

## ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ, ВИРУСНЫЕ СТРАТЕГИИ ЭВАЗИИ

УДК 578.23, 578:612.017.1, 612.017.1:57.04

### ВРОЖДЕННОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ ВИРУСОВ

© 2011 г. М. С. Друцкая<sup>1\*</sup>, П. В. Белоусов<sup>2,3</sup>, С. А. Недоспасов<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

<sup>3</sup>Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991

Поступила в редакцию и принята к печати 27.08.2010 г.

Вирусы — облигатные паразиты, способные инфицировать клетки практически любых организмов, что объясняет возникновение системы противовирусной защиты на ранних стадиях эволюции многоклеточных организмов. В то время как у высших позвоночных защита от вирусов определяется сложными взаимодействиями механизмов врожденного и адаптивного иммунитета, большинство низших организмов при ответе на вирусную инфекцию опираются исключительно на механизмы врожденного иммунитета. Некоторые компоненты сигнальных каскадов врожденного иммунного распознавания млекопитающих присутствуют у более низших организмов (в том числе растений), что свидетельствует о высокой консервативности этих сигнальных путей в эволюции иммунной системы. В настоящем обзоре рассмотрены механизмы врожденного распознавания вирусов, особое внимание уделено семейству паттерн-распознающих рецепторов с учетом недавних открытий в области врожденного противовирусного иммунного ответа у различных многоклеточных организмов.

**Ключевые слова:** врожденный иммунитет, патоген-распознающие рецепторы, Toll-подобные рецепторы, RIG-I-подобные рецепторы, противовирусный ответ.

INNATE IMMUNITY AGAINST VIRUSES, by M. S. Drutskaya<sup>1\*</sup>, P. V. Belousov<sup>2,3</sup>, S. A. Nedospasov<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia; \*e-mail: marinadru@gmail.com; <sup>2</sup>Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia; <sup>3</sup>Department of Biology, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia). Viruses are obligate parasites which are able to infect cells of all living organisms. Multiple antiviral defense mechanisms have appeared early in evolution of the immune system. Higher vertebrates have the most complex antiviral immunity which is based on both innate and adoptive immune responses. However, majority of living organisms, including plants and invertebrates, rely exclusively on innate immune mechanisms for protection against viral infections. There are some striking similarities in several components of the innate immune recognition between mammals, plants and insects, rendering these signaling cascades as highly conserved in the evolution of the immune system. This review summarizes recent advances in the field of innate immune recognition of viruses, with particular interest on pattern-recognition receptors.

**Keywords:** innate immunity, pathogen-recognition receptors, toll-like receptors, RIG-I-like receptors, antiviral response.

### ВВЕДЕНИЕ

Врожденный иммунитет — первая и наиболее древняя линия защиты организма от патогенов. Многие сигнальные каскады, в том числе вовлечен-

ные в иммунный ответ, впервые охарактеризовали у плодовой мушки (*Drosophila*). Оказалось, что молекулярные механизмы, лежащие в основе врожденного иммунного распознавания патогенов у насеко-

Принятые сокращения: IL — интерлейкин; PRR (pathogen recognition receptor) — патоген-распознающий рецептор; TLR (Toll-like receptor) — Toll-подобный рецептор; TIR (Toll-interleukin-1 receptor) домен — домен, общий для Toll- и IL-1-рецепторов; NB (nucleotide binding) домен — нуклеотид-связывающий домен; LRR (leucine rich repeats) — лейцин-богатые повторы; RLR (Rig-1-like receptor) — Rig-1-подобный рецептор; PAMP (pathogen-associated molecular pattern) — патоген-ассоциированный молекулярный паттерн; CARD (caspase activation and recruitment domain) — домен, привлекающий и активирующий каспазы; MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein) — митохондриальный противовирусный сигнальный белок; TBK-1 (TANK-binding kinase1) — TANK-связывающая киназа; NLR (NOD-like receptor) — NOD-подобный рецептор; TRIF — TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$ ; ASC — apoptotic speck-containing protein with a CARD; MICB — MHC class I-polypeptide-related sequence B.

\* Эл. почта: marinadru@gmail.com

мых (в частности, у *D. melanogaster*), в значительной степени перекрываются с сигнальными каскадами, обеспечивающими индукцию врожденного иммунного ответа как у позвоночных, так и у растений. Можно отметить существенную структурную и функциональную гомологию между TOLL-рецептором *Drosophila*, Toll-подобными рецепторами (TLR) млекопитающих и недавно открытыми TIR-NB-LRR-рецепторами растений [1, 2]. Для этих вовлеченных во врожденное иммунное распознавание рецепторов характерно наличие внутриклеточного TIR-домена (общего для IL-1- и Toll-рецепторов), нуклеотид-связывающего домена (NB), а также домена с лейцин-богатыми повторами (LRR). Подобная гомология существует между белком Dicer-2 плодовой мушки и рецепторами семейства RLR, участвующими во врожденном распознавании вирусной РНК в клетках млекопитающих [3]. Помимо упомянутых рецепторов, неотъемлемым компонентом противовирусной защиты у беспозвоночных и растений является интерференция малыми РНК, специфичными к вирусной РНК [4, 5]. РНК-интерференция играет важную роль и в регуляции экспрессии генов у этих организмов. Однако у млекопитающих роль РНК-интерференции в противовирусной защите, по всей видимости, была утрачена в ходе эволюции, и этот механизм связан у них исключительно с регуляцией экспрессии собственных генов. В то же время, у млекопитающих эволюционировал другой путь защиты, опосредованный индукцией интерферонов первого типа. Этот процесс считается одним из кульминационных событий каскада активации эндосомных Toll-подобных рецепторов, а также недавно открытых внутриклеточных сенсоров вирусной инфекции семейства RLR. В качестве еще одного компонента врожденного иммунного распознавания вирусов следует рассматривать и НК-клетки, эволюционно более древние, чем адаптивный иммунитет. При этом некоторые особенности рецепторов НК-клеток характерны именно для адаптивного иммунного распознавания.

Не следует забывать и о существенной роли компонентов адаптивного иммунитета в противовирусной защите — как нейтрализующих антител, так и цитотоксических Т-клеток, обсуждение действия которых выходит за рамки нашего обзора. Стоит лишь отметить, что у позвоночных врожденный и адаптивный иммунитет, обусловленные кардинально различающимися механизмами распознавания, функционируют как единое целое, а индукция адаптивного иммунного ответа в значительной степени опирается на врожденный иммунитет. При этом для адаптивного иммунитета характерна более высокая специфичность ответа на инфекцию, а также память, обеспечивающая быструю защитную реакцию

при повторном инфицировании. В основе адаптивного иммунного распознавания лежит принцип перестройки генов иммуноглобулинов с помощью генетической рекомбинации с образованием бесконечного разнообразия высокоспецифичных антител и рецепторов Т-лимфоцитов, способных опознать любой чужеродный антиген. Так, механизм адаптивного иммунного распознавания, основанный на белковых структурах, содержащих иммуноглобулиновые домены, впервые возник у позвоночных, начиная с челюстноротых рыб. У круглоротых, наиболее примитивных представителей позвоночных, обнаружена особенная структура рецепторов адаптивной иммунной системы, которая не получила дальнейшего развития в эволюции [6], хотя характерные для них модули с лейцин-богатыми повторами (LRR) используются в рецепторах врожденного распознавания высших организмов. Подчеркнем, что у большинства организмов защитный ответ на патогены, в том числе вирусы, обусловлен исключительно врожденным иммунитетом.

## МЕХАНИЗМЫ РАСПОЗНАВАНИЯ ВИРУСОВ

У млекопитающих в ходе эволюции сформировалась наиболее сложная система врожденного иммунного распознавания, которую можно классифицировать по типу рецепторов [7, 8]. К секретлируемым патоген-распознающим рецепторам (PRR) можно отнести растворимые белки (включая лектины, фиколины и пентраксины), опознающие инвариантные химические структуры на поверхности патогенов и вызывающие активацию системы комплемента, в том числе и при вирусной инфекции. Второй класс рецепторов представлен трансмембранными PRR — TLR и лектинами С-типа, локализованными как на цитоплазматической мембране, так и в эндосомах. И, наконец, третий класс составляют цитоплазматические белки-сенсоры внутриклеточных инфекций.

