



· 综述 ·

## 鱼类 IRF 家族在干扰素抗病毒免疫反应中的调控功能

赵祥<sup>1,2</sup>, 张义兵<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态和生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 中国科学院种子创新研究院, 湖北 武汉 430072;

4. 中国科学院水生生物研究所, 农业农村部淡水养殖病害防治重点实验室, 湖北 武汉 430072)

**摘要:** 干扰素调节因子 (IRF) 家族成员是一类重要的转录因子, 在机体细胞感染病毒时单独或共同调控干扰素基因 (*IFN*) 的表达。IRF 家族蛋白结构非常保守。其中 N 端 DBD 结构域赋予了 IRF 蛋白结合 *IFN* 启动子的功能, 而 C 端 IAD 主要介导蛋白互作, 因而不同 IRF 成员可能在不同的信号通路中发挥作用。哺乳动物 IRF 家族有 9 个成员, IRF1~9。鱼类 IRF 家族有 11 个成员, 除了 IRF1~9 外, 还包括硬骨鱼类特有的 IRF11, 以及在鸟类基因组中也存在的 IRF10。哺乳类研究表明, IRF1/3/5/7/9 在病毒感染的细胞中正调控 *IFN* 基因的表达, 而 IRF2 则负调控 *IFN* 的表达。近十多年来, 鱼类 IRF 家族的功能研究取得了重要进展, 相关研究结论基本来自于体外的实验数据。本文综述了鱼类 IRF 家族成员的表达、亚细胞定位以及调控 *IFN* 抗病毒免疫反应的分子机制。

**关键词:** 干扰素调节因子 (IRF); 表达特性; 亚细胞定位; 转录调控; *IFN* 抗病毒反应

中图分类号: S 942

文献标志码: A

### 1 引言

干扰素 (interferon, *IFN*) 介导的抗病毒感染免疫不仅启动迅速, 而且对触发机体随后的适应性抗病毒免疫必不可少<sup>[1-2]</sup>。病毒的结构相对简单<sup>[3]</sup>。在被病毒感染的细胞中, 病毒的基因组核酸以及复制时产生的病毒核酸作为病毒感染的信号<sup>[4]</sup>, 被称为病原分子相关模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 能被机体细胞表达的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 快速识别, 从而激活机体细胞的 *IFN* 抗病毒反应<sup>[5-9]</sup>。细胞识别病毒核酸的模

式识别受体包括 DNA 识别受体, 如 cGAS (cyclic GMP-AMP synthase)、DDX41 (DEAD-box helicase 41) 和 IFI16 (IFN-g-inducible protein 16) 等, 也包括 RNA 识别受体, 如 TLR3/7/8/9 (toll-like receptor 3/7/8/9) 和 RLR (retinoic acid-inducible gene I-like receptors)<sup>[10]</sup>。不管是哪种模式识别受体触发的信号级联反应, 最后都必须通过激活一类被称为 *IFN* 调节因子 (interferon regulatory factor, IRF) 的转录因子, 启动 *IFN* 的转录表达<sup>[1-2, 7, 11-12]</sup>。*IFN* 再通过保守的 JAK-STAT 信号通路诱导抗病毒基因的表达, 清除细胞中的病毒 (图 1)。

收稿日期: 2021-07-05 修回日期: 2021-08-22

资助项目: 中国科学院战略先导科技专项 (XDA24010308); 国家自然科学基金 (31772875, 31972826)

