许多 ISGs, 但只有部分 ISGs 的抗病毒活性和相关机制得以阐明, 绝大多数 ISGs 的相关生物学和抗病毒作用机制还有待于深入探索。

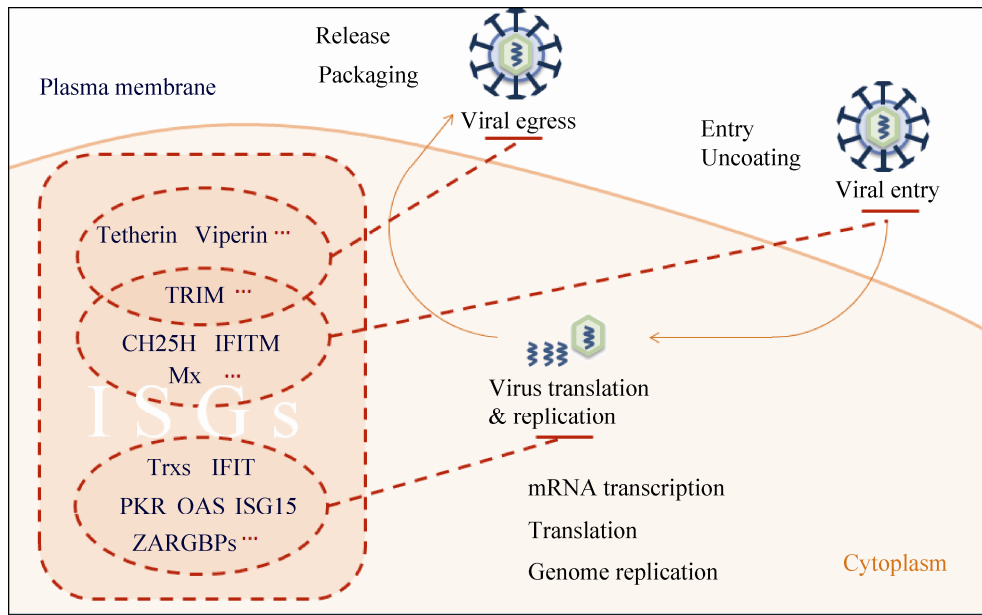


图 2. ISGs 抑制病毒周期各阶段示意图

Figure 2. ISG proteins target specific steps of the virus life cycle. IFNs can induce the expression of a series of ISGs, which target different steps of the virus life cycle. Mx: Myxovirus resistance; IFITM: Interferon-induced transmembrane family; CH25H: Cholesterol-25-hydroxylase; OAS: 2'-5'-Oligoadenylate synthetase; PKR: Protein kinase R; ZAP: Zinc-finger antiviral protein; IFIT: IFN-induced protein with tetratricopeptide repeats family; ISG15: Interferon-stimulated gene 15; GBPs: Guanylate-binding proteins; Trxs: Thioredoxins; TRIM: Tripartite motif family.

研究 ISGs 不仅有助于深入了解宿主抗病毒机制，也为开辟新的抗病毒策略及开发新型预防和治疗病毒性疾病的方法提供理论依据和参考。目前 IFNs 干预仍是治疗很多病毒性疾病的主要方法，但很多病毒性疾病的患者对 IFNs 治疗的应答效率在逐步降低。寻找新型的抗病毒靶点以及研发价格便宜、持续时间长的抗病毒药物迫在眉睫。许多干扰素诱导蛋白可以直接作用于病毒，或通过影响宿主直接抑制病毒基因转录、降解病毒 RNA、抑制病毒蛋白的翻译和修饰功能等来拮抗病毒。因而对 ISGs 功能更深层次的研究将有助于开发新型的更有效抗病毒的靶标药物，为小分子抑制剂的研发开拓了新的领域。研究抗病毒 ISGs 和相关机制，既具有突出的科学意义又具有潜在

