



流感病毒先天免疫应答和先天免疫逃逸的机制*

张乃心¹⁾ 许程志¹⁾ 吴运谱^{2)**} 乔传玲^{1)**} 陈化兰¹⁾⁽¹⁾ 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所/兽医生物技术国家重点实验室, 哈尔滨 150069; ⁽²⁾ 辽宁中医药大学实验动物中心, 沈阳 110847)

摘要 流感病毒引起人类和动物的呼吸道感染已是全世界严重的经济和公共卫生问题。在感染早期, 流感病毒会导致机体的先天免疫信号被激活, 起到防御、清除病毒以及辅助适应性免疫应答的作用。但在与宿主共进化的过程中, 流感病毒形成了多种逃逸策略, 主要是通过病毒自身蛋白质阻断宿主天然免疫通路, 抑制干扰素和炎症因子的生成。基于现有的研究成果, 本文针对流感病毒先天免疫应答和先天免疫逃逸的机制做一扼要综述, 这有助于加强流感病毒抗原进化的监测、探索疫苗和抗病毒药物的合理靶标, 为更好地预防和控制该病提供有效的策略。

关键词 流感病毒, 病毒蛋白, 天然免疫, 免疫逃逸

中图分类号 Q939.9

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0119

流感病毒是一种多节段的单股负链RNA病毒, 主要分为A、B、C和D 4种类型。A型流感病毒(influenza A virus, IAV)的研究最为广泛, IAV的基因组全长约13 500 bp, 包含8个基因片段(PB2、PB1、PA、HA、NP、NA、M和NS)(图1), 可以编码至少20种蛋白质^[1], 其中参与先天

免疫逃逸的蛋白质主要有NS1、PB1-F2和PA-X蛋白。IAV感染宿主广泛, 禽、猪、人、马、蝙蝠及海洋哺乳动物等均可被IAV感染。IAV感染的主要靶组织是宿主的上呼吸道和肺泡上皮细胞, 使得机体气体交换失败, 严重时可导致死亡。

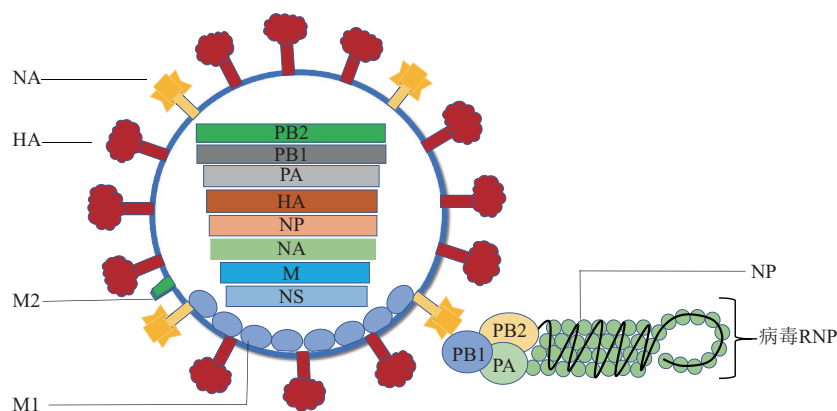


Fig. 1 Structure diagram of influenza virus

图1 流感病毒结构示意图

在与宿主共同进化的过程中, IAV不时地引起季节性流行或世界性大流行。流感病毒生存能力强的原因主要有两个方面: a. IAV不同亚型间基因片段的重组^[2]; b. 在天然免疫的压力下, IAV演变出

* 国家自然科学基金(31872472)和辽宁中医药大学博士科研启动资金资助项目。

** 通讯联系人。

吴运谱 Tel: 024-31202352, E-mail: davie2001878@163.com

乔传玲 Tel: 0451-51051686, E-mail: qiaochuanling@caas.cn

收稿日期: 2021-04-30, 接受日期: 2021-07-08

一系列逃避病毒中和抗体的识别和免疫清除的策略。因此, 了解 IAV 如何设法逃逸宿主的天然免疫, 对于有效监测流感病毒的抗原变异、病毒防控和致病机制研究显得尤为重要。

1 IAV感染引起的宿主先天性免疫应答

当 IAV 入侵宿主呼吸道后, 天然免疫反应被迅速启动。天然免疫系统是由物理屏障、先天性免疫细胞、细胞因子、干扰素等组成^[3]。先天性免疫机制虽然应答速度快, 但缺乏特异性和记忆性。天然免疫系统通过模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 启动抗病毒级联反应。激活转录核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 和干扰素调节因子 (interferon regulatory factor, IRF), 从而导致干扰素 (interferon, IFN) 等的生成、先天免疫细胞的招募或程序性细胞死亡的激活。

IAV 可以被多种 PRRs 识别 (图2)。首先, Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 中的 TLR3、TLR7/8 分别可以识别内噬体中的 dsRNA 和 ssRNA^[4-5], 随后招募和活化 TRIF、MyD88 接头分子。TRIF 依赖性途径直接招募 TRAF3 和 TRAF6。TRAF6 通过多泛素化激活 RIPK1, 又经磷酸化激

