

维甲酸诱导基因 I 研究进展*

崔映宇^{1,2)**}

¹⁾北京大学生命科学学院, 蛋白质工程与植物基因工程国家重点实验室, 北京 100871; ²⁾同济大学医学院基础医学院, 上海 200092)

摘要 维甲酸诱导基因 I (RIG- I), 能在多种细胞中被不同的刺激诱导表达, 是 RNA 病毒致天然免疫的重要调控因子. 概述其发现、诱导、结构、功能、机理及同源蛋白等的研究现状, 并展望相关动向.

关键词 维甲酸诱导基因 I, RNA 解旋酶, 诱导表达, 天然免疫, 自调控

学科分类号 Q754, R392

维甲酸诱导基因 I (retinoic acid inducible gene I, RIG- I) 为我国学者于 1997 年从人急性早幼粒白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) NB₄ 细胞株中首次克隆, GenBank 中的登录号为 AF038963^[1], 但未深入研究其功能. 2002 年起, 日本学者先后发现该基因在多种细胞中能被不同刺激诱导表达^[2~8], 参与抗病毒天然免疫反应, 并对其结构^[9]、功能^[10]和机理^[11,12]等进行了系统性研究, 目前已成免疫学领域的热点之一. 本文梳理其国内外的研究轨迹, 为拓展和深化对其功能和机理的认识提供理论依据和试验线索.

1 RIG- I 的发现

RIG- I 克隆于全反式维甲酸(all *trans*-retinoic acid, ATRA) 刺激 NB₄ 细胞过程, 是与血细胞分化相关的一个上调基因^[1]. RIG- I 在未受刺激的细胞中低水平表达, ATRA 处理后则骤升, 且不受放线菌酮(cycloheximide, CHX) 阻断, 提示它是维甲酸受体直接靶标. 人 *rig- i* 基因定位于 9p12, 居位标 D9S1955 和 SHGC-56591 之间(图 1), 由 18 个外显子和 17 个内含子组成, 其 cDNA 全长约 3.0 kb, 编码 925 个氨基酸, 蛋白质产物分子质量约为 106 ku.

2 RIG- I 的诱导表达

RIG- I 在多种细胞中可被不同刺激诱导表达. LPS 刺激人血管内皮细胞^[2], IFN- γ 刺激人乳腺癌细胞 MCF-7^[3]、人脐静脉和肺内皮细胞^[4]、血管平

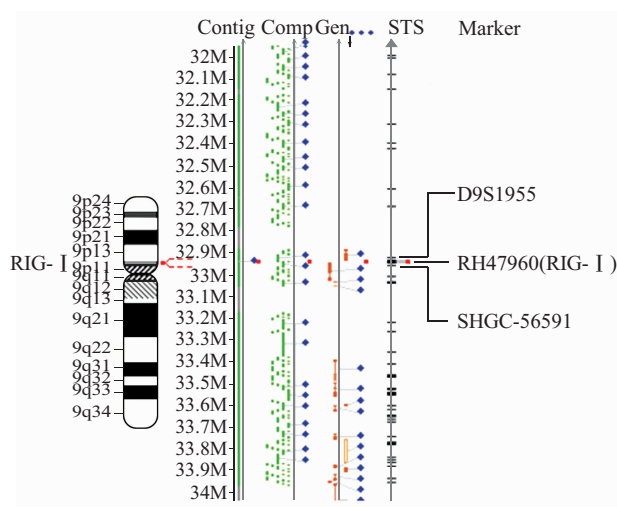


Fig. 1 RIG- I mapping

图 1 RIG- I 的染色体定位

本图利用 GenBank 的 MapView 生成.

滑肌细胞^[5]以及人膀胱癌 T₂₄ 细胞^[6], IL-1 β 刺激人成纤维细胞^[7], 病毒刺激人胚肾细胞^[8]等都能程度不同地上调 RIG- I 的表达. 此外, TNF α 和 IFN α 协同刺激也可上调人肺皮细胞中 RIG- I 表达, 而 RIG- I 的表达上调也可增强抗病毒类细胞因子的释放^[13,14].

* 国家自然科学基金(30671028) 和中国博士后科学基金(2005038300) 资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 010-62756887, E-mail: yycui@pku.edu.cn

Tel: 021-65988791, Fax:021-65988785, E-mail: yycui@mail.tongji.edu.cn

收稿日期: 2007-07-23, 接受日期: 2007-08-30

RIG-E 和 RIG-G 是与 RIG- I 同时被克隆、在 NB₄ 细胞中受 ATRA 诱导表达上调的基因, 分析发现其启动子含干扰素调节序列 GAS 和 ISRE, 提示其表达受 IFNs 调控^[9]. 目前虽无证据表明 RIG- I 启动子也含此类序列, 但已证实 IFNs 与 RIG- I 的表达诱导相关, 如 LPS、病毒等都能刺激 IFNs 的表达和分泌^[2,8], 而 IFNs 刺激也能诱导 RIG- I 的表达^[3~6,13,14].