Основные компоненты врожденного распознавания вирусных инфекций у млекопитающих — это, в первую очередь, трансмембранные TLR, локализованные преимущественно в эндосомах клеток иммунной системы (в макрофагах и дендритных клетках), а также открытые совсем недавно внутриклеточные сенсоры — RIG-I-подобные рецепторы (RLR) [9]. Рецепторы семейств TLR и RLR существенно различаются не только по характеру экспрессии в организме или по локализации в клетке, но и по внутриклеточным сигнальным каскадам, в которые они вовлечены, что свидетельствует об эволюции множественных механизмов врожденного иммунного распознавания вирусов у позвоночных. Еще одно семейство внутриклеточных рецепторов,

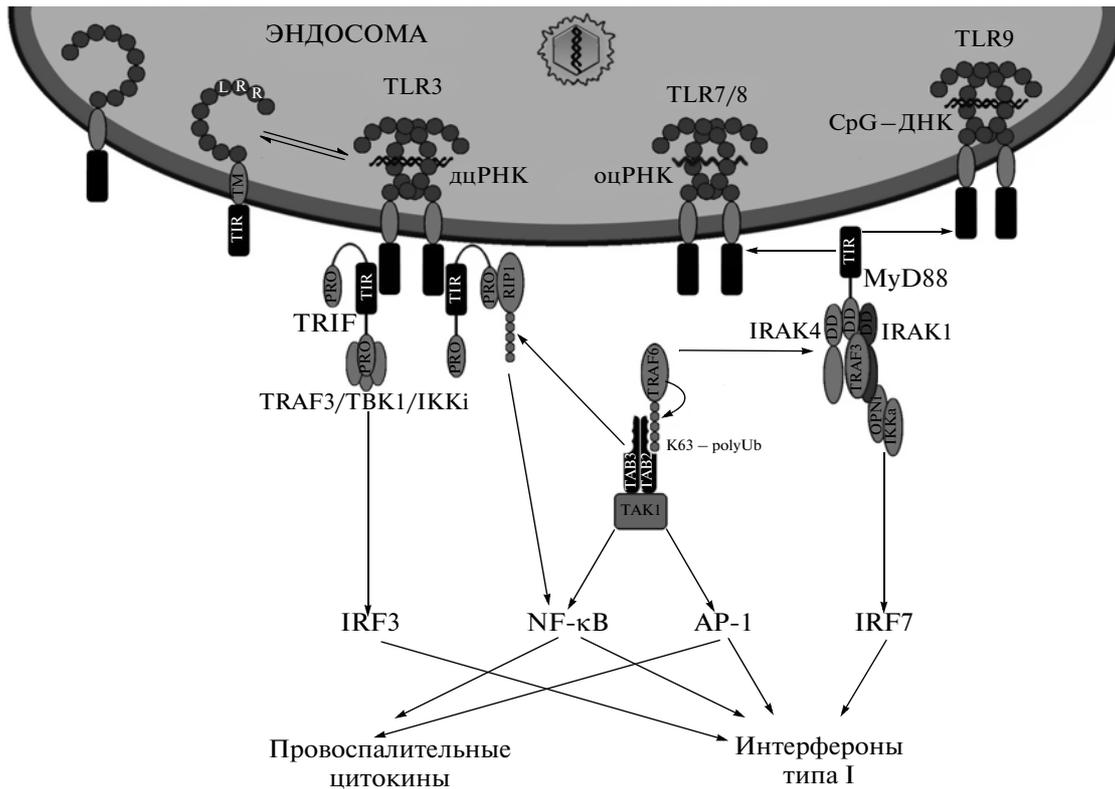
вовлеченных в распознавание патогенов, — NOD-подобные рецепторы (NLR), играет важную регуляторную роль в ответе на возбудителей инфекции и при индукции адаптивного иммунного ответа [10]. На данный момент нет оснований утверждать, что эти рецепторы вовлечены непосредственно в распознавание вирусных лигандов, однако они участвуют в передаче сигналов от RLR [11]. Активация сигнальных каскадов, запускаемых PRR, во многом предопределяет дальнейшее течение инфекции, активацию адаптивного иммунитета и, как следствие, формирование адекватного иммунного ответа и памяти [8].

### TOLL-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ (TLR)

Первая линия противовирусной защиты включает в себя активацию рецепторов врожденного иммунного распознавания и запуск внутриклеточных сигнальных каскадов, приводящих к индукции ключевых медиаторов ответа на вирусные инфекции, таких как интерфероны первого типа и провоспалительные цитокины. В систему врожденного иммунного распознавания входят рецепторы семейства TLR. К особенностям этих рецепторов относится их синтез преимущественно специализированными клетками иммунной системы. Рецепторы семейства TLR это трансмембранные белки, активация которых патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP) приводит к запуску внутриклеточного сигнального каскада через TIR-домен, общий для TLR и рецептора IL-1, и к активации транскрипции генов врожденного и адаптивного иммунного ответа, в том числе генов интерферонов [7, 8]. К рецепторам, вовлеченным в распознавание вирусов, а точнее, в распознавание вирусных нуклеиновых кислот, следует отнести TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9. Использование нуклеиновых кислот, которые в изобилии имеются как в ядре, так и в цитоплазме клеток организма-хозяина, в качестве PAMP нетривиально и нуждается в дополнительном обсуждении. Оказалось, что упомянутые члены семейства TLR преимущественно локализованы не на клеточной мембране, а в эндосомах — клеточных органеллах, в которые вирус может попадать в результате эндоцитоза или фагоцитоза инфицированных клеток, но доступ к которым для “собственных” клеточных РНК и ДНК в норме закрыт. Недавно показали, что активная форма рецептора TLR9 и, предположительно, TLR7 образуются уже после попадания в эндосомы в результате процессинга молекул-предшественников, что обеспечивает дополнительный уровень защиты от случайного взаимодействия этих рецепторов с эндогенными нуклеиновыми кислотами [12]. Таким образом, специфичность распознава-

ния обусловлена комбинацией двух факторов: химического (нуклеиновая кислота) и внутриклеточной локализации. Активация рецепторов происходит в результате их взаимодействия с ДНК или РНК вирусного генома (TLR7/8/9) или с продуктами репликации РНК-содержащих вирусов (TLR3) (рис. 1). Следует отметить, что мышинный TLR8, в отличие от TLR8 человека, не участвует в защите от вирусов [13]. Лигандом для TLR7 (и TLR8 у человека) служит оцРНК, для TLR9 — метилированная CpG-богатая ДНК (этот рецептор вовлечен и в защиту от внутриклеточных бактериальных инфекций). В частности, TLR9 участвует в ответе на герпесвирусы, а TLR7 и TLR8 индуцируют ответ на РНК-содержащие вирусы, такие как, например, вирус гриппа или HIV (таблица). TLR3 обладает широкой специфичностью в отношении различных вирусных инфекций, так как его лигандом служит дцРНК — продукт репликации и транскрипции как РНК-, так и ДНК-содержащих вирусов [9]. Интересно, что конститутивная экспрессия генов рецепторов TLR7/8/9 и последующая активация фактора транскрипции IRF7 происходят исключительно в плазматитоидных дендритных клетках, основном источнике интерферонов первого типа, в то время как TLR3 синтезируется преимущественно в фагоцитирующих дендритных клетках (таблица).

Индукция интерферонов первого типа через TLR3 происходит при участии адаптерного белка TRIF, причем TLR3 — это единственный TLR, который не использует альтернативный сигнальный адаптер MyD88 (рис. 1). Белок TRIF служит медиатором активации IκB-киназы ε (IKKε) и TANK-связывающей киназы 1 (TBK1), которая приводит к фосфорилированию интерферон-регулирующего фактора 3 (IRF3) и последующей активации транскрипции гена интерферона β [14–16], как показано в левой части рис. 1. Помимо этого, TRIF участвует в активации факторов транскрипции NF-κB и AP-1, опосредованной киназным комплексом IKKα/β/γ и каскадом MAPK соответственно. Факторы транскрипции IRF3, NF-κB и AP-1 координируют транскрипцию гена *ifnβ* [17, 18] — одного из главных эффекторов противовирусного механизма. Интерфероны первого типа индуцируются рецепторами TLR7/8/9 при участии другого адаптерного белка — MyD88, который так же, как и TRIF, взаимодействует с TIR-доменом рецептора [19, 20], как показано в правой части рис. 1. К дальнейшей передаче сигнала привлечены киназы IRAK1 и IRAK4, а также TRAF6 [21], причем конечный результат сигнального каскада, опосредованного IRAK1, — активация IRF7. MyD88-зависимый сигнальный каскад не только индуцирует IRF7, он активирует и уже упомянутые NF-κB и AP-1 через киназный комплекс IKKα/β/γ и



**Рис. 1.** Модель врожденного иммунного распознавания вирусов в эндосомах. Распознавание осуществляется эндосомными рецепторами семейства TLR. Лигандами для эндосомных TLR служат дцРНК (TLR3) и оцРНК (TLR7/8), а также дцДНК, содержащая неметилированные CpG-динуклеотиды (TLR9). Индуцированная лигандом димеризация молекул TLR приводит к гомотипическому рекрутированию содержащих TIR-домен адаптерных молекул TRIF (TLR3) и MyD88 (TLR7-9). Пролин-богатые регионы TRIF служат для связывания с комплексом TRAF3/TBK1/IKK и киназой RIP1. TBK1 и IKK фосфорилируют фактор IRF3, который после транслокации в ядро при содействии факторов транскрипции AP-1 и NF-κB индуцирует синтез интерферона β. Полиубиквитинированная форма RIP1 способна рекрутировать комплекс аутоубиквитинированного TRAF6 с TAB2/TAB3/TAK1, что приводит к запуску каскадов активации NF-κB и AP-1, необходимых для индукции как провоспалительных цитокинов, так и интерферонов первого типа. С участием аналогичного сигнального каскада происходит рекрутирование комплекса TRAF6/TAB2/TAB3/TAK1 к комплексу MyD88/IRAK1/IRAK4/TRAF6/OPN1/IKKα при активации TLR7, 8 и 9. Рекрутированные в комплекс с MyD88 киназы IKKα и IRAK1 фосфорилируют IRF7, который после транслокации в ядро при содействии AP-1 и NF-κB индуцирует синтез интерферона λ. DD – домен смерти, LRR – лейцин-богатый повтор, PRO – пролин-богатый регион, TIR – домен, общий для Toll/IL-1-рецепторов.