活 TAK1, 导致 NF- κ B、IRF7 和 AP1 的激活和核易位。TRAF3 通过多泛素化激活 IKK 激酶复合物, 然后通过磷酸化激活 IKK ϵ /TBK1, 导致 IRF3 的激活和核易位。经 MyD88 依赖性途径进行的信号传递通过多泛素化与 TRAF6 激活 TAK1, TAK1 活化后经磷酸化激活 IKK 激酶复合物和 MAPK 激酶, 导致 NF- κ B、IRF7 和 AP1 的激活和核易位^[6]。最终各途径在细胞核内编码 I 型、III 型干扰素和促炎性细胞因子。RIG-I 样受体 (RIG-I-like receptors, RLRs) 大部分存在于细胞质, 有一小部分定位于细胞核^[7]。RNA 解旋酶结构 (RNA helicase domain, helicase) 是 RIG-I 的一个功能区, 特异性识别 10~19 bp 的较短 dsRNA。RIG-I 样受体可使线粒体抗病毒信号转导蛋白 (mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS) 的构象发生改变, 暴露出 caspase 活化与招募功能区 (caspase activation and recruitment domain, CARD)^[8]。活化的 MAVS 可以与 TRAF3 结合, TRAF3 通过多泛素化激活 RIPK1, 然后通过磷酸化激活 IKK 激酶复合物, 直接导致 NF- κ B 的激活及核易位, 或通过 IKK ϵ /TBK1 导致 IRF3、IRF7 的激活及核易位^[9-10]。值得注意的是, 核内 RIG-I 识别了核内 vRNPs 后发生寡聚化, 并在细胞核和线粒体膜之间的邻近区域与 MAVS 相互作用, 从而诱导抗病毒信号通路^[11]。

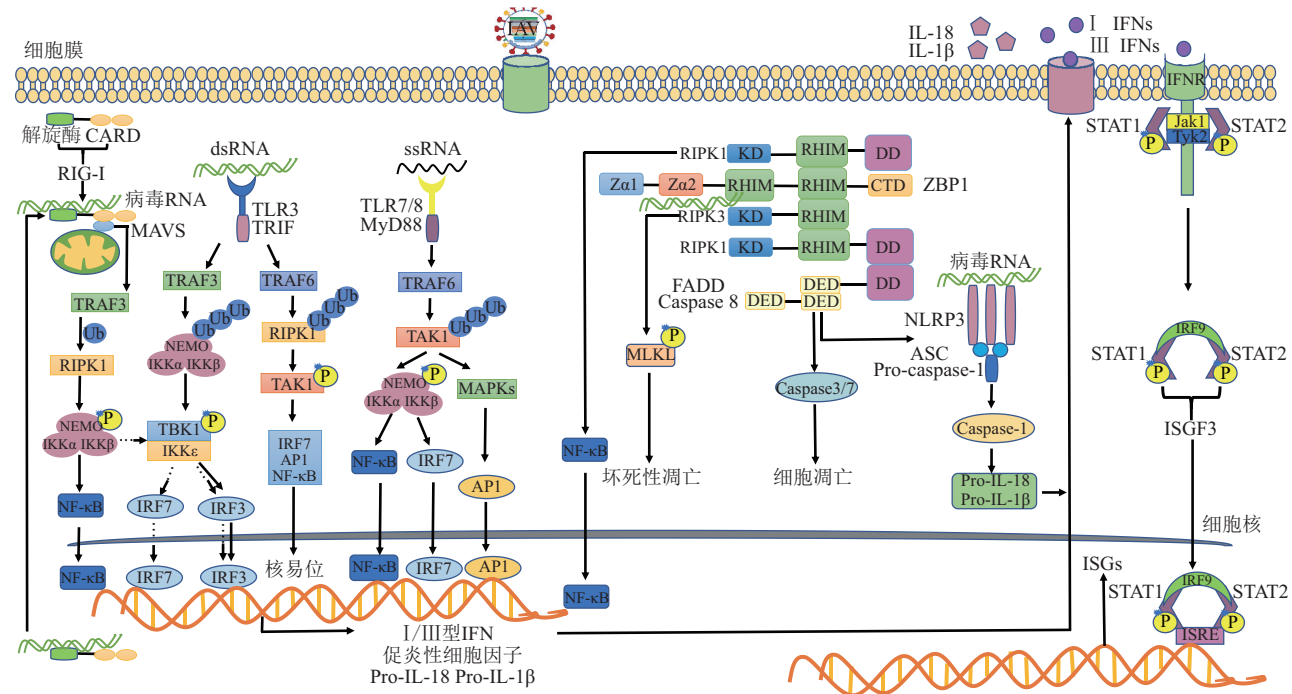


Fig. 2 Schematic diagram of host innate immune response caused by influenza A virus

图2 IAV感染引起的宿主先天性免疫应答示意图

NOD样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLRs) 中NLRP3炎性小体被IAV激活时可以促进IL-1 β 和IL-18的成熟和分泌^[12]。其可以主要通过以下3种方式激活：a. 通过IAV dsRNA激活Pro-IL-1 β 、Pro-IL-18和Pro-caspase-1^[13]；b. 通过M2离子通道触发Pro-IL-1 β 和Pro-IL-18的剪切^[14]；c. 通过在巨噬细胞溶酶体中IAV PB1-F2蛋白的积累^[15]。

包浆蛋白Z-DNA结合蛋白1 (Z-DNA binding protein 1, ZBP1) 作为先天免疫领域的新星，其可诱导IAV感染过程中程序性细胞死亡途径、炎症小体激活和细胞因子的产生。Kuriakose等^[16]认为ZBP1蛋白可以识别胞质中的NP和PB1蛋白。ZBP1蛋白的Z α 2结构域识别了胞质中的IAV RNA后可以在感染的细胞中引发多种反应^[11]；ZBP1蛋白的RHIM结构域可以与丝氨酸激酶RIPK1和RIPK3相互作用，ZBP1-RIPK1通路可导致NF- κ B的活化及核易位；ZBP1-RIPK3通路可使得MLKL磷酸化导致细胞程序性死亡；ZBP1-RIPK3-RIPK1-FADD-caspase8通路可以激活NLRP3炎性小体，导致细胞焦亡^[16-17]。

干扰素主要分为3种类型，其中I型干扰素 α 、 β 和III型干扰素 λ 在天然免疫抑制IAV病毒的复制中发挥极其重要的作用^[18]。分泌出的干扰素作用于同一细胞的干扰素受体 (interferon receptors, IFNR) 启动级联反应，级联反应依赖于Jak1、