3 RIG- I 的结构

RIG- I 蛋白属含有 DExD/H Box 的 RNA 解旋酶家族. 氨基端含 2 个串联重复的 CARD 结构域 (caspase recruitment domain), 羧基端含 DExD/H Box 特征的 RNA helicase 结构域^[9], 内含 1 个 ATP_GTP 结合位点基序 A Box, 同时还含 1 个 Res III 位点和 1 个内在的 RD (repressor domain) 结构域^[12](图 2). RIG- I 蛋白能与核苷酸、核酸和 ATP 结合, 具 RNA 解旋酶活性和核苷三磷酸酶活性, 氨基端 CARD 区的第 270 到 285 位氨基酸 (KTFVSLLI-CEHHLKKF) 为一潜在的抗原表位, 无信号肽序列和任何细胞器靶向序列, 也无 PEST 序列, 提示, RIG- I 主要分布于胞质, 性质较为稳定.

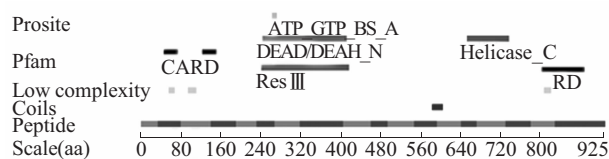


Fig. 2 Functional structure of RIG- I

图 2 RIG- I 的功能结构

本图由英国 Sanger 中心 Ensembl Human GeneView 自动生成.

4 RIG- I 的功能

RNA 解旋酶存在于几乎所有生物中, 通过调节 RNA 结构参与其合成、剪接、转运、降解、编辑、翻译, RNA 病毒复制^[16,17], 乃至 RNAi 等^[18,19]. RIG- I 属于 SF₂ 超家族, 主要参与转录起始复合物的形成、RNA 编辑、翻译以及生长、分化和发育调控等^[20].

含 CARD 的蛋白质间常通过 α -helix 的相互作用形成复合体, 招募、剪切激活 caspase, 参与凋亡或炎症过程. 而少部分则通过激活 NF- κ B 信号通路, 参与天然免疫应答, RIG- I 即属此列. 研究表明, 293T 细胞中转入 RIG- I 的 CARD, 可启动 IFN β 转录, 同时在培养液中检测到 IFN β 分泌,

而转入全长 RIG- I 则否. 过表达 CARD 可显著激活 NF- κ B 和 IRF₃, 提示 RIG- I 的 CARD 为激活效应域, 行使信号转导功能, 可诱导 IFN β 组成性表达^[9]; IFNs 刺激可诱导 RIG- I 表达, 但过表达 RIG- I 却不能显著激活 IFNs 的表达, 提示 RIG- I 的 helicase 结构有负调功能. CARD 对 IFN β 启动子的激活能力明显高于 RIG- I, 但在转染 dsRNA 或病毒侵染条件下, IFN β 启动子激活更显著, 提示 RIG- I 的 helicase 对 dsRNA 或病毒高度敏感. 表达 helicase 结构域 ATP 酶活性位点突变的 RIG- I 或单独的 helicase 域, 则具有显性负效应, 即抑制 dsRNA 对 NF- κ B 和 IRF₃ 的激活, 提示 helicase 域含有抑制功能域. 实验显示, RIG- I 能结合 dsRNA 类似物 poly (I : C), 并有依赖 dsRNA 的 ATP 酶活性. RIG- I 的 helicase 可与丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 的 5' 和 3' 端非翻译区 RNA 结合, 激活 IRF₃ 信号^[21], 提示 helicase 是 RIG- I 的调节结构域. 无 dsRNA 时, helicase 阻止 CARD 的信号转导功能. helicase 区结合 dsRNA 后, CARD 区才能向下游传导信号^[22].

过表达 RIG- I 可诱导一些炎症相关基因表达, 如 COX-2, ISG15 等, 说明 IL-1 β , LPS 及 IFN- γ 诱导出来的 RIG- I 可能与炎症因子的表达和分泌相关^[2,3,23~25].

研究 dsRNA 诱导 IFNs 表达分泌时发现, RIG- I 可介导不依赖 TLR3-TRIF 的抗病毒天然免疫应答^[9,26,27]. siRNA 干涉内源 RIG- I 可抑制新城病毒 (newcastle disease virus, NDV) 侵染下 IRF₃ 的激活, 同时病毒诱导的 I 型 IFNs (IFN α 4 和 IFN β)、IP-10、RANTES^[25] 的表达也被抑制, 说明 RIG- I 对病毒诱导的、与抗病毒反应相关的基因表达是必需的. 过表达 RIG- I 可以增强细胞对病毒的抗性, 能有效抑制 VSV (vesicular stomatitis virus) 和 EMCV (encephalomyocarditis virus) 的复制.