的应用价值，其前景极为诱人，为控制病毒感染提供了新的方向。

然而，对于 ISGs 的抗病毒机理及临床应用的研究还存在很多问题。不同病毒感染的细胞中诱导的 ISGs 种类和表达量与 IFNs 处理后的细胞存在明显差异。IFNs 处理后的细胞 ISGs 表达更加趋近于整体上调，而病毒感染细胞后，ISGs 则主要表现为部分 ISGs 明显上调，而这些明显上调的 ISGs 往往发挥着重要的抗病毒作用，其机制尚未得到解析。此外，虽然 ISGs 作为药物靶点前景宽广，但是困难重重。首先，ISGs 在体内往往有多种功能，盲目地作为靶标药物有很大的风险。其次，ISGs 在机体内大多以一种组合的方式对抗不同病毒，很难通过调控单一 ISG 达到清除病毒的

目的, 且改变某一种 ISG 的表达量很可能会破坏这一组合, 对机体其他抗病毒效应产生影响。因此, ISGs 抗病毒作用机制及其相关应用的研究仍然任重而道远。

参考文献

- [1] Isaacs A, Lindenmann J. Pillars article: virus interference. I. the interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1957. 147: 258–267.
- [2] Pestka S. The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(28): 20047–20051.
- [3] Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annual Review of Immunology*, 2014, 32: 513–545.
- [4] Secombes CJ, Zou J. Evolution of interferons and interferon receptors. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 209.
- [5] Moraga I, Harari D, Schreiber G, Uzé G, Pellegrini S. Receptor density is key to the alpha2/beta interferon differential activities. *Molecular and Cellular Biology*, 2009, 29(17): 4778–4787.
- [6] O'Shea JJ, Schwartz DM, Villarino AV, Gadina M, McInnes IB, Laurence A. The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention. *Annual Review of Medicine*, 2015, 66: 311–328.
- [7] Fink K, Grandvaux N. STAT2 and IRF9: beyond ISGF3. *JAK-STAT*, 2013, 2(4): e27521.
- [8] Zürcher T, Pavlovic J, Staeheli P. Mechanism of human MxA protein action: variants with changed antiviral properties. *The EMBO Journal*, 1992, 11(4): 1657–1661.
- [9] Nigg PE, Pavlovic J. Oligomerization and GTP-binding requirements of MxA for viral target recognition and antiviral activity against influenza A virus. *The Journal of Biological Chemistry*, 2015, 290(50): 29893–29906.
- [10] Kochs G, Haller O. Interferon-induced human MxA GTPase blocks nuclear import of Thogoto virus nucleocapsids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(5): 2082–2086.
- [11] Verhelst J, van Hoecke L, Spitaels J, de Vlioger D, Kolpe A, Saelens X. Chemical-controlled activation of antiviral myxovirus resistance protein 1. *The Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(6): 2226–2236.
- [12] Schattgen SA, Oguin TH, Thomas PG. The antiviral molecule Mx1 positively regulates the induction of type I IFN in response to influenza infection. *The Journal of Immunology*, 2016, 196(S1): 202.7.