МАРК соответственно, но уже при участии TRAF6 (рис. 1). Следует отметить, что IRF7 активирует транскрипцию генов как интерферона β, так и многочисленного семейства интерферона α, в то время как IRF3 участвует исключительно в активации транскрипции генов интерферона β (таблица).

### RIG-I-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ (RLR)

Оказалось, что не только клетки иммунной системы, но и подавляющее большинство других клеток млекопитающих способны синтезировать интерферон в ответ на вирусную инфекцию, что может свидетельствовать о существовании внутриклеточных сенсоров, распознающих “паттерны”, специфичные для патогенов данного класса. Действительно, недавно были открыты и охарактеризованы цитоплаз-

матические белки, участвующие в сигнальных каскадах, которые приводят к активации транскрипции генов интерферонов в ответ на специфическое взаимодействие с вирусной, но не с клеточной РНК высших эукариот. Это семейство RIG-I-подобных рецепторов (RLR) на настоящий момент включает в себя три РНК-хеликазы с DExD/H-боксом: RIG-I, MDA5, а также LGP-2. Помимо домена с DExD/H-боксом в N-концевой части RIG-I и MDA5 локализованы два CARD-домена, что позволяет им взаимодействовать с адаптерным белком MAVS, расположенным на внешней стороне мембраны митохондрий [22, 23] (рис. 2). За счет этих взаимодействий MAVS может участвовать в активации таких киназ, как TBK1 и IKKε, и в опосредованной ими активации факторов IRF3, IRF7 и NF-κB – основных регуляторов транскрипции генов интерферонов и про-

Рецепторы врожденного иммунитета млекопитающих, участвующие в распознавании вирусов

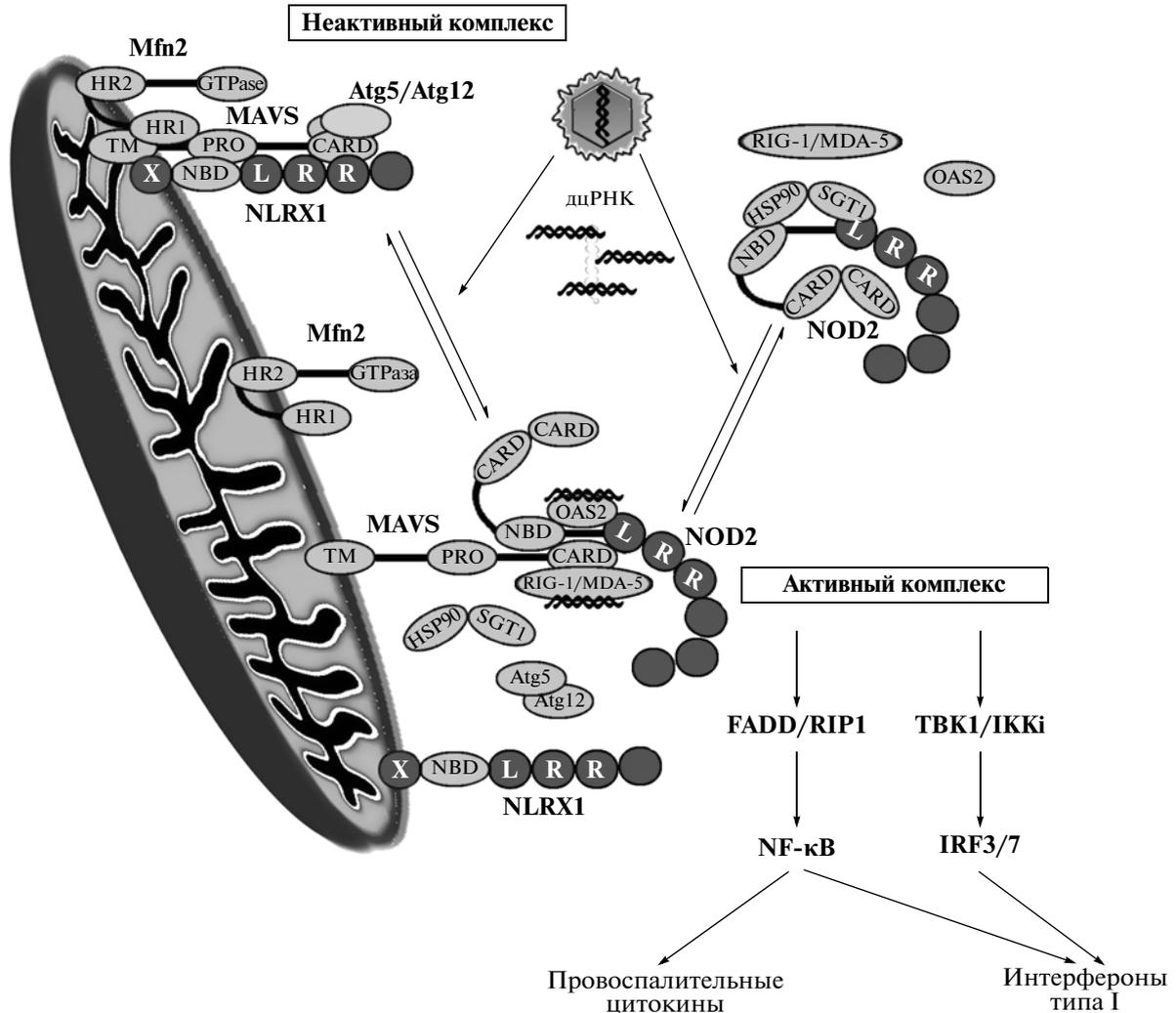
Семейство патоген-распознающих рецепторов	Внутриклеточные сигнальные каскады	Факторы транскрипции	Вирусные "лиганды"	Защита от вирусов	
<b>RIG-I-подобные рецепторы (RLR)</b> , синтезируемые в цитоплазме большинства клеток организма	<b>RIG-I</b> (retinoic acid inducible gene-1)	<b>MAVS</b> (mitochondrial antiviral signaling, он же IPS-1, VISA, Cardif)-зависимая активация интерферонов первого типа и провоспалительных цитокинов <b>инфицированными клетками</b>	<b>IRF-3</b> (interferon response factor 3), <b>IRF-7</b> (interferon response factor 7), <b>NF-κB</b> (nuclear factor κB)	<b>дцРНК</b> (промежуточный продукт вирусной репликации)	РНК-содержащие вирусы (в том числе, Paramyxoviridae, Orthomyxoviridae, Flaviviridae, Rhabdoviridae) РНК-содержащие вирусы (в том числе Picornaviridae)
	<b>MDA5</b> (melanoma differentiation-associated gene 5)	<b>TRIF</b> (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-β) – зависимая активация интерферона β и провоспалительных цитокинов преимущественно <b>фагоцитирующими дендритными клетками и макрофагами</b>	<b>IRF-3</b> (interferon response factor 3), <b>NF-κB</b> (nuclear factor κB), <b>AP-1</b> (activator protein 1)	<b>дцРНК</b> (промежуточный продукт вирусной репликации)	РНК- и ДНК-содержащие вирусы
<b>Toll-подобные рецепторы (TLR)</b> , мембраносвязанные, образующиеся в эндосомах клеток иммунной системы	<b>TLR3</b>	<b>MyD88</b> (myeloid differentiation primary response protein 88) – зависимая активация интерферонов первого типа и провоспалительных цитокинов преимущественно <b>плазмацитогенными дендритными клетками</b>	<b>IRF-7</b> (interferon response factor 7), <b>NF-κB</b> (nuclear factor κB), <b>AP-1</b> (activator protein 1)	<b>оцРНК</b>	РНК-содержащие вирусы (в том числе, Orthomyxoviridae, Rhabdoviridae, Retroviridae)
	<b>TLR7/8</b>	<b>TLR9</b>	<b>IRF-7</b> (interferon response factor 7), <b>NF-κB</b> (nuclear factor κB), <b>AP-1</b> (activator protein 1)	<b>СрG-ДНК</b>	ДНК-содержащие вирусы (в том числе Herpesviridae)

воспалительных цитокинов [24, 25]. Показано также, что RIG-I обладает MAVS-независимой противовирусной активностью, которая заключается в способности прямо активировать неотъемлемую часть молекулярного механизма запуска воспалительного процесса – “инфламмасому” – многокомпонентный белковый комплекс, участвующий в процессинге молекулы-предшественника IL-1β [26].