既有模型认为, RIG- I 作为胞质 dsRNA 受体, 通过其 helicase 结合 dsRNA 和 ATP, ATP 水解致 RIG- I -dsRNA 构象改变, 暴露其 CARD, 与下游接头蛋白质干扰素启动子刺激因子 -1 (IPS-1) 的 CARD 相互作用, 下传信号, 激活 NF- κ B 和 IRF₃, 诱导 I 型 IFNs 的表达和分泌, 引发抗病毒天然免疫应答 (图 3)^[12,28~31].

据报道, RIG- I 还参与人类单核巨噬细胞的分化和活化, 在动脉硬化症的预防和治疗方面发挥作用^[32].

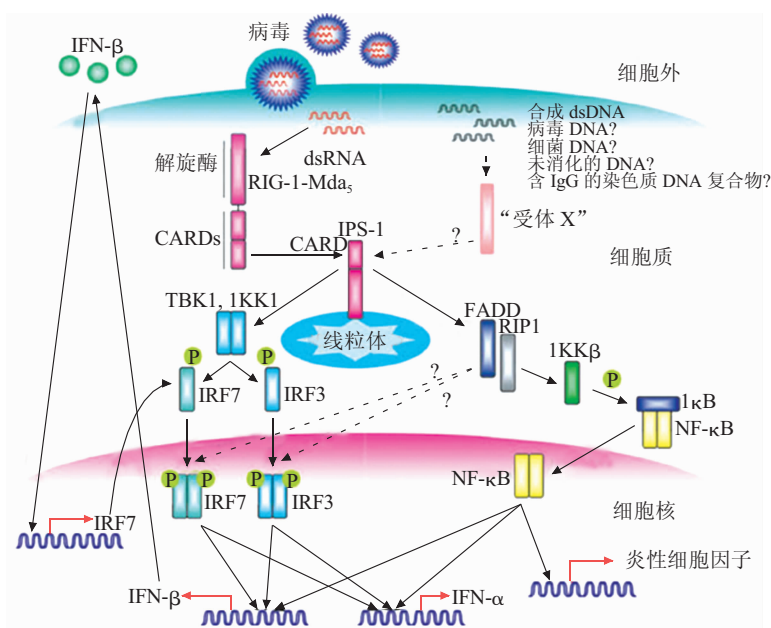


Fig. 3 Signaling pathways of RIG- I in anti-viral innate immunity^[11]

图 3 RIG- I 抗病毒天然免疫的信号通路^[11]

基因敲除小鼠研究佐证了 RIG- I 生理功能。Kato 等发现，大多数 RIG- I^{-/-}小鼠胚胎致死，少量存活者生长缓慢并于产后 3 周内死去，其肝部严重退化，类似于 RelA、IKKβ 或 TBK1 缺失纯合小鼠的胚胎致死，推测异常的胎肝细胞凋亡致其胚胎发育缺陷。由于敲除 TNFR 可补救 RelA、IKKβ 或 TBK1 缺失纯合小鼠的胚胎致死，RelA、IKKβ 或 TBK1 被认为参与阻止 TNFs 诱导的凋亡^[33]，但 TNFα 纯合缺失并不能避免 RIG- I^{-/-}胚胎致死，提示 RIG- I^{-/-}小鼠的胚胎发育缺陷可能与 TNFα 信号通路无关^[26]。而 Sun 等报道的 RIG- I^{-/-}小鼠则未见胚胎发育缺陷及高致死率，形态、体重、繁殖力等与野生型相比也未见明显差异，但存在免疫缺陷，表现为骨髓、脾脏中 B 细胞发育障碍，血清中几乎检测不到 IgG₃，说明 IgG₃ 相关的抗体类别转换受阻。鉴于 RIG- I 在早幼粒细胞向成熟粒细胞分化过程中被 ATRA 诱导表达，因此它可能参与粒细胞分化，而 RIG- I^{-/-}小鼠并未显示分化受阻现象，但该免疫缺陷导致 RIG- I^{-/-}小鼠对木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*) 等弱致病性病原体易感^[34]。RIG- I^{-/-}小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs) 不能对单链 RNA 病毒 NDV、VS、VSV 等产生免疫反应，IFNβ 预处理则可弥补之，这与 RNA 干扰 RIG- I 的结果一致^[9]，说明 RIG- I 通过诱导 IFNs 清除病毒感染^[26]。基于

RIG- I 与 IFNs 诱导密切相关，而 IFNs 在调节 B 细胞增殖、发育，抗体分泌及抗体类别转换等方面起重要作用^[34]。因此，RIG- I 在小鼠免疫应答中不可或缺，提示 RIG- I 可能通过 IFNs 通路参与 B 细胞发育或影响抗体类别转换。两组 RIG- I^{-/-}小鼠的迥异表型或因敲除策略和靶点不同所致，但从不同层面说明 RIG- I 在发育和免疫过程中的重要作用。

5 同源蛋白

MDA₅ 和 LGP₂ 是与 RIG- I 同源度较高的两个蛋白质。MDA₅ 与 RIG- I 均含两个串联重复的氨基端 CARD 和一个羧基端 helicase，LGP₂ 则只含 helicase。与 RIG- I 的序列相似性分别为 23% 和 35%。其中，LGP₂ 的 helicase 与 RIG- I 及 MDA₅ 的 helicase 序列相似性分别为 31% 和 41%^[9]。