- [13] Goujon C, Moncorgé O, Bauby H, Doyle T, Ward CC, Schaller T, Hué S, Barclay WS, Schulz R, Malim MH. Human MX2 is an interferon-induced post-entry inhibitor of HIV-1 infection. *Nature*, 2013, 502(7472): 559–562.
- [14] Brass AL, Huang IC, Benita Y, John SP, Krishnan MN, Feeley EM, Ryan BJ, Weyer JL, van der Weyden L, Fikrig E, Adams DJ, Xavier RJ, Farzan M, Elledge SJ. The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. *Cell*, 2009, 139(7): 1243–1254.
- [15] Lewin AR, Reid LE, McMahon M, Stark GR, Kerr IM. Molecular analysis of a human interferon-inducible gene family. *European Journal of Biochemistry*, 1991, 199(2): 417–423.
- [16] Huang IC, Bailey CC, Weyer JL, Radoshitzky SR, Becker MM, Chiang JJ, Brass AL, Ahmed AA, Chi XL, Dong L, Longobardi LE, Boltz D, Kuhn JH, Elledge SJ, Bavari S, Denison MR, Choe H, Farzan M. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(1): e1001258.
- [17] Li K, Markosyan RM, Zheng YM, Golfetto O, Bungart B, Li MH, Ding SL, He YX, Liang C, Lee JC, Gratton E, Cohen FS, Liu SL. IFITM proteins restrict viral membrane hemifusion. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(1): e1003124.
- [18] Gerlach T, Hensen L, Matrosovich T, Bergmann J, Winkler M, Peteranderl C, Klenk HD, Weber F, Herold S, Pöhlmann S, Matrosovich M. pH optimum of hemagglutinin-mediated membrane fusion determines sensitivity of influenza A viruses to the interferon-induced antiviral state and IFITMs. *Journal of Virology*, 2017, 91(11): e00246-17.
- [19] Liu SY, Aliyari R, Chikere K, Li GM, Marsden MD, Smith JK, Pemet O, Guo HT, Nusbaum R, Zack JA, Freiberg AN, Su LS, Lee B, Cheng GH. Interferon-inducible cholesterol-25-hydroxylase broadly inhibits viral entry by production of 25-hydroxycholesterol. *Immunity*, 2013, 38(1): 92–105.
- [20] Li CF, Deng YQ, Wang S, Ma F, Aliyari R, Huang XY, Zhang NN, Watanabe M, Dong HL, Liu P, Li XF, Ye Q, Tian M, Hong S, Fan JW, Zhao H, Li LL, Vishlaghi N, Buth JE, Au C, Liu Y, Lu N, Du PS, Qin FFX, Zhang B, Gong DY, Dai XH, Sun R, Novitch BG, Xu ZH, Qin CF, Cheng GH. 25-Hydroxycholesterol protects host against Zika virus infection and its associated microcephaly in a mouse model. *Immunity*, 2017, 46(3): 446–456.