Рецепторы RLR служат как внутриклеточными сенсорами, так и компонентами сигнального каскада, вовлеченного в опосредованную интерферонами противовирусную защиту. Эти PRR продуцируются большинством типов клеток организма [27] (таблица). Наиболее изученный рецептор этого семейства – RIG-I – ключевой медиатор противовирусного иммунитета, участвующий как во внутриклеточном распознавании вирусной РНК, так и в запуске сигнальных каскадов, в первую очередь, в активации интерферонов первого типа. RIG-I участвует в индукции ответа на ортомиксовирусы (в том числе на вирус гриппа А) и парамиксовирусы

(включая возбудителей кори, ветрянки и вирус Сендай), а также на вирусы гепатита С и японского энцефалита [26]. Еще один рецептор этого семейства, MDA5, вовлечен в защитную реакцию клеток в ответ на пикорнавирусы (таблица). Интересно, что спектры чувствительности к вирусным инфекциям различаются у мышей с дефицитом MDA5 и у мышей с дефицитом RIG-I [28, 29]. Активаторы LGP-2, третьего члена семейства RLR, пока не определены; предполагается, что этот белок играет регуляторную роль в распознавании вирусов [30].

Одна из наиболее интригующих проблем в данной области – специфичность распознавания вирусной РНК в цитоплазме инфицированной клетки. Такая специфичность может обуславливаться химическими модификациями, отличающими вирусную РНК от РНК клетки-хозяина, либо особенностями вторичной или третичной структуры вирусной РНК (например, способностью образовывать нехарактерные для РНК эукариот длинные двухцепочечные участки). Пожалуй, самый поразительный результат



**Рис. 2.** Модель врожденного иммунного распознавания вирусов в цитоплазме клетки. В отсутствие инфекции взаимодействию локализованного на митохондриальной мембране MAVS с РНК-хеликазами с DExD/H-боксом и NOD2 препятствуют ассоциированные с MAVS NOD-подобный рецептор NLRX1, конъюгат Atg5-Atg12 и митофузин-2 (Mfn2). При появлении в цитоплазме дцРНК или 5'-трифосфат-содержащей оцРНК данная неактивная форма комплекса диссоциирует по не вполне изученному механизму, что позволяет MAVS взаимодействовать с РНК-хеликазой RIG1 и/или MDA5, а также с NOD2, высвобождаемому параллельно из комплекса с HSP90 и SGT1. NOD2 также связывает еще один дцРНК-связывающий белок – OAS2, превращающий ATP в олигомеры 2'-5'-аденозина. Последние, в свою очередь, активируют латентную форму РНКазы L, которая расщепляет вирусную РНК и препятствует дальнейшей продукции вируса, параллельно генерируя (в том числе, из собственных РНК клетки) 5'-гидроксил- и 3'-фосфат-содержащие фрагменты, которые могут опознаваться РНК-хеликазой RIG1 (не показано). Собранный комплекс далее активирует FADD/RIP1-зависимый NF-κB-путь и TRAF3/IKKi/TBK1-зависимые IRF3/7-пути, приводящие к продукции провоспалительных цитокинов и интерферонов первого типа. CARD – домен, рекрутирующий каспазы, HR – гептадный повтор, LRR – лейцин-богатый повтор, NBD – нуклеотид-связывающий домен, PRO – пролин-богатый участок, TM – трансмембранный домен.

состоит в том, что RIG-I узнает РНК, содержащую немодифицированную 5'-трифосфатную группу [31]. Биосинтез и процессинг пре-мРНК клеток эукариот сопровождается кеппированием 5'-конца, поэтому интактный 5'-трифосфат может служить химическим “паттерном” вирусного патогена, доступным для распознавания иммунной системой. До сих пор нет полной ясности в вопросе о существовании возможных эндогенных агонистов, способных ак-

тивировать RLR. Показано, что РНК, выделенная из инфицированных РНК-содержащим вирусом клеток, активирует RIG-I-зависимый сигнальный каскад. В качестве возможных естественных агонистов RIG-I рассматривали: полную вирусную геномную РНК, промежуточные продукты вирусной репликации, продукты вирусной транскрипции или же собственную РНК клетки-хозяина, содержащую 5'-гидроксильную и 3'-фосфатную группы, которые

образовались в результате расщепления РНКазой L [32–35]. Однако относительный вклад каждого из возможных агонистов в активацию RIG-I-каскада и индукцию интерферонов при вирусной инфекции остается предметом дальнейших исследований. Недавно на примере вирусов, содержащих РНК негативной полярности, показали, что агонисты RIG-I образуются, главным образом, в процессе репликации вирусного генома и представляют собой полную геномную вирусную РНК [36]. Негеномные вирусные транскрипты, а также короткие промежуточные продукты репликации или расщепленная собственная РНК клетки-хозяина не приводят к столь значимой активации RIG-I-каскада. Таким образом, естественным агонистом рецептора RIG-I при внутриклеточном врожденном иммунном распознавании можно считать полную геномную вирусную оцРНК, содержащую 5'-трифосфатную группу [37].

Открытым остается вопрос о возможном участии рецепторов RLR в распознавании ДНК-содержащих вирусов и внутриклеточных бактерий в недавно установленной активации RIG-I и MDA5 и индукции синтеза интерферонов в ответ на ДНК, локализованную в цитоплазме [38, 39]. Описаны новые белки AIM2 и DAI, предположительно участвующие во внутриклеточном распознавании чужеродной ДНК [39–43], но детали этого процесса пока не установлены.

### **NOD-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ (NLR), РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ RLR**

К другой группе цитоплазматических сенсоров инфекций можно отнести семейство внутриклеточных рецепторов NLR. Эти белки состоят из трех доменов: С-концевого лейцин-богатого домена, центрального NB-домена и N-концевого эффекторного домена. Рецепторы семейства NLR распознают и связывают PAMP, в первую очередь, бактериального происхождения, что приводит к активации уже упомянутой инфламмосомы – сигнального комплекса, в состав которого входят NLR, адаптерный белок ASC и прокаспаза-1. Как уже отмечалось, активация инфламмосомы приводит к процессингу некоторых важных провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 $\beta$  [10]. Однако совсем недавно установили, что при вирусной инфекции NLR взаимодействует с мультимерным митохондриальным белковым комплексом, участвующим в регуляции продукции интерферонов первого типа, а также провоспалительных цитокинов. Эта новая функция митохондрий, служащих своеобразной платформой для врожденного распознавания вирусов, обеспечивается ключевым компонентом – митохондриальным противовирусным сигнальным белком MAVS [44–47]. Как

уже упоминалось, MAVS при участии РНК-хеликазы семейства RLR действует как медиатор продукции интерферонов и в ответ на РНК-содержащие вирусы. Оказалось, что NOD2, один из наиболее хорошо изученных белков семейства NLR, способствует активации MAVS [48] (рис. 2). Помимо этого, недавно открыли еще одну регуляторную функцию, которую NOD2 выполняет при защите от вирусов. Оказалось, что взаимодействие NOD2 с РНК-связывающим белком 2'-5'-олигоденилатсинтазой второго типа (OAS2) в комплексе с дцРНК приводит к образованию олигомеров 2'-5'-аденозина и активации РНКазы L, которая и участвует в деградации как вирусной, так и клеточной РНК в инфицированной клетке [49]. При этом продукты расщепления РНКазы L действуют как агонисты рецепторов RLR, что приводит к усилению противовирусного ответа. Другие члены семейства NLR, в том числе белок NLRX1 и некоторые другие, играют роль негативных регуляторов активации MAVS белками семейства RLR [10, 11] (рис. 2). Тем не менее, относить NLR к истинным PRR пока преждевременно, так как до сих пор не получены исчерпывающие доказательства прямого взаимодействия NOD2 или других представителей этого семейства с вирусной РНК без участия таких РНК-связывающих белков, как RIG-I или OAS2.