基于结构同源、功能相似，MDA₅ 与 RIG- I 一样也通过其 helicase 识别病毒 dsRNA，并由 CARD 下传信号，经不同的激酶复合物激活下游 IRF₃、IRF₇ 和 NF-κB^[10, 35]，但未见二者协同性，表现为干涉 MDA₅ 对下游基因激活的影响不如干涉 RIG- I 明显^[10, 27]，说明在介导 dsRNA 抗病毒天然免疫应答方面，MDA₅ 重要性不如 RIG- I。CARD 诱导 IFNβ 的能力，MDA₅ 比 RIG- I 弱，MDA₅ 的两种突变体，突变 helicase 结构域 ATP 酶活性位点的 MDA₅KA 和单独 helicase 结构域 MDA₅C，

不具显性负效应, 对于病毒刺激诱导的基因表达亦无显著影响^[10]. 丙肝病毒 HCV 的非结构蛋白 3/4A (nonstructural protein, NS3/4A) 可阻断 RIG- I 和 MDA₅ 的信号通路, 而仙台病毒 (sendai virus, SV) 的 V 蛋白只能选择性地阻断 MDA₅ 的信号通路. 免疫共沉淀结果表明, MDA₅ 是 V 蛋白的结合靶点, V 蛋白通过与 MDA₅ 结合抑制 MDA₅ 介导的、由 dsRNA 刺激诱导的 IFN β 启动子活化^[10, 35]. 可见, RIG- I 和 MDA₅ 识别不同类型的 dsRNA, 并对 RNA 病毒的识别具有选择特异性^[21, 36]. 前者为宿主对仙台病毒和丙肝病毒的侵染应答所必需, 而后者则为宿主对小核糖核酸病毒 (picornaviruses) 的侵染应答必不可少^[12].

LGP₂ 与只含 helicase 的 RIG- I 突变体 RIG- I C 相似^[9], 含一个内在的抑制结构域 (repression domain, RD)^[12], 且都有 dominant negative 性质, 以竞争结合 dsRNA 的方式干扰 RIG- I 识别病毒 RNA, 阻断 RIG- I 信号通路, 行使负调控功能^[10, 37]. 稳定转染 LGP₂ 可有效抑制病毒或 dsRNA 激活 IRF₃ 和 NF- κ B, 但不抑制 TLR₃ 信号通路^[37]; RNA 干涉 LGP₂ 可显著增强 NDV 侵染诱导的基因活化. 而过表达 LGP₂ 对小核糖核酸类病毒复制则无显著影响^[10].

6 RIG- I 的抗病毒天然免疫机理

研究表明, 细胞对病毒感染的应答是通过病毒的病原关联分子模体 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 与宿主的病原识别受体 (pathogen recognition receptors, PRRs) 结合, 由胞内分子信号转导而触发. 病毒 RNA 可经胞膜 TLRs 途径或胞质 RIG- I 和 / 或 MDA₅ 途径诱导相应应答过程^[12].

RIG- I 在大多数组织中本底水平表达, dsRNA 结合其 helicase 后, 激活其 CARD 的信号转导活性, 并通过 CARD-CARD 间的相互作用, 将 dsRNA 信号通过接头蛋白 IPS-1 下传, 激活 NF- κ B 和 IRF₃, 诱导 I 型 IFNs 的表达和分泌, 启动宿主天然免疫应答, 限制 RNA 病毒复制和传播^[9, 21, 31, 38], 而 HCV 可通过其 NS3/4A 蛋白酶切割 IPS-1, 阻断 RIG- I 到 IPS-1 间的信号传递, 从而阻止宿主免疫应答^[39], 同时该过程还受 LGP₂ 的影响^[10]. 说明 RIG- I 受自身羧基端顺式调控, 在宿主应答后期 IFNs 产生以后, 还受 LGP₂ 的反式调控^[12], 但机理不明. 有报道称, 该途径还受泛素连接酶 (RNF125) 反馈负调, RIG- I 经该酶介导与泛素偶

联后被蛋白酶体降解, 负向调控下游信号传递^[40].