- [21] Shrivastava-Ranjan P, Bergeron É, Chakrabarti AK, Albariño CG, Flint M, Nichol ST, Spiropoulou CF. 25-hydroxycholesterol inhibition of Lassa virus infection through aberrant GPI glycosylation. *mBio*, 2016, 7(6): e01808-16.
- [22] Hovanessian AG. Interferon-induced and double-stranded RNA-activated enzymes: a specific protein kinase and 2',5'-oligoadenylate synthetases. *Journal of Interferon Research*, 1991, 11(4): 199–205.
- [23] Floyd-Smith G, Slattery E, Lengyel P. Interferon action: RNA cleavage pattern of a (2'-5')oligoadenylate--dependent endonuclease. *Science*, 1981, 212(4498): 1030–1032.
- [24] Li LF, Yu J, Zhang Y, Yang Q, Li YF, Zhang L, Wang J, Li S, Luo Y, Sun Y, Qiu HJ. Interferon-inducible oligoadenylate synthetase-like protein acts as an antiviral effector against classical swine fever virus via the MDA5-mediated type I interferon-signaling pathway. *Journal of Virology*, 2017, 91(11): e01514-16.
- [25] Sudhakar A, Ramachandran A, Ghosh S, Hasnain SE, Kaufman RJ, Ramaiah KVA. Phosphorylation of serine 51 in initiation factor 2 α (eIF2 α) promotes complex formation between eIF2 α (P) and eIF2B and causes inhibition in the guanine nucleotide exchange activity of eIF2B. *Biochemistry*, 2000, 39(42): 12929–12938.
- [26] Feng GS, Chong K, Kumar A, Williams BR. Identification of double-stranded RNA-binding domains in the interferon-induced double-stranded RNA-activated p68 kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5447–5451.
- [27] Amici C, La Frazia S, Brunelli C, Balsamo M, Angelini M, Santoro MG. Inhibition of viral protein translation by indomethacin in vesicular stomatitis virus infection: role of eIF2 α kinase PKR. *Cellular Microbiology*, 2015, 17(9): 1391–1404.
- [28] Tallóczy Z, Jiang WX, Virgin IV HW, Leib DA, Scheuner D, Kaufman RJ, Eskelinen EL, Levine B. Regulation of starvation- and virus-induced autophagy by the eIF2 α kinase signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(1): 190–195.
- [29] Wang YY, Men M, Xie B, Shan JG, Wang CX, Liu JD, Zheng H, Yang WG, Xue S, Guo CF. Inhibition of PKR protects against H₂O₂-induced injury on neonatal cardiac myocytes by attenuating apoptosis and inflammation. *Scientific Reports*, 2016, 6: 38753.
- [30] Müller S, Möller P, Bick MJ, Wurr S, Becker S, Günther S, Kümmerer BM. Inhibition of filovirus replication by the zinc finger antiviral protein. *Journal of Virology*, 2007, 81(5): 2391–2400.
- [31] Mao RC, Nie H, Cai DW, Zhang JM, Liu HY, Yan R, Cuconati A, Block TM, Guo JT, Guo HT. Inhibition of hepatitis B virus replication by the host zinc finger antiviral protein. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(7): e1003494.
- [32] Li M, Yan KP, Wei L, Yang J, Lu CY, Xiong F, Zheng CF, Xu W. Zinc finger antiviral protein inhibits coxsackievirus B3 virus replication and protects against viral myocarditis. *Antiviral Research*, 2015, 123: 50–61.
- [33] Pichlmair A, Lassnig C, Eberle CA, Góna MW, Baumann CL, Burkard TR, Bürckstümmer T, Stefanovic A, Krieger S, Bennett KL, Rülcke T, Weber F, Colinge J, Müller M, Superti-Furga G. IFIT1 is an antiviral protein that recognizes 5'-triphosphate RNA. *Nature Immunology*, 2011, 12(7): 624–630.
- [34] Abbas YM, Pichlmair A, Góna MW, Superti-Furga G, Nagar B. Structural basis for viral 5'-PPP-RNA recognition by human IFIT proteins. *Nature*, 2013, 494(7435): 60–64.
- [35] Terenzi F, Hui DJ, Merrick WC, Sen GC. Distinct induction patterns and functions of two closely related interferon-inducible human genes, ISG54 and ISG56. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(45): 34064–34071.
- [36] Reich N, Evans B, Levy D, Fahey D, Knight E Jr, Darnell JE Jr. Interferon-induced transcription of a gene encoding a 15-kDa protein depends on an upstream enhancer element. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1987, 84(18): 6394–6398.
- [37] Andersen JB, Hassel BA. The interferon regulated ubiquitin-like protein, ISG15, in tumorigenesis: friend or foe? *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2006, 17(6): 411–421.
- [38] Shi HX, Yang K, Liu X, Liu XY, Wei B, Shan YF, Zhu LH, Wang C. Positive regulation of interferon regulatory factor 3 activation by Herc5 via ISG15 modification. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30(10): 2424–2436.
- [39] Okumura F, Zou WG, Zhang DE. ISG15 modification of the eIF4E cognate 4EHP enhances cap structure-binding activity of 4EHP. *Genes & Development*, 2007, 21(3): 255–260.
- [40] Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Mittelbrunn M, Fernández-Delgado I, Torralba D, Moreno-Gonzalo O, Baldanta S, Enrich C, Guerra S, Sánchez-Madrid F. ISGylation controls exosome secretion by promoting lysosomal degradation of MVB proteins. *Nature Communications*, 2016, 7: 13588.