### **ИНДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ**

Итак, первая линия противовирусной защиты включает в себя активацию рецепторов врожденного иммунного распознавания и запуск внутриклеточных сигнальных каскадов, приводящих к индукции ключевых медиаторов ответа на вирусные инфекции, таких как интерфероны первого типа (интерфероны  $\alpha$  и  $\beta$ ), а также родственного им интерферона третьего типа (интерферон  $\lambda$ ) [50]. Интерфероны первого и третьего типа активируют значительно перекрывающиеся друг с другом программы транскрипции (>300 генов), реализующие самые различные противовирусные, антипролиферативные и иммуномодулирующие эффекты. Среди них следует упомянуть несколько наиболее изученных интерферон-зависимых генов, белковые продукты которых играют центральную роль в противовирусном ответе (протеинкиназа R (PKR), 2'-5'-олигоденилатсинтаза OAS2 и динамин-подобные GTPазы семейства Mx). Протеинкиназа R активируется в результате связывания с вирусной дцРНК, после чего фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF2 $\alpha$ , блокируя тем самым белковый синтез и образование новых вирусных частиц в зараженной клетке. Упомянутая выше OAS2 после связывания с дцРНК активирует латентную форму РНКазы L,

расщепляющую вирусную РНК с образованием 5'-гидроксил- и 3'-фосфат-содержащих фрагментов, которые далее могут опознаваться РНК-хеликазой RIG-1. Мх-ГТРАЗы интерферируют с внутриклеточным транспортом вирусных частиц, тем самым блокируя ранние стадии репликации вируса. Детальное рассмотрение противовирусного действия интерферонов выходит за рамки нашего обзора, однако этой проблеме посвящены многие обзорные работы [51–53].

Помимо индукции интерферонов, активация PRR приводит к синтезу провоспалительных цитокинов, хемокинов (хемотактических цитокинов), IL-12 и костимуляторных молекул, которые обеспечивают пролиферацию и дифференцировку Т-клеток [54]. Интерфероны первого типа играют важную роль в противовирусном ответе, так как регулируют транскрипцию интерферон-зависимых генов, влияющих на синтез белка, рост клеток и апоптоз. Помимо этого, они стимулируют созревание дендритных клеток и дифференцировку цитотоксических Т-клеток, обеспечивая своевременную индукцию адаптивного иммунитета в ответ на врожденное иммунное распознавание.

### ДРУГИЕ МЕХАНИЗМЫ ВРОЖДЕННОЙ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ЗАЩИТЫ

Еще один важный компонент врожденного иммунитета при защите от вирусных инфекций – NK-клетки, активация которых происходит при участии интерферонов первого типа, продуцируемых преимущественно дендритными клетками, а также провоспалительных цитокинов, таких как IL-15, IL-12 и IL-18. Наиболее значимую роль NK-клетки играют в защите от хронических инфекций, в первую очередь, герпесвирусных, однако они принимают участие и в защите от вирусов гепатита В и С, HIV, некоторых поксвирусов, вируса гриппа А и других вирусов [55]. Врожденное иммунное распознавание NK-клетками обусловлено особым характером экспрессии высокополиморфных генов активирующих и ингибирующих рецепторов, с помощью которых можно отличить зараженную вирусом клетку от неинфицированной. Способность NK-клеток распознать “отсутствие своего” определяется функцией ингибирующих рецепторов, для которых молекулы МНС класса I на поверхности неповрежденных клеток служат своего рода “молекулярным паролем”, препятствующим активации. С другой стороны, активирующие рецепторы взаимодействуют с индуцированными стрессом клеточными лигандами, которые вырабатываются в ответ на повреждение клетки или ее заражение вирусом. Тем самым активация NK-клеток определяется балансом ингибирующих

и активирующих сигналов. Известно, что многие вирусы, попадая в клетку, стремятся подавить синтез молекул МНС класса I, чтобы остаться незамеченными для адаптивного иммунитета (об этом подробнее в следующем разделе), но именно это обстоятельство определяет чувствительность инфицированных клеток к опосредованному NK-лизису в силу утраты ингибирующих молекул МНС класса I. Стоит отметить, что высоким полиморфизмом рецепторов NK-клеток, с одной стороны, и распознаваемых ими лигандов, кодируемых высокополиморфными генами главного комплекса гистосовместимости, с другой, объясняются различия в способности разных индивидов индуцировать NK-зависимый ответ на одну и ту же инфекции [56].

Характерная особенность NK-клеток – присутствие в их цитоплазме цитотоксических гранул с высоким содержанием специальных протеаз – гранзимов, а также белка перфорины, образующего поры в клеточной мембране, что позволяет этим клеткам незамедлительно осуществлять цитотоксическую функцию [57]. В свою очередь, активированные NK-клетки секретируют интерферон  $\gamma$ , который влияет на созревание и эффекторные функции дендритных клеток, а также на макрофаги, гранулоциты и лимфоциты, участвующие в противовирусном ответе. В активированных NK-клетках синтезируются и некоторые TLR, в частности TLR3 и TLR9 [58–60]. Однако роль этих рецепторов и сигнальных каскадов, индуцируемых в NK-клетках, в противовирусном ответе до конца не установлена. Таким образом, NK-клетки – это, пожалуй, самые первые, готовые к действию эффекторные клетки иммунной системы, в основе функционирования которых лежит врожденное иммунное распознавание.

### УСКОЛЬЗАНИЕ ВИРУСОВ ОТ ИММУННОГО КОНТРОЛЯ

Вирусы выработали множественные стратегии ускользания от распознавания иммунной системой или от ее эффекторных функций. Так, геном цитомегаловируса человека кодирует несколько белков, способных подавить синтез молекул МНС класса I, что минимизирует способность зараженных клеток представлять вирусные пептиды цитотоксическим Т-лимфоцитам [61, 62]. Как уже отмечалось, следствием подавления синтеза молекул МНС класса I может стать активация NK-клеток, поэтому действие сразу нескольких уникальных белков цитомегаловируса направлено и на подавление функции NK-клеток. Так, внутриклеточными мишенями для вирусного белка UL16 служат такие белки, как MICB (МНС I-polypeptide-related sequence B), а также UL16-связывающие белки ULBP1 и ULBP2 [63].

Белки M1СВ, ULBP1 и ULBP2 являются лигандами активирующего рецептора на NK-клетках, NKG2D. А другой вирусный белок, UL142, блокирует экспрессию некоторых аллельных вариантов гена, кодирующего M1СА [64]. Кроме того, CD155 – клеточный лиганд активирующих рецепторов NK-клеток, DNAM1 и CD96, подавляется вирусным белком UL141 [65, 66]. Недавно стало ясно, что в подавлении иммунной системы могут участвовать не только вирусные белки, но и вирусные микроРНК. Так, miR-UL112 цитомегаловируса человека специфично подавляет экспрессию транскриптов M1СВ в инфицированных клетках [67].

Еще один способ, с помощью которого вирусы ускользают от клеточных врожденных противовирусных механизмов защиты, заключается в подавлении индукции интерферонов первого типа за счет ингибирования сигнальных каскадов, опосредованных RLR и TLR. Так протеаза NS3/4A вируса гепатита С подавляет продукцию интерферонов первого типа в ответ на синтез дцРНК [68–71]. С другой стороны, эта же протеаза отщепляет гидрофобный С-концевой участок MAVS, что приводит к перемещению этого белка с мембраны митохондрии, препятствует передаче сигнала от RLR и, как следствие, подавляет активацию NF-κВ и IRF3 [47]. Помимо этого, NS3/4A участвует в протеолитическом расщеплении TRIF, важного адаптера сигнальных каскадов активации противовирусного ответа [72, 73]. Вирус осповакцины кодирует белок A46R с TIR-доменом, который служит своего рода “ловушкой” для TIR-домен-содержащих белков, вовлеченных в каскады активации NF-κВ и IRF3 [74].