Tyk2、STAT1和STAT2的磷酸化复合物。最终结果是干扰素调节因子9 (interferon regulatory factor, IRF9) 组成干扰素刺激基因因子3 (IFN-stimulated gene factor-3 transcription factor complex 3, ISGF3)^[19]，ISGF3的激活可以直接刺激下游干扰素诱导反应中300多个基因的转录。

2 IAV利用自身蛋白质逃避宿主天然免疫应答

2.1 PB1-F2蛋白

IAV的聚合酶蛋白PB1有2个开放阅读框 (open reading frame, ORF)，其中第二个ORF编码辅助蛋白——PB1-F2蛋白^[20]的羧基端可以结合在线粒体内膜上，产生多种先天免疫逃逸机制 (图3)：a. PB1-F2蛋白与MAVS结合使线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 坍塌，抑制RIG-I-TRIM25介导的抗病毒信号通路，降低I型干扰素的转录^[21]；b. 在某些情况下核点蛋白NDP52 (nuclear dot protein 52, NDP52) 与PB1-F2蛋白的结合力强于MAVS，在感染的早期可以负向影响TBK1诱导的信号通路 (IRF3/IRF7激活)，I型干扰素生成受阻^[22]，感染后期MAVS不再被降解并保持活性，积累的MAVS可以激活NF- κ B信号通路，加剧I型干扰素的产生^[23]；c. PB1-F2蛋白通过与线粒体膜腺嘌呤核苷酸转运蛋白3 (adenine nucleotide translocator 3, ANT3)

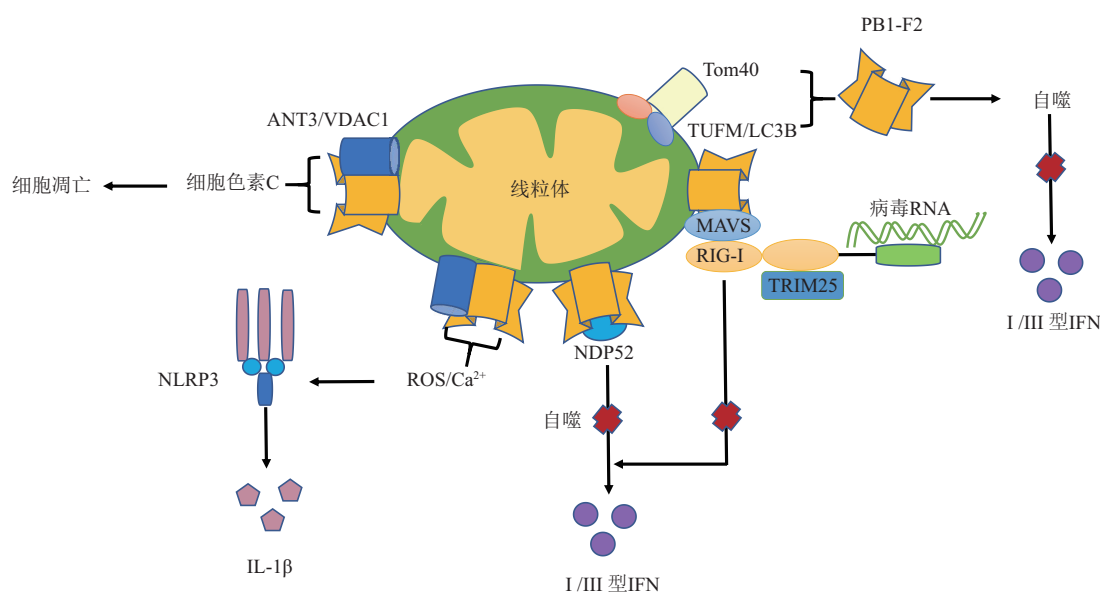


Fig. 3 Multifunctional schematic diagram of PB1-F2 protein

图3 PB1-F2蛋白多功能示意图

和电压依赖性阴离子通道蛋白 1 (voltage dependent anion channel 1, VDAC1) 结合^[24], 破坏线粒体完整性, 释放细胞色素 C (cytochrome C, Cyto C), 加快对感染细胞的促凋亡作用^[25], 增强病毒粒子的释放; d. PB1-F2 蛋白可以作为自噬受体通过 Tom40 通道进入线粒体内膜间隙, 使得 MMP 下降^[26], 同时与线粒体蛋白 TUFM 及 LC3B 相互作用, 诱导线粒体自噬从而加速 MAVS 降解, 抑制 I 型干扰素的产生^[27]; e. H7N9 亚型禽流感病毒 PB1-F2 蛋白增加线粒体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和 Ca^{2+} 的外流激活 NLRP3 炎性小体, 造成 IL-1 β 产生过多处于失衡状态, 细胞因子风暴加强了 IAV 感染对宿主的损伤^[28], 而且 PB1-F2 的缺失会导致 IL-6、IL-1 β 和 IL-8 的表达显

著增加^[29]。因此, PB1-F2 蛋白可以在多种信号水平上调节天然免疫反应, 研究 PB1-F2 蛋白的天然免疫逃逸机制可为 IAV 的预防和控制提供新的线索和策略。

2.2 NS1 蛋白

Isaacs 等^[30]第一次发现了 IAV 的“反向干扰”现象, 而这种“反向干扰素”就是 IAV NS1 蛋白。NS1 蛋白是 IAV 非常重要的多功能先天免疫反应调节蛋白, 其氨基端有一个 RNA 结合功能域 (RNA binding domain, RBD), 羧基端有一个效应功能域 (effect domain, ED), 可以通过多靶点多方式同时在细胞核和细胞质中影响宿主的先天性免疫反应 (图 4)。