最近, Saito 等^[12, 41]提出 RIG- I 自调控模型. 该模型认为, dsRNA PAMP 的结合引发 RIG- I 的 PRR 构象变化, CARD 多聚化才能下传信号, 而 RIG- I 和 LGP₂ 的 RD 调控该复合体形成^[12]. 其要点有三: a. RIG- I 的 CARDs 至少以二聚体形式与 IPS-1 的 CARD 相互作用. b. RIG- I 通过 RNA 底物的 5' 是否三磷酸化以及双链区的有无区别“自身”和“异己”RNA^[42-46], 其 helicase 和 RD 一起形成结合特异 RNA 的必需功能单位. helicase 基序的 I, II 和 VI 间的内在相互作用为 ATP 结合、水解所必需, 而 I a 和 IV 则参与结合寡核苷酸底物^[47]. 病毒感染期间, dsRNA 的结合使 RD 重置产生构象变化. 研究发现, RD 是一个独立的功能域, 反式表达能介导其与 RIG- I CARDs 间及 helicase 基序 III 和 IV (amino acids 420~627) 连接区间的相互作用, 而后者为信号抑制所必需, 表明 RIG- I 通过 RD 控制内部相互作用进行自调控. c. RIG- I 在正常细胞中以单体形式存在, 其 RD 通过内部相互作用约束其构象呈 CARD 封闭状, 信号关闭. 病毒感染或 RIG- I 高水平表达时, dsRNA 及 ATP 的结合、水解使 RD 移位, 暴露 CARDs, 促进 CARDs 自联, 诱使构象改变, 激活 RIG- I 呈信号开启状 (图 4), 经 CARDs 多聚体与 IPS-1 的 CARDs 间的相互作用下传免疫信号^[12].

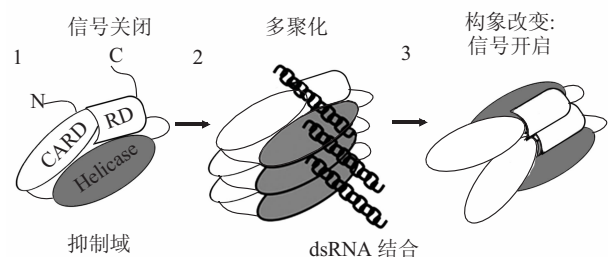


Fig. 4 Autoregulation of RIG- I in anti-viral innate immunity^[12]

图 4 RIG- I 抗病毒天然免疫的自调控^[12]

IFN 应答时, RIG- I 过表达、自联并启动信号传导, 驱动 IFN 正反馈环的放大. 该模型反映了 RD 和 CARDs 复合物对 RIG- I 的自调控, 并与其他 CARD 蛋白 (包括 Apaf-1 和 NOD₁) 的自调控一致. 同时揭示了 CARD 蛋白自调控的一个共同机制, 即通过配体结合、重置 RD 诱导构象变化, 经寡聚化和信号传导, 调控蛋白质功能.

此外, LGP₂ 也含 RD, 而 MDA₅ 则无. 尽管

LGP₂RD 与 RIG- I 和 MDA₅ 都能形成复合物, 但 LGP₂RD 是抑制 RIG- I 功能的充要条件, 对 MDA₅ 则无干扰, 说明尽管 RIG- I 和 MDA₅ 之间存在序列和功能差异, 也有功能互补的一面.

细胞中过表达 LGP₂ 致 SV 和 HCV 诱导的干扰素基因激活明显受抑制, 提示其有负调控功能, LGP₂ 可能通过破坏同类型的 CARD、helicase 和 / 或 RD 间的互作, 阻止 RIG- I 寡聚以抑制其活化. LGP₂ 抑制 RIG- I 信号转导可直接介导或通过 RNA 底物的屏蔽间接实现^[9,37]. 此外, LGP₂ 还可通过阻断 IPS-1 与 RIG- I 信号转导复合物的组装抑制 RIG- I 信号下传^[48]. 因此, LGP₂ 可能在多重水平上影响 RIG- I 信号通路. 鉴于 LGP₂ 是一个 IFN 刺激诱导基因, RIG- I 信号传导又能诱导其表达, 因此, 它对 RIG- I 信号通路的抑制则为减少免疫应答毒性提供一种反馈调控机制^[12].

7 总结与展望

本文回顾了 RIG- I 的研究脉络与成果, 主要是参与抗病毒天然免疫应答的功能和机理. 概言之, RIG- I 在未受病毒感染细胞中以自抑制的单体状态存在, 其 CARD 域被屏蔽, 呈信号关闭状. 病毒侵染时, RIG- I 通过其 helicase 域与病毒 RNA(dsRNA 或 5'端三磷酸化的 ssRNA) 及 ATP 特异性结合、ATP 水解驱动 RIG- I 构象改变并多聚化(至少二聚化), 释放其 CARD 域使呈信号开启状(图 4), 与定位于线粒体外膜的 IPS-1 的 CARD 域通过 α 螺旋间的相互作用, 分两路下传病毒信号, 激活不同的激酶复合物, 分别致 NF- κ B 和 IRF-3, IRF-7 的激活, 促进 I 型干扰素的表达和分泌(图 3)及抗病毒酶的合成, 破坏病毒复制并启动继发免疫应答, 即 RIG- I 通过其自身构象的自调控参与免疫应答.