Интересно, что ускользнуть от противовирусной защиты вирусам удается не только за счет подавления индукции интерферонов первого типа, но и в результате негативной регуляции последующих стадий иммунного ответа, таких как, например, ингибирование сигнальных каскадов, опосредованных интерферонами первого типа, или же подавление функции белковых продуктов интерферон-зависимых генов [75]. Интерфероны первого типа, как секретруемые молекулы, взаимодействуют со своим рецептором, состоящим из двух субъединиц, IFNAR1 и IFNAR2, димеризация которых приводит к запуску JAK-STAT-зависимых сигнальных каскадов опосредованных белками семейства киназ Janus (JAK1 и TYK2) и факторов транскрипции семейства STAT (STAT1, STAT2 и др.). Индукция интерферонов первого типа в ответ на вирусную инфекцию и последующая активация сигнальных каскадов JAK-STAT приводит к запуску транскрипции более 100 интерферон-зависимых генов. Вирусы выработали множественные стратегии, направленные на подавление активации сигнальных каскадов JAK-STAT. В

частности, поксвирусы кодируют растворимую форму IFNAR [76], а белки V и W некоторых парамиксовирусов способны связывать и тем самым ингибировать STAT-белки [77–79]. Герпесвирусы индуцируют синтез белков семейства SOCS, естественных клеточных ингибиторов STAT-белков [80]. Интересно, что среди большого числа (более 100) интерферон-зависимых генов и их белковых продуктов мишенью для вирусных белков наиболее часто служит клеточная киназа PKR, которая при взаимодействии с дцРНК вызывает фосфорилирование фактора инициации трансляции eIF2α, что приводит к подавлению синтеза белка в инфицированной клетке [81–84]. Наконец, еще один механизм, при помощи которого вирусы ускользают от действия клеточных защитных механизмов, основан на подавлении функций провоспалительных цитокинов и хемокинов. Оказалось, что геном больших ДНК-содержащих вирусов, в частности поксвирусов, содержит гены, кодирующие растворимые рецепторы ключевых медиаторов воспаления, такие как фактор некроза опухолей (TNF) и IL-1 [85–87]. Этому вопросу посвящен отдельный миниобзор этого выпуска.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Спустя полвека с момента открытия интерферонов важные механизмы противостояния клетки-хозяина и вируса приобретают все более очерченный молекулярный характер. На протяжении эволюции многоклеточные организмы вырабатывали самые разнообразные механизмы защиты, многие из которых открыты и охарактеризованы лишь в последние годы. Наиболее сложной системой врожденного распознавания вирусов обладают млекопитающие, однако некоторые компоненты этой системы обнаружены и у более низших организмов, что свидетельствует о высокой консервативности этих сигнальных путей в эволюции иммунной системы. Характерная особенность PRR, участвующих в распознавании вирусов, состоит в их способности при взаимодействии с вирусной РНК или ДНК индуцировать внутриклеточный сигнальный каскад, вызывающий продукцию интерферонов первого типа. Эндосомные рецепторы семейства TLR при участии адаптерных молекул MyD88 (TLR7/9) и TRIF (TLR3) активируют факторы транскрипции IRF7 и IRF3, соответственно, в то время как сенсоры вирусной РНК в цитозоле (RIG-I и MDA5) активируют IRF3/7 при участии митохондриального белка MAVS. В то время как активация рецепторов семейства RLR в основном происходит в зараженных вирусом клетках (что объясняет синтез этих внутриклеточных сенсоров инфекции во всех клетках),

распознавание TLR обусловлено преимущественной выработкой этих рецепторов специализированными клетками иммунной системы, в первую очередь, макрофагами и дендритными клетками. Очевидно, что хотя и в том, и в другом случае доминирующим сигналом является продукция интерферонов первого типа, биологическая значимость такой дифференциальной локализации вирусных сенсоров состоит в индукции своевременного противовирусного ответа как в самих инфицированных клетках, так и в клетках, экспонированных продуктам вирусной инфекции для последующей кросс-презентации и индукции адаптивного иммунитета. Помимо индукции интерферонов первого типа, PRR активируют синтез провоспалительных цитокинов, которые обеспечивают созревание и функционирование других клеток иммунной системы во время иммунного ответа. Почти все клетки организма способны в той или иной степени отразить вирусную атаку за счет продукции интерферонов первого типа и провоспалительных цитокинов, однако системная продукция интерферонов первого типа обеспечивается специализированными клетками врожденной иммунной системы — плазмацитоидными дендритными клетками. Наконец, помимо давно известных прямых противовирусных свойств, интерфероны, индуцированные в ходе врожденного иммунного распознавания, выполняют и важную регуляторную роль в последующей индукции адаптивного иммунного ответа. Тем не менее, на сегодняшний момент картина врожденного иммунного распознавания вирусов весьма далека от исчерпывающей. Дальнейшие исследования должны устранить многочисленные “белые пятна” в сигнальных каскадах и в роли тех или иных путей в защите против различных вирусов *in vivo*, что, в конечном счете, должно открыть путь к разработке новых лекарственных препаратов и к фундаментальному пониманию эволюции и взаимодействия вирусов и иммунной системы многоклеточных организмов-хозяев.

Работа коллектива авторов осуществляется при поддержке программы Президента Российской академии наук “Молекулярная и клеточная биология”, Российского фонда фундаментальных исследований (10-04-01470-а и 09-04-12185-офи\_м), гранта Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (Соглашение № 02.120.11.8796-НШ от 28.06.2010), программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (Договор № 16.740.11.0005 от 01.09.2010), а также Европейской федерации иммунологических обществ (EFIS IL Fellowship, М.С. Друцкая).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hoffmann J.A. 2003. The immune response of *Drosophila*. *Nature*. **426**, 33–38.
- Caplan J., Padmanabhan M., Dinesh-Kumar S.P. 2008. Plant NB-LRR immune receptors: from recognition to transcriptional reprogramming. *Cell Host Microbe*. **3**, 126–135.
- Deddouche S., Matt N., Budd A., Mueller S., Kemp C., Galiana-Arnoux D., Dostert C., Antoniewski C., Hoffmann J.A., Imler J.L. 2008. The DExD/H-box helicase Dicer-2 mediates the induction of antiviral activity in *Drosophila*. *Nat. Immunol.* **9**, 1425–1432.
- Aliyari R., Ding S.W. 2009. RNA-based viral immunity initiated by the Dicer family of host immune receptors. *Immunol. Rev.* **227**, 176–188.
- Saleh M.C., Tassetto M., van Rij R.P., Goic B., Gausson V., Berry B., Jacquier C., Antoniewski C., Andino R. 2009. Antiviral immunity in *Drosophila* requires systemic RNA interference spread. *Nature*. **458**, 346–350.
- Pancer Z., Amemiya C.T., Ehrhardt G.R., Ceitlin J., Gartland G.L., Cooper M.D. 2004. Somatic diversification of variable lymphocyte receptors in the agnathan sea lamprey. *Nature*. **430**, 174–180.
- Kawai T., Akira S. 2010. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat. Immunol.* **11**, 373–384.
- Iwasaki A., Medzhitov R. 2010. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*. **327**, 291–295.
- Kawai T., Akira S. 2006. Innate immune recognition of viral infection. *Nat. Immunol.* **7**, 131–137.
- Ting J.P., Duncan J.A., Lei Y. 2010. How the noninflammatory NLRs function in the innate immune system. *Science*. **327**, 286–290.
- Moore C.B., Bergstralh D.T., Duncan J.A., Lei Y., Morrison T.E., Zimmermann A.G., Accavitti-Loper M.A., Madden V.J., Sun L., Ye Z., Lich J.D., Heise M.T., Chen Z., Ting J. P. 2008. NLRX1 is a regulator of mitochondrial antiviral immunity. *Nature*. **451**, 573–577.
- Ewald S.E., Lee B.L., Lau L., Wickliffe K.E., Shi G.P., Chapman H.A., Barton G.M. 2008. The ectodomain of Toll-like receptor 9 is cleaved to generate a functional receptor. *Nature*. **456**, 658–662.
- Heil F., Hemmi H., Hochrein H., Ampenberger F., Kirschning C., Akira S., Lipford G., Wagner H., Bauer S. 2004. Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science*. **303**, 1526–1529.
- Yamamoto M., Sato S., Mori K., Hoshino K., Takeuchi O., Takeda K., Akira S. 2002. Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor signaling. *J. Immunol.* **169**, 6668–6672.
- Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K., Akazawa T., Seya T. 2003. TICAM-1, an adaptor molecule that participates in Toll-like receptor 3-mediated interferon-beta induction. *Nat. Immunol.* **4**, 161–167.
- Yamamoto M., Sato S., Hemmi H., Hoshino K., Kai-sho T., Sanjo H., Takeuchi O., Sugiyama M., Okabe M., Takeda K., Akira S. 2003. Role of adaptor TRIF in the