第一作者: 赵祥 (照片), 从事鱼类抗病毒感染免疫学研究, E-mail: 335923433@qq.com

通信作者: 张义兵, E-mail: ybzhang@ihb.ac.cn



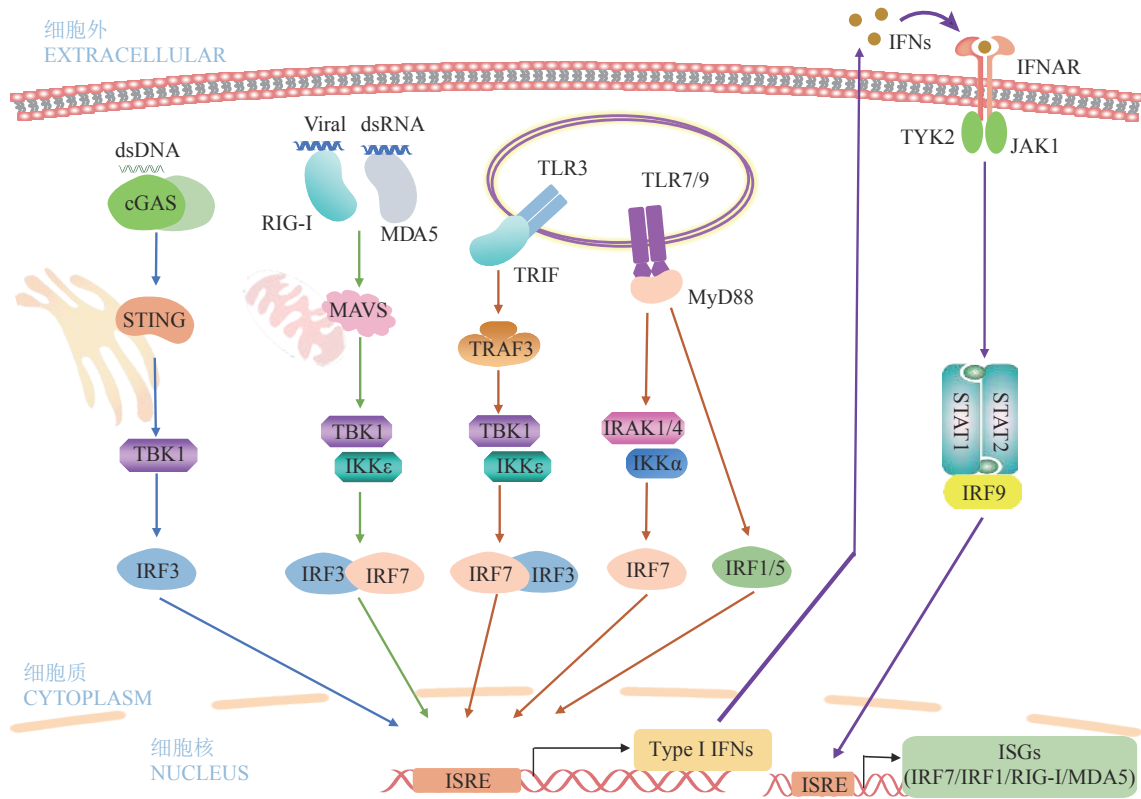


图 1 IRF 家族成员在不同信号通路中调控 IFN 反应

在哺乳类中, 胞浆中的模式识别受体 cGAS 和 RLR、以及内吞体膜上的 TLR3/7/9 识别病毒核酸后被激活, 触发下游的级联反应信号, 最后激活 IFN 家族成员如 IRF1/3/5/7/9 等, 进而诱导 I 型 IFN 和下游 ISG 基因的表达

Fig. 1 Regulation of IRF family members on IFN response mediated by different signaling pathways

In mammals, cytosolic pattern recognition receptors (PRRs), RLR and cGAS, and endosome membrane-expressed TLR3/7/9, recognize viral-derived nucleic acids, trigger downstream signaling cascade reaction, and finally activate the related members of IRF family (IRF1/3/5/7/9), which could further induce the expression of type I IFN and downstream ISG genes