- [41] Bogunovic D, Boisson-Dupuis S, Casanova JL. ISG15: leading a double life as a secreted molecule. *Experimental and Molecular Medicine*, 2013, 45: e18.
- [42] Vestal DJ, Jeyaratnam JA. The guanylate-binding proteins: emerging insights into the biochemical properties and functions of this family of large interferon-induced guanosine triphosphatase. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2011, 31(1): 89–97.
- [43] Guenzi E, Töpolt K, Cornali E, Lubeseder-Martellato C, Jörg A, Matzen K, Zietz C, Kremmer E, Nappi F, Schwemmle M, Hohenadl C, Barillari G, Tschachler E, Monini P, Ensoli B, Stürzl M. The helical domain of GBP-1 mediates the inhibition of endothelial cell proliferation by inflammatory cytokines. *The EMBO Journal*, 2001, 20(20): 5543–5811.
- [44] Man SM, Place DE, Kuriakose T, Kanneganti TD. Interferon-inducible guanylate-binding proteins at the interface of cell-autonomous immunity and inflammasome activation. *Journal of Leukocyte Biology*, 2017, 101(1): 143–150.
- [45] Guenzi E, Töpolt K, Lubeseder-Martellato C, Jörg A, Naschberger E, Benelli R, Albin A, Stürzl M. The guanylate binding protein-1 GTPase controls the invasive and angiogenic capability of endothelial cells through inhibition of MMP-1 expression. *The EMBO Journal*, 2003, 22(15): 3772–3782.
- [46] Li LF, Yu JH, Li YF, Wang JH, Li S, Zhang LK, Xia SL, Yang Q, Wang X, Yu SX, Luo YZ, Sun Y, Zhu Y, Munir M, Qiu HJ. Guanylate-binding protein 1, an interferon-induced GTPase, exerts an antiviral activity against classical swine fever virus depending on its GTPase activity. *Journal of Virology*, 2016, 90(9): 4412–4426.
- [47] Krapp C, Hotter D, Gawanbacht A, McLaren PJ, Kluge SF, Stürzel CM, Mack K, Reith E, Engelhart S, Ciuffi A, Hornung V, Sauter D, Telenti A, Kirchhoff F. Guanylate binding protein (GBP) 5 is an interferon-inducible inhibitor of HIV-1 infectivity. *Cell Host & Microbe*, 2016, 19(4): 504–514.
- [48] Guevara-Flores A, De Jesús Martínez-González J, Rendón JL, Del Arenal IP. The architecture of thiol antioxidant systems among invertebrate parasites. *Molecules*, 2017, 22(2): 259.
- [49] Nygren H, Rozell B, Holmgren A, Hansson HA. Immunoelectron microscopic localization of glutaredoxin and thioredoxin in *Escherichia coli* cells. *FEBS Letters*, 1981, 133(1): 145–150.
- [50] Li S, Wang JH, He WR, Feng S, Li YF, Wang X, Liao YJ, Qin HY, Li LF, Dong H, Sun Y, Luo YZ, Qiu HJ. Thioredoxin 2 is a novel E2-interacting protein that inhibits the replication of classical swine fever virus. *Journal of Virology*, 2015, 89(16): 8510–8524.
- [51] Mattijssen S, Pruijn GJM. Viperin, a key player in the antiviral response. *Microbes and Infection*, 2012, 14(5): 419–426.
- [52] Chin KC, Cresswell P. Viperin (cig5), an IFN-inducible antiviral protein directly induced by human cytomegalovirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(26): 15125–15130.
- [53] Wang XY, Hinson ER, Cresswell P. The interferon-inducible protein viperin inhibits influenza virus release by perturbing lipid rafts. *Cell Host & Microbe*, 2007, 2(2): 96–105.
- [54] Simon V, Bloch N, Landau NR. Intrinsic host restrictions to HIV-1 and mechanisms of viral escape. *Nature Immunology*, 2015, 16(6): 546–553.
- [55] Perez-Caballero D, Zang T, Ebrahimi A, McNatt MW, Gregory DA, Johnson MC, Bieniasz PD. Tetherin inhibits HIV-1 release by directly tethering virions to cells. *Cell*, 2009, 139(3): 499–511.
- [56] Venkatesh S, Bieniasz PD. Mechanism of HIV-1 virion entrapment by tetherin. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(7): e1003483.
- [57] Serra-Moreno R, Zimmermann K, Stern LJ, Evans DT. Tetherin/BST-2 Antagonism by Nef depends on a direct physical interaction between Nef and tetherin, and on clathrin-mediated endocytosis. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(7): e1003487.
- [58] Sardiello M, Cairo S, Fontanella B, Ballabio A, Meroni G. Genomic analysis of the TRIM family reveals two groups of genes with distinct evolutionary properties. *BMC Evolutionary Biology*, 2008, 8: 225.
- [59] Uchil PD, Hinz A, Siegel S, Coenen-Stass A, Pertel T, Luban J, Mothes W. TRIM protein-mediated regulation of inflammatory and innate immune signaling and its association with antiretroviral activity. *Journal of Virology*, 2013, 87(1): 257–272.
- [60] Mandell MA, Jain A, Arko-Mensah J, Chauhan S, Kimura T, Dinkins C, Silvestri G, Münch J, Kirchhoff F, Simonsen A, Wei YJ, Levine B, Johansen T, Deretic V. TRIM proteins regulate autophagy and can target autophagic substrates by direct recognition. *Developmental Cell*, 2014, 30(4): 394–409.
- [61] Toniato E, Chen XP, Losman J, Flati V, Donahue L, Rothman P. TRIM8/GERP RING finger protein interacts with SOCS-1. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(40):