- MyD88-independent toll-like receptor signaling pathway. *Science*. **301**, 640–643.
17. Sharma S., tenOever B.R., Grandvaux N., Zhou G.P., Lin R., Hiscott J. 2003. Triggering the interferon antiviral response through an IKK-related pathway. *Science*. **300**, 1148–1151.
  18. Fitzgerald K.A., McWhirter S.M., Faia K.L., Rowe D.C., Latz E., Golenbock D.T., Coyle A.J., Liao S.M., Maniatis T. 2003. IKKepsilon and TBK1 are essential components of the IRF3 signaling pathway. *Nat. Immunol.* **4**, 491–496.
  19. Hemmi H., Kaisho T., Takeda K., Akira S. 2003. The roles of Toll-like receptor 9, MyD88, and DNA-dependent protein kinase catalytic subunit in the effects of two distinct CpG DNAs on dendritic cell subsets. *J. Immunol.* **170**, 3059–3064.
  20. Hoshino K., Kaisho T., Iwabe T., Takeuchi O., Akira S. 2002. Differential involvement of IFN-beta in Toll-like receptor-stimulated dendritic cell activation. *Int. Immunol.* **14**, 1225–1231.
  21. Uematsu S., Sato S., Yamamoto M., Hirotani T., Kato H., Takeshita F., Matsuda M., Coban C., Ishii K.J., Kawai T., Takeuchi O., Akira S. 2005. Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR)7- and TLR9-mediated interferon- $\alpha$  induction. *J. Exp. Med.* **201**, 915–923.
  22. Yoneyama M., Kikuchi M., Natsukawa T., Shinobu N., Imaizumi T., Miyagishi M., Taira K., Akira S., Fujita T. 2004. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. *Nat. Immunol.* **5**, 730–737.
  23. Andrejeva J., Childs K.S., Young D.F., Carlos T.S., Stock N., Goodbourn S., Randall R.E. 2004. The V proteins of paramyxoviruses bind the IFN-inducible RNA helicase, mda-5, and inhibit its activation of the IFN-beta promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **101**, 17264–17269.
  24. Hemmi H., Takeuchi O., Sato S., Yamamoto M., Kaisho T., Sanjo H., Kawai T., Hoshino K., Takeda K., Akira S. 2004. The roles of two I $\kappa$ B kinase-related kinases in lipopolysaccharide and double stranded RNA signaling and viral infection. *J. Exp. Med.* **199**, 1641–1650.
  25. Perry A.K., Chow E.K., Goodnough J.B., Yeh W.C., Cheng G. 2004. Differential requirement for TANK-binding kinase-1 in type I interferon responses to toll-like receptor activation and viral infection. *J. Exp. Med.* **199**, 1651–1658.
  26. Pichlmair A., Reis e Sousa C. 2007. Innate recognition of viruses. *Immunity*. **27**, 370–383.
  27. Poeck H., Bscheider M., Gross O., Finger K., Roth S., Rebsamen M., Hanneschlager N., Schlee M., Rothenfusser S., Barchet W., Kato H., Akira S., Inoue S., Endres S., Peschel C., Hartmann G., Hornung V., Ruland J. 2010. Recognition of RNA virus by RIG-I results in activation of CARD9 and inflammasome signaling for interleukin 1 beta production. *Nat. Immunol.* **11**, 63–69.
  28. Kato H., Takeuchi O., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Matsui K., Uematsu S., Jung A., Kawai T., Ishii K.J., Yamaguchi O., Otsu K., Tsujimura T., Koh C.S., Reis e Sousa C., Matsuura Y., Fujita T., Akira S. 2006. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature*. **441**, 101–105.
  29. Loo Y.M., Fornek J., Crochet N., Bajwa G., Perwitasari O., Martinez-Sobrido L., Akira S., Gill M.A., Garcia-Sastre A., Katze M.G., Gale M., Jr. 2008. Distinct RIG-I and MDA5 signaling by RNA viruses in innate immunity. *J. Virol.* **82**, 335–345.
  30. Satoh T., Kato H., Kumagai Y., Yoneyama M., Sato S., Matsushita K., Tsujimura T., Fujita T., Akira S., Takeuchi O. 2010. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**, 1512–1517.
  31. Hornung V., Ellegast J., Kim S., Brzozka K., Jung A., Kato H., Poeck H., Akira S., Conzelmann K.K., Schlee M., Endres S., Hartmann G. 2006. 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science*. **314**, 994–997.
  32. Pichlmair A., Schulz O., Tan C.P., Rehwinkel J., Kato H., Takeuchi O., Akira S., Way M., Schiavo G., Reis e Sousa C. 2009. Activation of MDA5 requires higher-order RNA structures generated during virus infection. *J. Virol.* **83**, 10761–10769.
  33. Takahashi K., Yoneyama M., Nishihori T., Hirai R., Kumeta H., Narita R., Gale M., Jr., Inagaki F., Fujita T. 2008. Nonsel self RNA-sensing mechanism of RIG-I helicase and activation of antiviral immune responses. *Mol. Cell*. **29**, 428–440.
  34. Kato H., Takeuchi O., Mikamo-Satoh E., Hirai R., Kawai T., Matsushita K., Hiiragi A., Dermody T.S., Fujita T., Akira S. 2008. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J. Exp. Med.* **205**, 1601–1610.
  35. Malathi K., Dong B., Gale M., Jr., Silverman R.H. 2007. Small self-RNA generated by RNase L amplifies antiviral innate immunity. *Nature*. **448**, 816–819.
  36. Rehwinkel J., Tan C.P., Goubau D., Schulz O., Pichlmair A., Bier K., Robb N., Vreede F., Barclay W., Fodor E., Reis e Sousa C. 2010. RIG-I detects viral genomic RNA during negative-strand RNA virus infection. *Cell*. **140**, 397–408.
  37. Rehwinkel J., Reis e Sousa C. 2010. RIGorous detection: exposing virus through RNA sensing. *Science*. **327**, 284–286.
  38. Chiu Y.H., Macmillan J.B., Chen Z.J. 2009. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway. *Cell*. **138**, 576–591.
  39. Ablasser A., Bauernfeind F., Hartmann G., Latz E., Fitzgerald K.A., Hornung V. 2009. RIG-I-dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate. *Nat. Immunol.* **10**, 1065–1072.
  40. Burckstummer T., Baumann C., Bluml S., Dixit E., Durnberger G., Jahn H., Planyavsky M., Bilban M., Colinge J., Bennett K.L., Superti-Furga G. 2009. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. *Nat. Immunol.* **10**, 266–272.
  41. Fernandes-Alnemri T., Yu J.W., Datta P., Wu J., Alnemri E.S. 2009. AIM2 activates the inflammasome