目前, 人们对 RIG- I 功能和机理的认识还非常有限, 比如: a. RIG- I 的结构分析提示, 其 helicase 域尚含有一个 RNase III 基序(图 2), 而 RNase III 是一个 dsRNA 依赖性酶, 通过 RNAi 参与基因沉默. 有证据显示, RNA helicase 参与 RNAi 过程^[19,20], 如线虫 Dicer 相关解旋酶 1(DCR-1)即为线虫 RNAi 所必需^[49], 但目前尚无 RIG- I 参与哺乳动物 RNAi 过程的报道. b. RIG- I 定位于 9p(图 1), 该区为高频等位基因缺失区^[50]和抑癌基因富集区^[51], 结合其在正常组织细胞和相应肿瘤细胞中的表达特点, 已证实它具有抑癌属性, 相关机理

还不甚清楚. 基于其含有两个串联重复的 CARD 域, CARD 又被认为在凋亡及相关基因表达调控等生理过程中介导分子间相互作用^[10], 且其同源蛋白 MDA₅ 被证实参与调控恶性黑色素瘤细胞的生长和分化^[52], 过表达 MDA₅ 会诱导 HO-1 恶性黑色素瘤细胞凋亡^[20], 在凋亡刺激信号下, MDA₅ 能被 caspase 切割, helicase 结构域和 CARD 分离后, 随即转入细胞核中促进 DNA 的降解^[53, 54]. 因此, RIG- I 是否具有类似的促进癌细胞凋亡的功能, 是一个值得深入研究的问题. c. 序列分析还发现, RIG- I 含 15 个丝氨酸、11 个苏氨酸和 8 个酪氨酸潜在的磷酸化位点, 提示其生理功能可能受磷酸化调节. 目前已证实 LPS 刺激可致胞内 RIG- I 的丝氨酸 / 苏氨酸磷酸化, 但确切的磷酸化位点个数、位置和相关的生理功能和机理等目前还都不清楚. d. 在某些遗传背景下, RIG- I^{-/-}小鼠胚胎致死, 且与 TNF α 无关, 提示 RIG- I 为胚胎正常发育所必需, 相关机理现在还一无所知等.

尽管 RIG- I 对细胞自身 RNA 不敏感, 但考虑到胞内 RNA 存在程度不同的二级结构, 如大多 mRNA 存在局部二级结构, 非编码 RNA(non-coding RNA, NcoRNA) 和微小 RNA(Micro RNA) 等也都含有多少不等的双链结构区, 而 RIG- I 又是一个 dsRNA 依赖的 RNA 解旋酶, 因此其在内源性 RNA 的生理调控过程中究竟发挥哪些作用、如何发挥将是后续研究重点. 鉴于 RNA 末端结构对 RIG- I 识别“细胞”与“非细胞”RNA 极为重要, RIG- I 信号途径的激活和 RNAi 作用的发挥究竟需要底物 RNA 满足哪些条件, 以及相关的关键信号分子和传导途径将成为该领域学者的研究焦点.

参 考 文 献

- 1 孙逸武. 早幼粒细胞白血病诱导分化过程中维甲酸调控基因的研究: [学位论文], 上海: 上海第二医科大学附属瑞金医院, 上海血液病研究所, 1997
Sun Y W. RIG- I , a human homolog gene of RNA helicase, is induced by retinoic acid during the differentiation of acute promyelocytic leukemia cell: [Thesis], Shanghai: Shanghai Institute of Hematology, Rui-Jin Hospital, Shanghai Second Medical University, 1997
- 2 Imaizumi T, Aratani S, Nakajima T, *et al.* Retinoic acid-inducible gene- I is induced in endothelial cells by LPS and regulates expression of COX-2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **292** (1): 274~279
- 3 Cui X F, Imaizumi T, Yoshida H, *et al.* Retinoic acid-inducible gene- I is induced by interferon-gamma and regulates the