## 2 IRF 家族简介

IRF 得名源于鉴定的第一个家族成员——人 (*Homo sapiens*) IRF1 具有启动 *IFN* 基因表达的功能<sup>[13]</sup>。随后研究又发现了 8 个与 IRF1 同源的基因, 表明它们都起源于一个共同的祖先基因, 组成了一个作用机制相似的转录因子家族。因此, 哺乳类 IRF 家族有 9 个成员: IRF1、IRF2、IRF3、IRF4 (也称为 PIP、LSIRF 或 ICSAT)、IRF5、IRF6、IRF7、IRF8 (也称为 ICSBP) 和 IRF9 (也称为 ISGF3 $\gamma$ )<sup>[11, 14]</sup>。在鱼类基因组中, 除了有 IRF1~9 的直向同源 (orthologous) 基因外, 还有 IRF10 和 IRF11。其中 IRF11 为硬骨鱼类特有, 而 IRF10 最先从鸟类中鉴定, 后来发现仅存在于鱼类和鸟类中<sup>[15-17]</sup>。

IRF 家族蛋白由 2 个功能结构域组成: N 端的 DNA 结合结构域 (DNA-binding domain, DBD) 和 C 端的 IRF 相关结构域 (IRF-associated domain,

IAD)。DBD 结构域非常保守, 约由 115 个氨基酸组成, 形成螺旋-转角-螺旋 (helix-turn-helix) 的二级结构。这种结构保守性直接赋予了 IRF 蛋白 DBD 与包含“GAAA”的 DNA 序列发生结合的特性, 该序列被称为 IRF 结合元件 (IRF-binding element, IRF-E) 或 IFN 刺激反应元件 (IFN-stimulated response element, ISRE), 特异出现在 *IFN* 基因和 IFN 刺激基因 (IFN-stimulated gene, ISG) 的启动子中<sup>[14, 18-19]</sup>。C 端的 IAD 结构域保守性较差, 因而使 IRF 表现出广泛的功能多样性, 赋予 IRF 家族成员在不同类型的细胞中、或不同的病毒感染条件下、对不同 *IFN* 基因或 ISG 表现出差异转录活性的能力<sup>[14]</sup>。IAD 可介导与自身、或其他 IRF 家族成员、或其他转录因子家族成员之间的互作, 通过相互协同或相互拮抗, 在特定的细胞类型中调节 *IFN* 基因的适时、适度表达<sup>[18, 20]</sup>。

### 3 鱼类 IRF 成员调控 IFN 反应的功能

#### 3.1 IRF1/IRF11

IRF1 在鉴定之初被认为是调控 IFN 表达的重要转录因子<sup>[13]</sup>。但随后的基因敲除研究发现, IRF1 缺失的小鼠 (*Mus musculus*) 并没有如预期那样对多种病毒敏感性增强, 而且与野生型小鼠相比, 体内的 IFN 表达几乎没受到影响<sup>[21-22]</sup>。随着 IRF3/7 被确立为绝大多数细胞类型中调控 IFN 表达的主要转录因子后, IRF1 在 IFN 抗病毒免疫反应中的重要性一度受到怀疑。但后来研究表明, 某些类型的细胞, 如髓系树突状细胞 (myeloid dendritic cells, mDC) 和巨噬细胞 (macrophages) 在感染特定病毒时, 能触发细胞 TLR9-MyD88 (myeloid differentiation factor 88) 通路, 该通路需要激活 IRF1 调控 *IFN $\beta$*  的表达<sup>[23]</sup>。紧接着通过对大部分 ISG 过量表达进行抗病毒能力的比较分析时发现, 有 6 个 ISG 对所有测试病毒都具有抑制作用, IRF1 即为其中之一<sup>[24]</sup>。以上研究重新表明了 IRF1 在 IFN 抗病毒反应中不可替代的重要性。在鱼类 IRF 家族中, IRF1 最早通过同源克隆被成功鉴定, IRF11 在 2007 年全基因组解析鱼类 IRF 家族时才被发现<sup>[16]</sup>。由于 IRF11 与 IRF1 序列具有高度同源性, 它们在命名上一度出现了混淆<sup>[17, 25]</sup>。