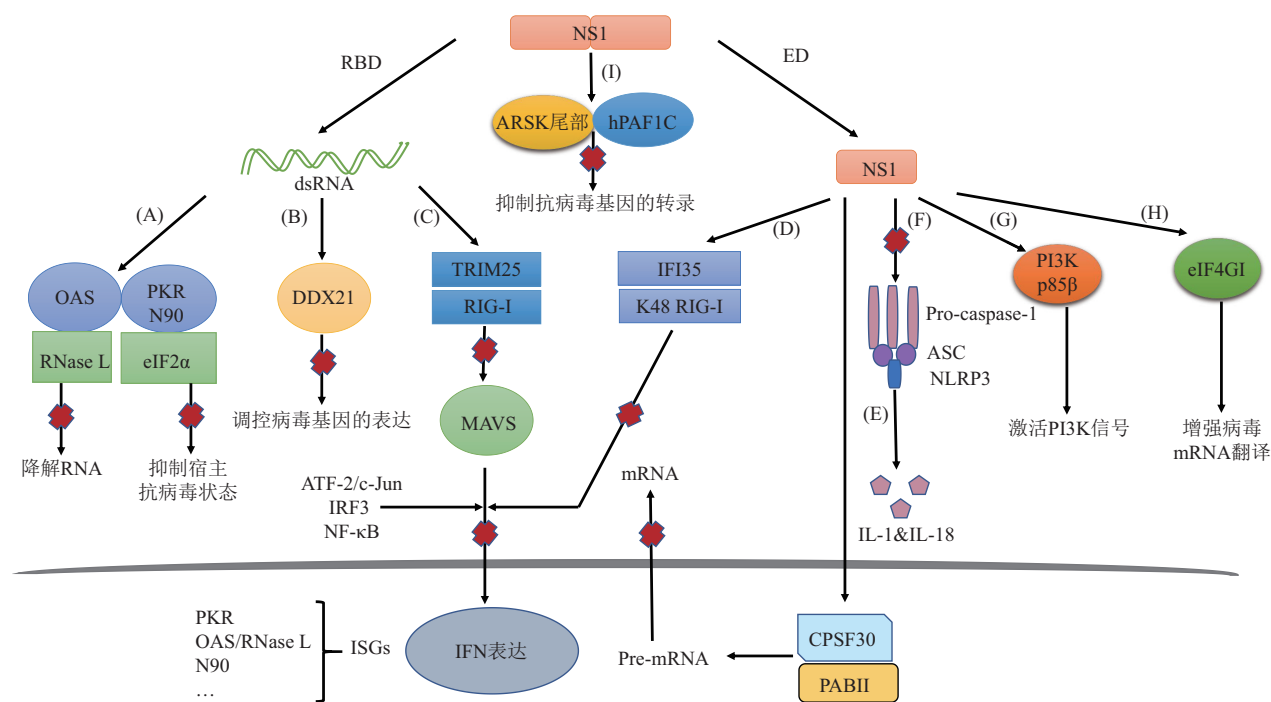


Fig. 4 Multifunctional schematic diagram of NS1 protein

图4 NS1蛋白多功能示意图

首先, 泛素化是激活 RIG-I 通路的必要条件。例如 H5N1 亚型猪流感病毒 ED 功能域 EALQR 基序天然缺失, EALQR 基序对于 NS1 维持稳定的二聚体和与 RIG-I 竞争结合 dsRNA 至关重要。该基序的缺失使得 NS1 蛋白不能阻断 TRIM25 寡聚化和泛素化, 进一步削弱了对 TRIM25 介导的 RIG-I 泛素化的抑制作用, 从而减弱了 RIG-I 信号通路中对干扰素的抑制作用^[31]。但 B 型流感病毒的 NS1 蛋白不

能与 RIG-I 相互作用, 并且其 RBD 功能域与 TRIM25 的相互作用阻断了 ED 功能域对 RIG-I 泛素化的抑制作用^[32]。其他 RIG-I 介导的负责病毒识别的因子也会受到 NS1 蛋白的抑制, 如 ATF-2/c-Jun、IRF3 和 NF- κ B 等的激活和易位。所以通过抑制 RIG-I 的泛素化从而促进病毒的复制, 是流感病毒进行免疫逃逸的一种新机制。NS1 蛋白与 NLRP3 炎性小体结合可以损害含有 Caspase-1 募集结构域

的凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like containing a caspase-recruitment domain, ASC) 的形成及泛素化, 负面影响 IL-1 β 和 IL-18 水平, 为病毒免疫逃逸另一个策略^[33-34]。NS1 蛋白与磷脂酰肌醇 3- 激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) 的 p85 β 亚基相互作用^[35], PI3K 的激活对于病毒的有效复制非常重要, 增加了流感病毒内化速率、抑制细胞凋亡^[36]。

其次, NS1 蛋白对宿主细胞核内 mRNA 的转录、加工和运输过程有抑制作用。这种抑制作用可通过 3 种方式完成: a. 感染早期, 30-ku 亚单位腺苷酸化特异因子 (cleavage and polyadenylation specificity factor 30, CPSF30) 和聚合 A 结合蛋白 II (poly A binding protein II, PABII)^[37-38] 可以阻断 pre-mRNA 的加工和 mRNA 的核输出, 导致宿主基因表达的普遍抑制^[39]。进化后的马流感病毒 (equine influenza virus, EIV) NS1 蛋白还可以干扰 JAK/STAT 通道, 特异性阻断 ISG 的诱导^[40]; b. 作为干扰素诱导的一种核孔蛋白, Nup98 可与 mRNA 输出因子对接, 导致 mRNA 出核障碍, 允许 IAV 的高度复制^[41]; c. H3N2 亚型人流感病毒的 NS1 蛋白含有一种独特的 ARSK 尾序列, 可与人 PAF1 转录延伸复合物 (human PAF1 transcription elongation complex, hPAF1C) 结合, 因为 hPAF1C 是抗病毒反应的关键介质, 所以导致其转录延伸受阻^[42]。