- expression of interferon-gamma stimulated gene 15 in MCF-7 cells. *Biochem Cell Biol*, 2004, **82**(3): 401~405
- 4 Imaizumi T, Hatakeyama M, Yamashita K, *et al.* Interferon-gamma induces retinoic acid-inducible gene- I in endothelial cells. *Endothelium*, 2004, **11**(3-4): 169~173
 - 5 Imaizumi T, Yagihashi N, Hatakeyama M, *et al.* Expression of retinoic acid-inducible gene- I in vascular smooth muscle cells stimulated with interferon-gamma. *Life Sci*, 2004, **75**(10): 1171~1180
 - 6 Imaizumi T, Yagihashi N, Hatakeyama M, *et al.* Upregulation of retinoic acid-inducible gene- I in T24 urinary bladder carcinoma cells stimulated with interferon-gamma. *Tohoku J Exp Med*, 2004, **203**(4): 313~318
 - 7 Sakaki H, Imaizumi T, Matsumiya T, *et al.* Retinoic acid-inducible gene- I is induced by interleukin-1 beta in cultured human gingival fibroblasts. *Oral Microbiol Immunol*, 2005, **20**(1): 47~50
 - 8 Monastyrskaja G S, Kostina M B, Filiukova O B, *et al.* Activation of the RIG- I gene, coding for DEXH/D-protein in infection of RH cells by tick-borne encephalitis virus. *Bioorg Khim*, 2004, **30**(2): 146~150
 - 9 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
 - 10 Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, *et al.* Shared and unique functions of the DEXH/D-box helicases RIG- I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity. *J Immunol*, 2005, **175**(5): 2851~2858
 - 11 Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nat Immunol*, 2006, **7**(2): 131~137
 - 12 Saito T, Hirai R, Loo Y M, *et al.* Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG- I and LGP2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(2): 582~587
 - 13 Matikainen S, Siren J, Tissari J, *et al.* Tumor necrosis factor alpha enhances influenza A virus-induced expression of antiviral cytokines by activating RIG- I gene expression. *J Virol*, 2006, **80**(7): 3515~3522
 - 14 Veckman V, Osterlund P, Fagerlund R, *et al.* TNF-alpha and IFN-alpha enhance influenza-A-virus-induced chemokine gene expression in human A549 lung epithelial cells. *Virology*, 2006, **345**(1): 96~104
 - 15 Xiao S, Li D, Zhu H Q, *et al.* RIG-G as a key mediator of the antiproliferative activity of interferon-related pathways through enhancing p21 and p27 proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(44): 16448~16453
 - 16 Marsden S, Nardelli M, Linder P, *et al.* Unwinding single RNA molecules using helicases involved in eukaryotic translation initiation. *J Mol Biol*, 2006, **361**(2): 327~335
 - 17 Jankowsky E, Bowers H. Remodeling of ribonucleoprotein complexes with DEXH/D RNA helicases. *Nucleic Acids Res*, 2006, **34**(15): 4181~4188
 - 18 Tijsterman M, Ketting R F, Plasterk R H. The genetics of RNA silencing. *Annu Rev Gene*, 2002a, **36**(1): 489~519
 - 19 Tijsterman M, Ketting R F, Okihara K L, *et al.* RNA helicase MUT-14-dependent gene silencing triggered in *C. elegans* by short antisense RNAs. *Science*, 2002b, **295**(5555): 694~697
 - 20 Kang D C, Gopalkrishnan R V, Lin L, *et al.* Expression analysis and genomic characterization of human melanoma differentiation associated gene-5, mda-5: a novel type I interferon-responsive apoptosis-inducing gene. *Oncogene*, 2004, **23**(9): 1789~1800
 - 21 Sumpter R Jr, Loo Y M, Foy E, *et al.* Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG- I. *J Virol*, 2005, **79**(5): 2689~2699
 - 22 Heim M H. RIG- I : an essential regulator of virus-induced interferon production. *J Hepatol*, 2005, **42**(3): 431~433
 - 23 Sakaki H, Imaizumi T, Matsumiya T, *et al.* Retinoic acid-inducible gene- I is induced by interleukin-1beta in cultured human gingival fibroblasts. *Oral Microbiol Immunol*, 2005, **20**(1): 47~50
 - 24 Imaizumi T, Yoshida H, Nishi N, *et al.* Double-stranded RNA induces galectin-9 in vascular endothelial cells: involvement of TLR3, PI3K and IRF3 pathway. *Glycobiology*, 2007a, **17**(7): 12C-5C
 - 25 Yoshida H, Imaizumi T, Lee S J, *et al.* Retinoic acid-inducible gene- I mediates RANTES/CCL5 expression in U373MG human astrocytoma cells stimulated with double strand RNA. *Neurosci Res*, 2007, **58**(2): 199~206
 - 26 Kato H, Sato S, Yoneyama M, *et al.* Cell type-specific involvement of RIG- I in antiviral response. *Immunity*, 2005, **23**(1): 19~28
 - 27 Li K, Chen Z, Kato N, *et al.* Distinct poly (I -C) and virus-activated signaling pathways leading to interferon-beta production in hepatocytes. *J Biol Chem*, 2005, **280**(17): 16739~16747
 - 28 Kawai T, Takahashi K, Sato S, *et al.* IPS-1, an adaptor triggering RIG- I - and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat Immunol*, 2005, **6**(10): 981~988
 - 29 Johnson C L, Gale M Jr. CARD games between virus and host get a new player. *Trends Immunol*, 2006, **27**(1): 1~4
 - 30 Meylan E, Curran J, Hofmann K, *et al.* Cardif is an adaptor protein in the RIG- I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature*, 2005, **437**(7062): 1167~1172
 - 31 Meylan E, Tschopp J, Karin M. Intracellular pattern recognition receptors in the host response. *Nature*, 2006, **442**(7098): 39~44
 - 32 Imaizumi T, Yagihashi N, Kubota K, *et al.* Expression of retinoic acid-inducible gene- I (RIG- I) in macrophages: possible involvement of RIG- I in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*, 2007b, **14**(2): 51~55
 - 33 Bonnard M, Mirtsos C, Suzuki S, *et al.* Deficiency of T2K leads to apoptotic liver degeneration and impaired NF-kappaB-dependent gene transcription. *EMBO J*, 2000, **19**(18): 4976~4985
 - 34 孙岳平. RIG- I 基因剔除小鼠模型的建立及其生物学功能的初步研究: [学位论文], 上海: 上海第二医科大学, 2004
Sun Y P. Generation of RIG- I gene knockout mice and its functional study: [Thesis], Shanghai: Shanghai Second Medical University, 2004
 - 35 Andrejeva J, Childs K S, Young D F, *et al.* The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN-inducible RNA helicase, mda5, and inhibit its activation of the IFN-beta promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(49): 17264~17269