**IRF1/IRF11 的表达** 鱼类 IRF1 和 IRF11 组成型表达在多种类型的细胞中, 能被病毒、poly(I:C) 和重组 IFN 等诱导表达<sup>[25-37]</sup>。在斑马鱼 (*Danio rerio*) 中, IRF1 和 IRF11 有相似的组织表达模式。但是, IRF1 的组成型表达水平比 IRF11 高; 在鲤春病毒血症病毒 (spring viremia of carp virus, SVCV) 感染或 poly(I:C) 处理的细胞中, IRF1 的表达倍增水平更加显著<sup>[17, 25]</sup>。哺乳类 IRF1 主要经 IFN $\gamma$  诱导表达。由于免疫细胞是分泌 IFN $\gamma$  的主要细胞类型, 因此 IRF1 主要在免疫细胞中发挥功能<sup>[23, 38-40]</sup>。鱼类有两种 IFN $\gamma$ , 都能诱导 IRF1 的表达; 但同样条件下, 诱导 IRF11 表达的能力很弱, 表明鱼类 IRF1 和 IRF11 的表达调控机制存在显著差异<sup>[41-42]</sup>。

**IRF1/IRF11 的亚细胞定位** 转录因子发挥功能的场所在细胞核。人 IRF1 组成型定位在细胞核中, 主要由一个二联体核定位信号 (bipartite nuclear localization signal, NLS) 驱动<sup>[43]</sup>。鱼类

IRF1 和 IRF11 也组成型定位在细胞核中<sup>[17, 25, 32]</sup>。缺失和突变研究发现, 驱动人 IRF1 核定位的 NLS 为紧邻 DBD 结构域 C 端的一段序列, <sup>120</sup>RKERKSKn<sup>5</sup>KSKTKRK<sup>[43]</sup>。但是, 鲫 (*Carassius auratus*) 和斑马鱼 IRF1 的 NLS、以及斑马鱼 IRF11 的 NLS, 除了包括对应于人 IRF1 的 NLS 序列外, 还包括 DBD 结构域中的 aa 73~115 区域的 2 段富含赖氨酸 (K)、精氨酸 (R) 的序列 (表 1)。以上 3 段序列共同构成一个三联体 NLS, 协同调控鱼类 IRF1 和 IRF11 蛋白完全组成型定位在细胞核中, 因为缺少一段或一个重要的 K 或 R 都会使蛋白少量滞留在细胞质中<sup>[17, 25, 32]</sup>。重要的是, 在 IRF11 核定位中发挥重要作用的氨基酸 K78 和 R82 非常保守, 存在于所有脊椎动物的 IRF 家族成员中<sup>[17]</sup>。由于这两个氨基酸也决定 IRF11 与 IFN 启动子 DNA 的结合, 因此, IRF11 的三联体 NLS 具有核定位和结合启动子的双重功能<sup>[17]</sup>。

**IRF1/IRF11 的功能** 体外实验表明, 鱼类 IRF1 和 IRF11 正调控鱼类的 IFN 抗病毒免疫反应。机理研究表明, 斑马鱼 IRF1 和 IRF11 选择性结合在 IFN 启动子的 ISRE 基序上, 起始 IFN 基因的转录<sup>[17, 25, 49]</sup>。IRF1 和 IRF11 对不同的 ISRE 基序具有结合偏好性, 且三联体 NLS 中的保守氨基酸 R82 对结合至关重要<sup>[17, 25]</sup>。体外实验还表明, 斑马鱼 IRF3 和 IRF7 可以促进 IRF1 与 *IFN $\rho$ 1* 和 *IFN $\rho$ 3* 启动子的结合, 但是发挥协同调控还是拮抗 IFN 基因的转录表达, 与 IRF 的不同组合以及 IRF 的表达量直接相关<sup>[49]</sup>。大西洋鲑 (*Salmo salar*) IRF1 和 IRF3 也发现有协同激活 IFN 启动子的功能<sup>[26]</sup>。迄今还未见 IRF11 与其他 IRF 成员互作的研究报道。