- 37315–37322.
- [62] Fan WC, Wu MG, Qian SH, Zhou Y, Chen HC, Li XM, Qian P. TRIM52 inhibits Japanese encephalitis virus replication by degrading the viral NS2A. *Scientific Reports*, 2016, 6: 33698.
- [63] Wu XL, Anderson JL, Campbell EM, Joseph AM, Hope TJ. Proteasome inhibitors uncouple rhesus TRIM5 α restriction of HIV-1 reverse transcription and infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(19): 7465–7470.
- [64] Uchil PD, Quinlan BD, Chan WT, Luna JM, Mothes W. TRIM E3 ligases interfere with early and late stages of the retroviral life cycle. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(2): e16.
- [65] Barr SD, Smiley JR, Bushman FD. The interferon response inhibits HIV particle production by induction of TRIM22. *PLoS Pathogens*, 2008, 4(2): e1000007.
- [66] Schoggins JW, Wilson SJ, Panis M, Murphy MY, Jones CT, Bieniasz P, Rice CM. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature*, 2011, 472(7344): 481–485.
- [67] Chen LM, Sun J, Meng L, Heathcote J, Edwards AM, McGilvray ID. ISG15, a ubiquitin-like interferon-stimulated gene, promotes hepatitis C virus production *in vitro*: implications for chronic infection and response to treatment. *Journal of General Virology*, 2010, 91(2): 382–388.

Antiviral mechanisms of interferon-stimulated genes

Siyu Bai, Qian Yang, Huaji Qiu*

Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, Heilongjiang Province, China

Abstract: Interferons (IFNs) can induce the expression of a series of interferon-stimulated genes (ISGs). As direct-acting antiviral factors, ISGs play important roles in host antiviral defense. More and more studies reveal that ISGs directly or indirectly target multiple steps of the virus life cycle. Since diverse ISGs have different structures and locations in the cell, they exert various antiviral actions through different pathways. This review aimed to give a brief introduction to ISGs expression induced by IFNs through the JAK-STAT pathway, and provide an overview of typical antiviral mechanisms of representative ISGs.

Keywords: interferon-stimulated genes, interferons, innate immunity, antiviral mechanism

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31572540, 31672537)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-451-51051708; E-mail: huajiqui@hvri.ac.cn

Received: 16 April 2017; Revised: 4 June 2017; Published online: 27 July 2017