不仅如此, NS1 蛋白也可以阻碍干扰素诱导基因 (IFN-induced genes, ISGs) 的表达。由于 RBD 功能域与 2'-5' 寡腺苷酸合成酶 (2'-5' oligoadenylate synthetase, OAS) 的相互作用胜于与 dsRNA 的相互作用, 可以通过抑制 OAS/RNase L 的活性来保护病毒 RNA 不被降解^[43]。NS1 蛋白结合蛋白激酶 R (protein kinase R, PKR), 导致 PKR 活性降低, 阻断 eIF2 α 磷酸化^[44], 抑制宿主抗病毒的状态。此外, NS1 能与 eIF4F 的大亚基真核启动因子 4GI (eukaryotic translation initiation factor 4GI, eIF4GI) 结合, 优先增强流感病毒 mRNA 的翻译^[45]。核因子 90 蛋白 (nuclear factor 90-protein, NF90) 的抗病毒活性是通过调节 NS1 蛋白对 PKR 磷酸化的抑制作用和感染细胞中应急颗粒的形成而实现的^[46]。H3N2 亚型猪流感病毒的 NS1 蛋白 ED 功能域可以与干扰素诱导蛋白 35 (interferon inducible protein 35, IFI35) 高效结合, 使 RIG-I 免受 IFI35 介导的 K48 连接泛素化, 但在

H7N9 亚型禽流感病毒中 IFI35 发挥了相反作用^[47]。总体来讲, 在 IAV 的天然免疫逃避策略中, NS1 蛋白所扮演的角色非常重要, 是作用靶点和作用方式最多的干扰素拮抗蛋白, 其不仅可以拮抗干扰素和细胞因子通路, 还参与病毒复制的各个过程。

2.3 聚合酶复合体

在 IAV 聚合酶复合体中, PB2 蛋白是 IAV 致病的主要决定因素之一^[48], 其可定位于线粒体中。TRIM35 是 TRAF3 的调节因子, 虽然 IAV PB2 蛋白可抑制 TRAF3 的 K63 泛素化连接, 但 TRIM35 可直接介导 K48 泛素化连接并降解 IAV PB2 蛋白, 激活 RIG-I 抗病毒信号保护宿主免受 IAV 感染^[49]。但不同亚型 IAV 的 PB2 蛋白与线粒体的结合能力有所差异, 特别是禽流感病毒的 PB2 蛋白定位于非线粒体^[50]。PB2 蛋白与 PB1-F2 作用机制相似, 不同的是 PB1-F2 在通过 MMP 和/或 TUFM 与 MAVS 互作抑制干扰素启动子激活的同时, 还可以增强 PB1 和 PB2 蛋白的干扰素拮抗功能^[21]。

IAV 的 PB1、PA 和 NP 蛋白也具有干扰素拮抗功能。PB1 和 NP 蛋白分别可以与 TRIM32、TRIM22 结合降低聚合酶活性^[51-52]。已有研究表明, 宿主 DDX21 RNA 解旋酶是通过结合 PB1 蛋白和阻碍聚合酶的组装抑制病毒蛋白质的合成^[53]; 而且 NS1 蛋白的 RBD 功能域与 DDX21 相互作用也可调控病毒基因的表达^[54]。PA 蛋白氨基端具有核酸内切酶活性, 可以通过阻断 IRF3 的磷酸化和二聚化, 导致 IRF3 在细胞质中积累, 抑制干扰素 β 的产生^[55]。作为一种干扰素诱导基因, 抗黏病毒蛋白 A (myxovirus resistant protein A, MxA) 可以和 PB2、NP 蛋白结合抑制病毒的转录^[56-57]。但是 H7N9 亚型的 NP 蛋白却是 RIG-I 受体介导的阳性调节蛋白, 上调 I 型干扰素的产生, 可使病毒复制能力减弱^[58]。

2.4 病毒编码的其他蛋白质

在流感病毒编码的多种蛋白质中, 其余的蛋白质是否也参与以及通过怎样的方式进行天然免疫逃逸还需进一步探索。

PA-X 蛋白作为一种辅助蛋白, 可以利用宿主的 RNA Xrn1 酶降解宿主细胞核内的转录子, 促进病毒的复制^[59-60], 但具体机制尚且不清楚。PA-X 蛋白不仅降解细胞 mRNA^[61], 还可以降解病毒 dsRNA 以逃避多种 PRRs 的识别^[62]。在感染早期, PA-X 蛋白还通过 RIG-I-MAVS 途径防止 I 型干扰素 mRNA 在肺内的积累^[63]。作为一种小分子离子跨

膜蛋白, M2蛋白也是一种精密的调节因子: a. 可固定在线粒体上, 增加细胞质 Ca^{2+} 水平并产生 ORS, 导致自噬的激活, 从而调控 MAVS 介导的信号通路^[64]; b. M2 和 NP 蛋白可以通过热休克蛋白 40 (heat shock protein 40, hsp40) 蛋白促进 p58IPK 蛋白 (58 ku inhibitor of PKR, p58IPK) 的释放, 间接抑制 PKR 的活性, 促进了病毒粒子的释放^[65-66]。内质网应激反应通路可以识别感染细胞中高效表达的 HA 蛋白, 从而触发先天性免疫应答。内质网相关蛋白降解 (endoplasmic-reticulum-associated protein degradation, ERAD) 通路因 EDEM1、EDEM2 和 ERM1 这 3 种 I 型 α -甘露糖苷酶的重要参与使得 HA 蛋白发生降解^[67]。