体外阻断实验表明, 斑马鱼 IRF1 的激活可能与 RLR 触发的信号通路无关<sup>[25]</sup>。虽然没有鱼类 IRF1 和 IRF11 在特定细胞类型中发挥作用的证据, 但是斑马鱼 IRF1 能与 MyD88 互作、协同激活 *IFN $\rho$ 3* 启动子, 暗示鱼类 IRF1 可能在 TLR 介导的信号通路中发挥功能<sup>[25]</sup>。在小鼠 mDC 细胞中, IFN $\gamma$  诱导的 IRF1 在 TLR9 介导的信号通路中被 MyD88 招募以调控 *IFN $\beta$*  的表达<sup>[23, 40]</sup>。在 TLR7 和 TLR2 介导的信号通路中, MyD88 也通过招募激活 IRF1 和 IRF7, 分别诱导 I 型和 III 型 IFN 的表达<sup>[39, 50-51]</sup>。哺乳类的以上相关研究为进一步解析鱼类 IRF1 和 IRF11 的在体 (*in vivo*) 生理

表 1 哺乳类和鱼类 IRF 家族成员 NLS 基序  
Tab. 1 NLS motifs in IRF members from mammals and fish

IRFs		NLS氨基酸序列 NLS amino acids sequence		备注 notes
<b>哺乳类IRF成员 mammalian IRF family members</b>				
IRF1亚家族	IRF1 subfamily	IRF1	<sup>120</sup> RKERKSK n5 KSKTKRK <sup>138</sup>	[44]
		IRF2	<sup>120</sup> KKGKKPK n5 KVKnnKQ <sup>138</sup>	[44]
IRF3亚家族	IRF3 subfamily	IRF3	<sup>77</sup> KR <sup>78</sup> 、 <sup>86</sup> RK <sup>87</sup>	[45]
		IRF7	aa (1~246)	[46]
IRF4亚家族	IRF4 subfamily	IRF4	<sup>66</sup> KGKFR n10 KTRLR <sup>85</sup>	[44]
		IRF8	<sup>66</sup> KGKFK n10 KTRLR <sup>85</sup>	[44]
		IRF9	<sup>66</sup> KGKYK n10 KTRLR <sup>85</sup>	[44]
IRF5亚家族	IRF5 subfamily	IRF5	<sup>46</sup> PRRVRLK <sup>52</sup> 、 <sup>448</sup> PREKKLI <sup>454</sup>	[44]
		IRF6	*	
<b>鱼类IRF成员 fish IRF family members</b>				
IRF1亚家族	IRF1 subfamily	IRF1	<sup>75</sup> KTWKANFR <sup>82</sup> 、 <sup>95</sup> KDKSINK <sup>101</sup> 、 <sup>117</sup> KKIKRSKSRDSRRRMK <sup>146</sup>	斑马鱼[25] 鲫[32]
		IRF2	*	
		IRF11	<sup>75</sup> KTWKANFR <sup>82</sup> 、 <sup>97</sup> RSIKKGH <sup>103</sup> 、 <sup>119</sup> RRRKAALRYSDTDSKEA <sup>133</sup>	斑马鱼[17]
IRF3亚家族	IRF3 subfamily	IRF3/IRF7	*	
		IRF4	*	
IRF4亚家族	IRF4 subfamily	IRF8	*	
		IRF9	<sup>124</sup> KIKKENGQKAVRSSRRCS <sup>142</sup> 、 <sup>66</sup> KGKLL n10 KTRLR <sup>85</sup>	鲫[47]
		IRF10	<sup>57</sup> WAVYKGGKYREGDKADPTMWKTRLRCALNK <sup>86</sup>	斜带石斑鱼[48]
IRF5亚家族	IRF5 subfamily	IRF5/IRF6	*	