- 36 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
- 37 Rothenfusser S, Goutagny N, DiPerna G, *et al.* The RNA helicase Lgp2 inhibits TLR-independent sensing of viral replication by retinoic acid-inducible gene- I . *J Immunol*, 2005, **175**(8): 5260~5268
- 38 Loo Y M, Owen D M, Li K, *et al.* Viral and therapeutic control of IFN-beta promoter stimulator 1 during hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(15): 6001~6006
- 39 Foy E, Li K, Sumpter R Jr, *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
- 40 Arimoto K I, Takahashi H, Hishiki T, *et al.* Negative regulation of the RIG- I signaling by the ubiquitin ligase RNF125. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(18): 7500~7505
- 41 Vitour D, Meurs E F. Regulation of interferon production by RIG- I and LGP2: a lesson in self-control. *Sci STKE*, 2007, **2007**(384): pe20. doi: 10.1126/stke.3842007pe20
- 42 Simmonds P, Tuplin A, Evans D J. Detection of genome-scale ordered RNA structure (GORS) in genomes of positive-stranded RNA viruses: Implications for virus evolution and host persistence. *RNA*, 2004, **10**(9): 1337~1351
- 43 Hornung V, Ellegast J, Kim S, *et al.* 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG- I . *Science*, 2006, **314**(5801): 994~997
- 44 Pichlmair A, Schulz O, Tan C P, *et al.* RIG- I -mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science*, 2006, **314**(5801): 997~1001
- 45 Plumet S, Herschke F, Bourhis J M, *et al.* Cytosolic 5'-triphosphate ended viral leader transcript of measles virus as activator of the RIG- I -mediated interferon response. *PLoS ONE*, 2007, **2**(3): e279 doi: 10.1371/journal.pone.0000279
- 46 Fujita T, Onoguchi K, Onomoto K, *et al.* Triggering antiviral response by RIG- I -related RNA helicases. *Biochimie*, 2007, **89**(6-7): 754~760
- 47 Caruthers J M, McKay D B. Helicase structure and mechanism. *Curr Opin Struct Biol*, 2002, **12**(1): 123~133
- 48 Komuro A, Horvath C M. RNA- and virus-independent inhibition of antiviral signaling by RNA helicase LGP₂. *J Virol*, 2006, **80**(24): 12332~12342
- 49 Tabara H, Yigit E, Siomi H, *et al.* The dsRNA binding protein RDE-4 interacts with RDE-1, DCR-1, and a DEXH-box helicase to direct RNAi in *C. elegans*. *Cell*, 2002, **109**(7): 861~871
- 50 李桂源, 刘华英, 周鸣, 等. 鼻咽癌癌变的分子机理. *生物化学与生物物理进展*, 2006, **33**(10): 922~931
- Li G Y, Liu H Y, Zhou M, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2006, **33**(10): 922~931
- 51 Perrone F, Tabano S, Colombo F, *et al.* p15INK4b, p14ARF, and p16INK4a inactivation in sporadic and neurofibromatosis type 1-related malignant peripheral nerve sheath tumors. *Clin Cancer Res*, 2003, **9**(11): 4132~4138
- 52 Kang D C, Gopalkrishnan R V, Wu Q, *et al.* mda-5: An interferon-inducible putative RNA helicase with double-stranded RNA-dependent ATPase activity and melanoma growth-suppressive properties. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(2): 637~642
- 53 Kovacsovic M, Martinon F, Micheau O, *et al.* Overexpression of Helicard, a CARD-containing helicase cleaved during apoptosis, accelerates DNA degradation. *Curr Biol*, 2002, **12**(10): 838~843
- 54 Barral P M, Morrison J M, Drahos J, *et al.* MDA-5 is cleaved in poliovirus-infected cells. *J Virol*, 2007, **81**(8): 3677~3684

Progress of The Research on Retinoic Acid Inducible Gene I *

CUI Ying-Yu^{1,2**}

⁽¹⁾Laboratory of Protein Engineering and Plant Genetic Engineering, College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China;

⁽²⁾School of Basic Medical Science, Medical College, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract RIG- I , the abbreviation of retinoic acid inducible gene- I , can be induced to express in many type cells by various stimuli. Recently, it was identified as an intracellular regulator for RNA virus-induced antiviral response in innate immunity. Its discovery, expression induction, structure, research status of its function, homologous proteins and functional mechanism etc. were summarized, and its further research pulses are also prospected meanwhile.

Key words retinoic acid inducible gene- I (RIG- I), RNA helicase, inducible expression, innate immunity, autoregulation

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30671028) and Postdoctoral Science Foundation of China (2005038300).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-62756887, E-mail: yycui@pku.edu.cn; Tel: 86-21-65988791, Fax:021-65988785, E-mail: yycui@mail.tongji.edu.cn

Received: July 23, 2007 Accepted: August 30, 2007