众所周知, 线粒体自噬也参与 IAV 的复制过程, 但具体的机制迄今不是十分清楚。NP 和 M2 蛋白可上调 HSP90AA1 的表达, HSP90AA1 通过 AKT-mTOR 信号通路调控 NP 和 M2 蛋白介导的自噬, 自噬加速病毒聚合酶活性, 导致病毒 RNA 合成和 vRNP 核输出增加, 进而导致病毒蛋白积累和病毒子代产量的上调^[68]。

3 展 望

本文针对流感病毒先天免疫反应和天然免疫逃逸的策略进行了详细的论述。众所周知, 宿主的天然免疫对抗 IAV 的早期感染是由一个多层次相互协调的复杂过程完成的。IAV 之所以难以防控, 就是因为免疫压力之下, 可以利用自身编码蛋白和非编码蛋白产生对宿主天然免疫系统的各种逃逸策略, 平衡自身的生存和宿主的抗病毒反应。本文具体阐述了 IAV 的 PB1-F2、NS1、PA-X 等蛋白质在抗病毒先天免疫反应中起负调控的关键机制, 但是 IAV 的聚合酶蛋白及其他蛋白质是如何调控先天信号通路的, 目前还不完全清楚, 还有很多机制有待进一步解析, 也意味着这将是未来一个有趣的研究方向和探索目标。由于病毒的迅速进化和逃逸, 新亚型病毒及耐药株的出现使得疫苗和药物的有效性受到了极大限制。因此, 需要利用现有知识和技术增强宿主的天然免疫, 实时监测进化的 IAV 来控制这种疾病。这也助于发现预防和治疗新靶点, 设计和研发高效、科学防控流感病毒的药物和疫苗。

参 考 文 献

- [1] Mostafa A, Abdelwhab E M, Mettenleiter T C, *et al.* Zoonotic potential of influenza A viruses: a comprehensive overview. *Viruses*, 2018, **10**(9):497
- [2] 赵朴, 郑玉姝, 乔传玲, 等. A 型流感病毒逃避免疫应答的策略. *生物化学与生物物理进展*, 2008, **35**(10): 1137-1141
- [3] Zhao P, Zheng Y S, Qiao C L, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2008, **35**(10): 1137-1141
- [4] Chen X, Liu S, Goraya M U, *et al.* Host immune response to influenza A virus infection. *Front Immunol*, 2018, **9**:320
- [5] Matsumoto M, Seya T. TLR3: interferon induction by double-stranded RNA including poly(I: C). *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, **60**(7): 805-812
- [6] Lund J M, Alexopoulou L, Sato A, *et al.* Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(15): 5598-5603
- [7] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*, 2010, **11**(5): 373-384
- [8] Liu G, Lu Y, Thulasi Raman S N, *et al.* Nuclear-resident RIG-I senses viral replication inducing antiviral immunity. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 3199
- [9] Varga Z T, Ramos I, Hai R, *et al.* The influenza virus protein PB1-F2 inhibits the induction of type I interferon at the level of the MAVS adaptor protein. *PLoS Pathog*, 2011, **7**(6): e1002067
- [10] Guo B, Cheng G. Modulation of the interferon antiviral response by the TBK1/IKKi adaptor protein TANK. *J Biol Chem*, 2007, **282**(16): 11817-11826
- [11] Shi J, Zhao Y, Wang K, *et al.* Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, **526**(7575): 660-665
- [12] Malik G, Zhou Y. Innate immune sensing of influenza A virus. *Viruses*, 2020, **12**(7):755
- [13] Sarvestani S T, Mcauley J L. The role of the NLRP3 inflammasome in regulation of antiviral responses to influenza A virus infection. *Antiviral Res*, 2017, **148**:32-42
- [14] Kanneganti T D, Body-malapel M, Amer A, *et al.* Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA. *J Biol Chem*, 2006, **281**(48): 36560-36568
- [15] Ichinohe T, Pang I K, Iwasaki A. Influenza virus activates inflammasomes via its intracellular M2 ion channel. *Nat Immunol*, 2010, **11**(5): 404-410
- [16] Mcauley J L, Tate M D, Mackenzie-kludas C J, *et al.* Activation of the NLRP3 inflammasome by IAV virulence protein PB1-F2 contributes to severe pathophysiology and disease. *PLoS Pathog*, 2013, **9**(5): e1003392
- [17] Kuriakose T, Man S M, Malireddi R K, *et al.* ZBP1/DAI is an innate sensor of influenza virus triggering the NLRP3 inflammasome and programmed cell death pathways. *Sci Immunol*, 2016, **1**(2): aag2045
- [18] Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature*, 2015, **517**(7534): 311-320
- [19] Van De Sandt C E, Kreijtz J H, Rimmelzwaan G F. Evasion of influenza A viruses from innate and adaptive immune responses.