注: n. 氨基酸数量; aa. 氨基酸; \*. 未见相关报道; 序列两端数字: 氨基酸起始终止位置

Notes: n. number of amino acids; aa. amino acids; \*. no related reports; numbers at both ends of a sequence. starting and terminating positions of amino acid

功能提供了研究方向。

此外, 鱼类 IRF1 和 IRF11 组成型定位在细胞核中的生理学意义也有待深入研究。最近的研究表明, 在人肝细胞系中组成型表达的 IRF1, 通过维持部分 ISG 基因 (如 *RARRES3*、*Mx1*、*ERAP2* 等) 的基础表达, 抵御多种致病性 RNA 病毒, 如甲型肝炎病毒 (hepatitis A viruses, HAV)、丙型肝炎病毒 (hepatitis C viruses, HCV)、登革热病毒 (dengue virus) 等的感染<sup>[52]</sup>。此外, 组成型表达的 IRF1 还调控 *OAS2*、*BST2* 和 *RNASEL* 等 ISG 的组成型表达, 抑制水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 在呼吸上皮细胞中的复制<sup>[53]</sup>。因此推测, 在特定类型的细胞中, IRF1 通过维

持一组特定的、已知和未知抗病毒基因的组成型表达, 发挥抵御特定病毒感染的作用<sup>[54-55]</sup>。

### 3.2 IRF3/IRF7

IRF3 和/或 IRF7 是在 TLR/RLR/cGAS 等介导的信号通路中、最终被磷酸化激活、调控 *IFN* 基因表达的主要转录因子 (图 1)。因此, IRF3 和 IRF7 是被研究的最透彻的 IRF 家族成员<sup>[56]</sup>。

IRF3/IRF7 的表达 哺乳类 IRF3 在各种组织中广泛表达, 且表达水平稳定, 不受病毒感染和 IFN 处理的影响。IRF7 主要在免疫细胞中受病毒等诱导表达。与哺乳类 IRF3 不同, 鱼类 IRF3 是一个典型的 ISG, 因为鱼类和两栖类

*IRF3* 的启动子具有 ISRE 基序, 此为 ISG 基因启动子的典型特征<sup>[57]</sup>。事实上, 鱼类 *IRF3/7* 能被病毒、poly(I:C)、脂多糖 (LPS) 等 IFN 刺激剂诱导上调表达<sup>[58-74]</sup>。

**IRF3/IRF7 的亚细胞定位** 在正常细胞中, 鱼类 *IRF3* 和 *IRF7* 表达定位在细胞质中。在病毒感染时, *IRF3* 和 *IRF7* 被磷酸化、二聚化, 然后从细胞质进入细胞核、调控 *IFN* 基因的表达<sup>[49, 57-58, 67, 75]</sup>。人 *IRF3* 经病毒激活后转移到细胞核的过程, 受一个位于 DBD 中的双联体 NLS 基序 (K77/R78 和 R86/K87) 的调控<sup>[45, 76]</sup>。功能研究表明, 该 NLS 同时具有决定 *IRF3* 的 DNA 结合与核定位的双重功能<sup>[45]</sup>。决定人 *IRF7* 受病毒激活移位到细胞核中的 NLS 位于 aa 1~246 区域<sup>[46]</sup>。目前还没有鱼类 *IRF3* 和 *IRF7* 蛋白 NLS 的研究报道 (表 1)。