- and cell death in response to cytoplasmic DNA. *Nature*. **458**, 509–513.
42. Roberts T.L., Idris A., Dunn J.A., Kelly G.M., Burnton C.M., Hodgson S., Hardy L.L., Garceau V., Sweet M.J., Ross I.L., Hume D.A., Stacey K.J. 2009. HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science*. **323**, 1057–1060.
  43. Takaoka A., Wang Z., Choi M.K., Yanai H., Negishi H., Ban T., Lu Y., Miyagishi M., Kodama T., Honda K., Ohba Y., Taniguchi T. 2007. DAI (DLM-1/ZBP1) is a cytosolic DNA sensor and an activator of innate immune response. *Nature*. **448**, 501–505.
  44. Xu L.G., Wang Y.Y., Han K.J., Li L.Y., Zhai Z., Shu H.B. 2005. VISA is an adaptor protein required for virus-triggered IFN- $\beta$  signaling. *Mol. Cell*. **19**, 727–740.
  45. Seth R.B., Sun L., Ea C.K., Chen Z.J. 2005. Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- $\kappa$ B and IRF 3. *Cell*. **122**, 669–682.
  46. Kawai T., Takahashi K., Sato S., Coban C., Kumar H., Kato H., Ishii K.J., Takeuchi O., Akira S. 2005. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat. Immunol.* **6**, 981–988.
  47. Meylan E., Curran J., Hofmann K., Moradpour D., Binder M., Bartenschlager R., Tschopp J. 2005. Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature*. **437**, 1167–1172.
  48. Sabbah A., Chang T.H., Harnack R., Frohlich V., Tomimaga K., Dube P.H., Xiang Y., Bose S. 2009. Activation of innate immune antiviral responses by Nod2. *Nat. Immunol.* **10**, 1073–1080.
  49. Dugan J.W., Albor A., David L., Fowlkes J., Blackledge M.T., Martin T.M., Planck S.R., Rosenzweig H.L., Rosenbaum J.T., Davey M. P. 2009. Nucleotide oligomerization domain-2 interacts with 2'-5'-oligoadenylate synthetase type 2 and enhances RNase-L function in THP-1 cells. *Mol. Immunol.* **47**, 560–566.
  50. Onoguchi K., Yoneyama M., Takemura A., Akira S., Taniguchi T., Namiki H., Fujita T. 2007. Viral infections activate types I and III interferon genes through a common mechanism. *J. Biol. Chem.* **282**, 7576–7581.
  51. Haller O., Kochs G., Weber F. 2007. Interferon, Mx, and viral countermeasures. *Cytokine Growth Factor Rev.* **18**, 425–433.
  52. Malmgaard L. 2004. Induction and regulation of IFNs during viral infections. *J. Interferon Cytokine Res.* **24**, 439–454.
  53. Samuel C.E. 2001. Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 778–809.
  54. Honda K., Takaoka A., Taniguchi T. 2006. Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity*. **25**, 349–360.
  55. Lanier L.L. 2008. Evolutionary struggles between NK cells and viruses. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 259–268.
  56. Ahlenstiel G., Martin M.P., Gao X., Carrington M., Rehermann B. 2008. Distinct KIR/HLA compound genotypes affect the kinetics of human antiviral natural killer cell responses. *J. Clin. Invest.* **118**, 1017–1026.
  57. Fehniger T.A., Cai S.F., Cao X., Bredemeyer A.J., Presti R.M., French A.R., Ley T.J. 2007. Acquisition of murine NK cell cytotoxicity requires the translation of a pre-existing pool of granzyme B and perforin mRNAs. *Immunity*. **26**, 798–811.
  58. Sivori S. 2004. CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **101**, 10116–10121.
  59. Schmidt K.N. 2004. APC-independent activation of NK cells by the Toll-like receptor 3 agonist double-stranded RNA. *J. Immunol.* **172**, 138–143.
  60. Zhang S.Y. 2007. TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis. *Science*. **317**, 1522–1527.
  61. Hansen S.G., Powers C.J., Richards R., Ventura A.B., Ford J.C., Siess D., Axthelm M.K., Nelson J.A., Jarvis M.A., Picker L.J., Fruh K. 2010. Evasion of CD8+ T cells is critical for superinfection by cytomegalovirus. *Science*. **328**, 102–106.
  62. Pinto A.K., Hill A.B. 2005. Viral interference with antigen presentation to CD8+ T cells: lessons from cytomegalovirus. *Viral Immunol.* **18**, 434–444.
  63. Muller S., Zocher G., Steinle A., Stehle T. 2010. Structure of the HCMV UL16-MICB complex elucidates select binding of a viral immunoevasin to diverse NKG2D ligands. *PLoS Pathog.* **6**, e1000723.
  64. Ashiru O., Bennett N.J., Boyle L.H., Thomas M., Trowsdale J., Wills M.R. 2009. NKG2D ligand MICA is retained in the cis-Golgi apparatus by human cytomegalovirus protein UL142. *J. Virol.* **83**, 12345–12354.
  65. Tomasec P., Wang E.C., Davison A.J., Vojtesek B., Armstrong M., Griffin C., McSharry B.P., Morris R.J., Llewellyn-Lacey S., Rickards C., Nomoto A., Sinzger C., Wilkinson G.W. 2005. Downregulation of natural killer cell-activating ligand CD155 by human cytomegalovirus UL141. *Nat. Immunol.* **6**, 181–188.
  66. Prod'homme V., Sugrue D.M., Stanton R.J., Nomoto A., Davies J., Rickards C.R., Cochrane D., Moore M., Wilkinson G.W., Tomasec P. 2010. Human cytomegalovirus UL141 promotes efficient downregulation of the natural killer cell activating ligand CD112. *J. Gen. Virol.* **91**, 2034–2039.
  67. Stern-Ginossar N., Elefant N., Zimmermann A., Wolf D.G., Saleh N., Biton M., Horwitz E., Prokocimer Z., Prichard M., Hahn G., Goldman-Wohl D., Greenfield C., Yagel S., Hengel H., Altuvia Y., Margalit H., Mandelboim O. 2007. Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science*. **317**, 376–381.
  68. Cheng G., Zhong J., Chisari F.V. 2006. Inhibition of dsRNA-induced signaling in hepatitis C virus-infected cells by NS3 protease-dependent and -independent mechanisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **103**, 8499–8504.
  69. Sumpter R., Jr., Loo Y.M., Foy E., Li K., Yoneyama M., Fujita T., Lemon S.M., Gale M., Jr. 2005. Regulating intracellular antiviral defense and permissiveness to hepatitis C virus RNA replication through a cellular RNA helicase, RIG-I. *J. Virol.* **79**, 2689–2699.
  70. Foy E., Li K., Sumpter R., Jr., Loo Y.M., Johnson C.L., Wang C., Fish P.M., Yoneyama M., Fujita T., Lemon S.M.,

- Gale M., Jr. 2005. Control of antiviral defenses through hepatitis C virus disruption of retinoic acid-inducible gene-I signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **102**, 2986–2991.
71. Arnaud N., Dabo S., Maillard P., Budkowska A., Kalliampakou K.I., Mavromara P., Garcin D., Hugon J., Gagnon A., Akazawa D., Wakita T., Meurs E.F. 2010. Hepatitis C virus controls interferon production through PKR activation. *PLoS One*. **5**, e10575.
72. Ferreon J.C., Ferreon A.C., Li K., Lemon S.M. 2005. Molecular determinants of TRIF proteolysis mediated by the hepatitis C virus NS3/4A protease. *J. Biol. Chem.* **280**, 20483–20492.
73. Li K., Foy E., Ferreon J.C., Nakamura M., Ferreon A.C., Ikeda M., Ray S.C., Gale M., Jr., Lemon S.M. 2005. Immune evasion by hepatitis C virus NS3/4A protease-mediated cleavage of the Toll-like receptor 3 adaptor protein TRIF. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **102**, 2992–2997.
74. Stack J., Haga I.R., Schroder M., Bartlett N.W., Maloney G., Reading P.C., Fitzgerald K.A., Smith G.L., Bowie A.G. 2005. Vaccinia virus protein A46R targets multiple Toll-like-interleukin-1 receptor adaptors and contributes to virulence. *J. Exp. Med.* **201**, 1007–1018.
75. Garcia-Sastre A., Biron C.A. 2006. Type I interferons and the virus-host relationship: a lesson in detente. *Science*. **312**, 879–882.
76. Symons J.A., Alcamí A., Smith G.L. 1995. Vaccinia virus encodes a soluble type I interferon receptor of novel structure and broad species specificity. *Cell*. **81**, 551–560.
77. Nishio M., Tsurudome M., Ito M., Garcin D., Kolakofsky D., Ito Y. 2005. Identification of paramyxovirus V protein residues essential for STAT protein degradation and promotion of virus replication. *J. Virol.* **79**, 8591–8601.
78. Rodriguez J.J., Cruz C.D., Horvath C.M. 2004. Identification of the nuclear export signal and STAT-binding domains of the Nipah virus V protein reveals mechanisms underlying interferon evasion. *J. Virol.* **78**, 5358–5367.
79. Shaw M.L., Garcia-Sastre A., Palese P., Basler C.F. 2004. Nipah virus V and W proteins have a common STAT1-binding domain yet inhibit STAT1 activation from the cytoplasmic and nuclear compartments, respectively. *J. Virol.* **78**, 5633–5641.
80. Frey K.G., Ahmed C.M., Dabelic R., Jager L.D., Noon-Song E.N., Haider S.M., Johnson H.M., Bigley N.J. 2009. HSV-1-induced SOCS-1 expression in keratinocytes: use of a SOCS-1 antagonist to block a novel mechanism of viral immune evasion. *J. Immunol.* **183**, 1253–1262.
81. Gainey M.D., Dillon P.J., Clark K.M., Manuse M.J., Parks G.D. 2008. Paramyxovirus-induced shutoff of host and viral protein synthesis: role of the P and V proteins in limiting PKR activation. *J. Virol.* **82**, 828–839.
82. Toroney R., Nallagatla S.R., Boyer J.A., Cameron C.E., Bevilacqua P.C. 2010. Regulation of PKR by HCV IRES RNA: importance of domain II and NS5A. *J. Mol. Biol.* **400**, 393–412.
83. Schumann M., Gantke T., Muhlberger E. 2009. Ebola virus VP35 antagonizes PKR activity through its C-terminal interferon inhibitory domain. *J. Virol.* **83**, 8993–8997.
84. Myskiw C., Arsenio J., van Bruggen R., Deschambault Y., Cao J. 2009. Vaccinia virus E3 suppresses expression of diverse cytokines through inhibition of the PKR, NF-kappaB, and IRF3 pathways. *J. Virol.* **83**, 6757–6768.
85. Shchelkunov S.N., Blinov V.M., Sandakhchiev L.S. 1993. Genes of variola and vaccinia viruses necessary to overcome the host protective mechanisms. *FEBS Lett.* **319**, 80–83.
86. Щелкунов С.Н., Ресенчук С.М., Тотменин А.В., Колыхалов А.А., Фролов И.В., Дрыга С.М., Волчков В.В., Чижигов В.Е., Гуторов В.В., Блинов В.М., Сандахчиев Л.С. 1994. Изучение структурно-функциональной организации генома вируса натуральной оспы. III. Секвенирование и анализ последовательности нуклеотидов консервативного района HindIII-F, -N-, и -A-фрагментов генома штамма Индия-1967. *Молекуляр. биология*. **28**, 392–406.
87. Щелкунов С.Н., Блинов В.М., Ресенчук С.М., Гуторов В.В., Сафронов П.Ф., Курманов Р.К., Тотменин А.В., Чижигов В.Е., Маренникова С.С., Сандахчиев Л.С. 1993. Изучение структурно-функциональной организации генома вируса натуральной оспы. II. Анализ последовательности нуклеотидов района HindIII (C,E,R,Q,K and H)-фрагментов ДНК штамма Индия-1967. *Молекуляр. биология*. **27**, 1287–1303.