- Viruses, 2012, **4**(9): 1438-1476
- [19] Hale B G, Albrecht R A, Garcia-sastre A. Innate immune evasion strategies of influenza viruses. *Future Microbiol*, 2010, **5**(1): 23-41
- [20] 黄梦婷, 张森, 李靖, 等. 流感病毒免疫逃逸机制研究进展. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2020, **34**(6): 671-676
- Huang M T, Zhang S, Li J, *et al.* *Chinese J Exp Clin Virol*, 2020, **34**(6): 671-676
- [21] Varga Z T, Grant A, Manicassamy B, *et al.* Influenza virus protein PB1-F2 inhibits the induction of type I interferon by binding to MAVS and decreasing mitochondrial membrane potential. *J Virol*, 2012, **86**(16): 8359-8366
- [22] Leymarie O, Meyer L, Tafforeau L, *et al.* Influenza virus protein PB1-F2 interacts with CALCOCO2 (NDP52) to modulate innate immune response. *J Gen Virol*, 2017, **98**(6): 1196-1208
- [23] Cheung P H, Lee T T, Chan C P, *et al.* Influenza A virus PB1-F2 protein: an ambivalent innate immune modulator and virulence factor. *J Leukoc Biol*, 2020, **107**(5): 763-771
- [24] Zamarin D, Garcia-sastre A, Xiao X, *et al.* Influenza virus PB1-F2 protein induces cell death through mitochondrial ANT3 and VDAC1. *PLoS Pathog*, 2005, **1**(1): e4
- [25] Chen W S, Calvo P A, Malide D, *et al.* A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat Med*, 2001, **7**(12): 1306-1312
- [26] Yoshizumi T, Ichinohe T, Sasaki O, *et al.* Influenza A virus protein PB1-F2 translocates into mitochondria via Tom40 channels and impairs innate immunity. *Nat Commun*, 2014, **5**: 4713
- [27] Wang R F, Zhu Y X, Ren C W, *et al.* Influenza A virus protein PB1-F2 impairs innate immunity by inducing mitophagy. *Autophagy*, 2021, **17**(2): 496-511
- [28] Pinar A, Dowling J K, Bitto N J, *et al.* PB1-F2 peptide derived from Avian influenza A virus H7N9 induces inflammation via activation of the NLRP3 inflammasome. *J Biol Chem*, 2017, **292**(3): 826-836
- [29] Reis A L, Mccauley J W. The influenza virus protein PB1-F2 interacts with IKK β and modulates NF- κ B signalling. *PLoS One*, 2013, **8**(5): e63852
- [30] Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1957, **147**(927): 258-267
- [31] Wang J, Zeng Y, Xu S, *et al.* A naturally occurring deletion in the effector domain of H5N1 swine influenza virus nonstructural protein 1 regulates viral fitness and host innate immunity. *J Virol*, 2018, **92**(11): e00149-18
- [32] Jiang J, Li J, Fan W, *et al.* Robust lys63-linked ubiquitination of RIG-I promotes cytokine eruption in early influenza B virus infection. *J Virol*, 2016, **90**(14): 6263-6275
- [33] Chung W C, Kang H R, Yoon H, *et al.* Influenza A virus NS1 protein inhibits the NLRP3 inflammasome. *PLoS One*, 2015, **10**(5): e0126456
- [34] Nogales A, Martinez-sobrido L, Topham D J, *et al.* Modulation of innate immune responses by the influenza A NS1 and PA-X proteins. *Viruses*, 2018, **10**(12): 708
- [35] Hale B G, Jackson D, Chen Y H, *et al.* Influenza A virus NS1 protein binds p85 β and activates phosphatidylinositol-3-kinase signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(38): 14194-14199
- [36] Ehrhardt C, Wolff T, Pleschka S, *et al.* Influenza A virus NS1 protein activates the PI3K/Akt pathway to mediate antiapoptotic signaling responses. *J Virol*, 2007, **81**(7): 3058-3067
- [37] Chen Z, Li Y, Krug R M. Influenza A virus NS1 protein targets poly (A)-binding protein II of the cellular 3'-end processing machinery. *EMBO J*, 1999, **18**(8): 2273-2283
- [38] Nemeroff M E, Barabino S M, Li Y, *et al.* Influenza virus NS1 protein interacts with the cellular 30 kDa subunit of CPSF and inhibits 3' end formation of cellular pre-mRNAs. *Mol Cell*, 1998, **1**(7): 991-1000
- [39] Hale B G, Steel J, Medina R A, *et al.* Inefficient control of host gene expression by the 2009 pandemic H1N1 influenza A virus NS1 protein. *J Virol*, 2010, **84**(14): 6909-6922
- [40] Chauche C, Nogales A, Zhu H, *et al.* Mammalian adaptation of an avian influenza A virus involves stepwise changes in NS1. *J Virol*, 2018, **92**(5): e01875-17
- [41] Satterly N, Tsai P L, Van Deursen J, *et al.* Influenza virus targets the mRNA export machinery and the nuclear pore complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(6): 1853-1858
- [42] Marazzi I, Ho J S, Kim J, *et al.* Suppression of the antiviral response by an influenza histone mimic. *Nature*, 2012, **483**(7390): 428-433
- [43] Min J Y, Krug R M. The primary function of RNA binding by the influenza A virus NS1 protein in infected cells: inhibiting the 2'-5' oligo (A) synthetase/RNase L pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(18): 7100-7105
- [44] Li S, Min J Y, Krug R M, *et al.* Binding of the influenza A virus NS1 protein to PKR mediates the inhibition of its activation by either PACT or double-stranded RNA. *Virology*, 2006, **349**(1): 13-21
- [45] Aragon T, De La Luna S, Novoa I, *et al.* Eukaryotic translation initiation factor 4GI is a cellular target for NS1 protein, a translational activator of influenza virus. *Mol Cell Biol*, 2000, **20**(17): 6259-6268
- [46] Patino C, Haenni A L, Urcuqui-inchima S. NF90 isoforms, a new family of cellular proteins involved in viral replication?. *Biochimie*, 2015, **108**: 20-24
- [47] Yang H, Winkler W, Wu X. Interferon inducer IFI35 regulates RIG-I-mediated innate antiviral response through mutual antagonism with Influenza protein NS1. *J Virol*, 2021, **95**(11): e00283-21
- [48] Iwai A, Shiozaki T, Kawai T, *et al.* Influenza A virus polymerase inhibits type I interferon induction by binding to interferon beta promoter stimulator 1. *J Biol Chem*, 2010, **285**(42): 32064-32074
- [49] Sun N, Jiang L, Ye M M, *et al.* TRIM35 mediates protection against influenza infection by activating TRAF3 and degrading viral PB2. *Protein Cell*, 2020, **11**(12): 894-914
- [50] Graef K M, Vreede F T, Lau Y F, *et al.* The PB2 subunit of the influenza virus RNA polymerase affects virulence by interacting with the mitochondrial antiviral signaling protein and inhibiting expression of beta interferon. *J Virol*, 2010, **84**(17): 8433-8445
- [51] Di Pietro A, Kajaste-rudnitski A, Oteiza A, *et al.* TRIM22 inhibits influenza A virus infection by targeting the viral nucleoprotein for