**IRF3/IRF7 的功能** 鱼类 *IRF3* 和/或 *IRF7* 是在 cGAS、RLR、TLR 通路中介导 *IFN* 表达的主要转录因子<sup>[56-57, 74, 77-79]</sup>。由于鱼类 *IRF3* 是一个典型的 ISG, 所以鱼类具有一个在哺乳类中不存在的、由 *IRF3* 介导的放大 IFN 抗病毒免疫反应的正反馈通路<sup>[56-57]</sup>。在哺乳类中, 组成型表达的 *IRF3* 在病毒感染时被直接激活, 然后直接启动早期干扰素基因 *IFN $\beta$*  的表达; *IFN $\beta$*  随后再诱导包括 *IRF7* 在内的 *ISG* 基因表达 (图 1), 因此, *IRF7* 主要调控晚期干扰素基因 *IFN $\alpha$*  的表达<sup>[56]</sup>。尽管鱼类 IFN 与哺乳类 *IFN $\alpha/\beta$*  不存在“一一对应”的直向同源关系, 但在斑马鱼中, *IRF3* 主要激活 *IFN $\phi$ 1* 的转录, *IRF7* 主要调控 *IFN $\phi$ 3* 的表达, 表明鱼类和哺乳类通过趋同进化机制, 分别演化形成了一种相同的调控 *IFN* 表达的分子机制<sup>[56, 80]</sup>。

在哺乳类中, 病毒感染激活的 *IRF3* 还可以直接诱导某些 *ISG* 基因的表达。如 HCV、人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 等通过直接磷酸化激活 *IRF3*, 分别诱导 *CXCL10* 等基因的表达; 在此过程中, 细胞不需要产生 IFN, 也不需要 IFN 介导的 JAK-STAT 信号通路<sup>[81-82]</sup>。目前还没有直接证据表明, 鱼类 *IRF3/7* 能直接诱导 *ISG* 的表达。此外, 在哺乳类中还发现了一条经 RIG-I 途径激活 *IRF3*、促进细胞凋亡 (RLR-induced *IRF3*-mediated pathway of apoptosis, RIPA) 的抗病毒途径<sup>[83]</sup>。与此研究可能相关的是, 日本花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) *IRF3* 在调控 IFN 和 *ISG*

表达的同时, 发现神经坏死病毒 (red-spotted grouper nervous necrosis virus, RGNNV) 的感染能诱导 Caspase 3/9 蛋白酶的激活和宿主细胞的凋亡<sup>[72]</sup>。

### 3.3 IRF9

病毒诱导的 IFN 主要通过 JAK-STAT 信号通路诱导下游 *ISG* 的表达<sup>[56, 84]</sup>。在此过程中, STAT1、STAT2 和 *IRF9* 形成一个转录因子复合物 ISGF3 (interferon-stimulated gene factor 3, ISGF3); ISGF3 从细胞质进入细胞核, 结合 *ISG* 基因启动子的 ISRE 基序进而启动 *ISG* 的转录 (图 1)<sup>[85]</sup>。

**IRF9 的表达** 鱼类 *IRF9* 可被多种 IFN 刺激剂诱导表达<sup>[86-87]</sup>。RT-PCR 和 Western blot 分析表明, 与 I 型 IFN 相较, 鱼类 *IFN $\gamma$*  诱导 *IRF9* 表达的能力更强。斑马鱼 *IRF9* 基因的 5'-侧翼调控序列至少有 3 种重要转录因子的结合位点: ISRE、GAS (IFN gamma activation sequence) 和 GATE (IFN $\gamma$ -activated transcriptional element, GATE1/2/3, 共有 3 个位点)<sup>[88]</sup>。比较分析发现, 以上 3 个转录因子结合位点存在于脊椎动物所有 *IRF9* 基因的启动子中, 表明 *IRF9* 的诱导表达机制非常保守; 缺失突变研究发现, GAS 和 GATE3 (离转录起始位点最近的 GATE) 在 *IFN $\gamma$*  诱导斑马鱼 *IRF9* 表达时尤为重要<sup>[88]</sup>。