- degradation. *J Virol*, 2013, **87**(8): 4523-4533
- [52] Fu B, Wang L, Ding H, *et al.* TRIM32 senses and restricts influenza A virus by ubiquitination of PB1 polymerase. *PLoS Pathog*, 2015, **11**(6): e1004960
- [53] Chen G, Liu C H, Zhou L, *et al.* Cellular DDX21 RNA helicase inhibits influenza A virus replication but is counteracted by the viral NS1 protein. *Cell Host Microbe*, 2014, **15**(4): 484-493
- [54] Han C W, Jeong M S, Jang S B. Structure and function of the influenza A virus non-structural protein 1. *J Microbiol Biotechnol*, 2019, **29**(8): 1184-1192
- [55] Yi C, Zhao Z, Wang S, *et al.* Influenza A virus PA antagonizes interferon- β by interacting with interferon regulatory factor 3. *Front Immunol*, 2017, **8**: 1051
- [56] Turan K, Mibayashi M, Sugiyama K, *et al.* Nuclear MxA proteins form a complex with influenza virus NP and inhibit the transcription of the engineered influenza virus genome. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32**(2): 643-652
- [57] Pavlovic J, Arzet HA, Hefti HP, *et al.* Enhanced virus resistance of transgenic mice expressing the human MxA protein. *J Virol*, 1995, **69**(7): 4506-4510
- [58] Wei Y, Zeng Y, Zhang X, *et al.* The nucleoprotein of H7N9 influenza virus positively regulates TRAF3-mediated innate signaling and attenuates viral virulence in mice. *J Virol*, 2020, **94**(24): e01640-20
- [59] Munoz-moreno R, Martinez-romero C, Garcia-sastre A. Induction and evasion of type-I interferon responses during influenza A virus infection. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, **6**: a038414
- [60] Khapersky D A, Schmalin S, Larkins-ford J, *et al.* Selective degradation of host RNA polymerase II transcripts by influenza A virus PA-X host shutoff protein. *PLoS Pathog*, 2016, **12**(2): e1005427
- [61] Ramos I, Smith G, Ruf-zamojski F, *et al.* Innate immune response to influenza virus at single-cell resolution in human epithelial cells revealed paracrine induction of interferon lambda 1. *J Virol*, 2019, **93**(20): e00559-19
- [62] Hayashi T, Macdonald LA, Takimoto T. Influenza A virus protein PA-X contributes to viral growth and suppression of the host antiviral and immune responses. *J Virol*, 2015, **89**(12): 6442-6452
- [63] Rigby R E, Wise H M, Smith N, *et al.* PA-X antagonises MAVS-dependent accumulation of early type I interferon messenger RNAs during influenza A virus infection. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 7216
- [64] Wang R, Zhu Y, Lin X, *et al.* Influenza M2 protein regulates MAVS-mediated signaling pathway through interacting with MAVS and increasing ROS production. *Autophagy*, 2019, **15**(7): 1163-1181
- [65] Guan Z, Liu D, Mi S, *et al.* Interaction of Hsp40 with influenza virus M2 protein: implications for PKR signaling pathway. *Protein Cell*, 2010, **1**(10): 944-955
- [66] Sharma K, Tripathi S, Ranjan P, *et al.* Influenza A virus nucleoprotein exploits Hsp40 to inhibit PKR activation. *PLoS One*, 2011, **6**(6): e20215
- [67] Frabutt D A, Wang B, Riaz S, *et al.* Innate sensing of influenza A virus hemagglutinin glycoproteins by the host endoplasmic reticulum (ER) stress pathway triggers a potent antiviral response via ER-Associated protein degradation. *J Virol*, 2018, **92**(1): e01690-17
- [68] Wang R, Zhu Y, Zhao J, *et al.* Autophagy promotes replication of influenza A virus *in vitro*. *J Virol*, 2019, **93**(4): e01984-18

Mechanisms for Innate Immune Responses and Immune Evasion of Influenza Virus*

ZHANG Nai-Xin¹⁾, XU Cheng-Zhi¹⁾, WU Yun-Pu^{2)**}, QIAO Chuan-Ling^{1)**}, CHEN Hua-Lan¹⁾

¹⁾Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology,

Harbin 150069, China;

²⁾Laboratory Animal Center, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

Abstract Respiratory infection in humans and animals caused by influenza A viruses (IAV) is a severe economic and public health problem worldwide. Influenza virus will make the body's innate immune signal activated during the early infection, which plays the role of defending, clearing the virus, and assisting the adaptive immune response. However, the influenza virus has developed a variety of escape strategies in the process of co-evolution with the host that mainly blocks the host's innate immune pathway and inhibits the production of interferon and inflammatory factors through influenza virus self-proteins. We reviewed recent advances in host innate immune mechanisms against IAV infection and viral strategies for immune escaping, which may benefit the monitoring, target discovery, and vaccination development to prevent and control the influenza virus.

Key words influenza virus, viral protein, innate immunity, immune evasion

DOI: 10.16476/j.pibb.2021.0119

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31872472) and Initial Fund for Doctoral Research of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine.

** Corresponding author.

WU Yun-Pu. Tel: 86-24-31202352, E-mail: davie2001878@163.com

QIAO Chuan-Ling. Tel: 86-451-51051686, E-mail: qiaochuanling@caas.cn

Received: April 30, 2021 Accepted: July 8, 2021