**IRF9 的亚细胞定位** 人 *IRF9* 组成型定位在细胞核中, 驱动核定位的二联体 NLS 序列为<sup>66</sup>KGKYKn<sup>10</sup>KTRLR, 位于 N 端 DBD 中<sup>[89]</sup>。过量表达实验表明, 鲫 *IRF9* 蛋白也组成型表达在细胞核<sup>[47]</sup>。截短实验证实, 鲫 *IRF9* 的 NLS 由两部分组成: 一部分序列为<sup>124</sup>KIKKENGQKAVRSSRRRCS<sup>142</sup>, 相应于在人 *IRF1* 中鉴定的 NLS<sup>[43]</sup>、以及鲫和斑马鱼 *IRF1* 和 *IRF11* 的 NLS3 区域<sup>[17, 25, 32]</sup>, 但是该序列并非很保守; 另一部分序列相应于人 *IRF9* 二联体 NLS 的后半部分 (aa 80~85) (表 1)。所以, 与人 *IRF9* 位于 aa 66~70 和 aa 80~85 不同, 鲫 *IRF9* 的 NLS 位于 aa 81~123 区域<sup>[47]</sup>。

**IRF9 的功能** 在培养细胞中过量表达鲫 *IRF9* 能直接激活 ISRE 启动子的活性, 也能上调细胞内源的 *Mx1*、*viperin*、*ISG56*、*PKR*、*IRF3/7* 等 *ISG* 的表达。同时过量表达 *IRF9* 和 STAT2 能协同激活 ISRE 启动子的活性, 功能性阻断 *IRF9* 则严重影响 IFN 对下游基因的诱导, 表明 *IRF9*

和STAT2在IFN激活的信号通路中发挥类似哺乳类同源基因的功能。有意思的是,鱼类IFN能够诱导自身表达,因为IFN基因的启动子上也有ISRE基序<sup>[25, 56-57, 78, 84]</sup>。在调控IFN诱导自身的转录中,IRF9结合到IFN启动子的ISRE基序上启动IFN基因的转录。因为将IFN启动子的ISRE基序突变后,IRF9对IFN启动子的激活也消失<sup>[47]</sup>。因此,鱼类IFN诱导自身的转录表达与调控ISG的表达一样,也通过JAK-STAT信号通路。该研究同时表明,与哺乳类I型IFN不同,鱼类IFN可通过JAK-STAT通路调控自身表达、达到快速放大机体抗病毒反应的目的<sup>[56, 78, 84]</sup>。

### 3.4 鱼类IRF2/4/5/6/8/10

脊椎动物IRF家族分为4个亚家族:IRF1亚家族(IRF1、IRF2、IRF11)、IRF3亚家族(IRF3、IRF7)、IRF4亚家族(IRF4、IRF8、IRF9、IRF10)、和IRF5亚家族(IRF5、IRF6)<sup>[17, 35, 37]</sup>。同亚家族成员具有更高的序列同源性,因此不难理解IRF1亚家族的IRF1、IRF2和IRF11都定位在细胞核中。人IRF2的NLS(<sup>120</sup>KKGKPKn<sup>5</sup>KVKnnKQ)与人IRF1的NLS非常相似<sup>[43]</sup>。而IRF4亚家族4个成员除IRF10以外,被发现均组成型定位在细胞核中<sup>[44, 89]</sup>。鱼类IRF2/4/5/6/8/10等成员的相关功能研究不多,以下仅做简要叙述。

**IRF2** 在哺乳类,IRF2被认为通过与IRF1竞争结合IFN启动子的相同ISRE基序发挥负调控IFN基因表达的功能。尽管鱼类IRF2能够与ISRE基序结合,但是对IRF2的功能研究出现了矛盾结果。Gu等<sup>[90]</sup>认为,草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)IRF1在抗草鱼呼肠孤病毒(grass carp reovirus, GCRV)感染中发挥负调控功能,但是Zhu等<sup>[91]</sup>在293T细胞中过量表达卵形鲳鲀(*Trachinotus ovatus*)的IRF2时,发现IRF2不仅激活IFN $\alpha$ 3启动子活性,而且诱导内源性Mx1、Viperin等基因的转录表达。

**IRF5** 哺乳类IRF5被认为在特定类型的细胞中、经病毒感染激活后调控IFN基因的表达。同样是西尼罗病毒(west Nile virus, WNV)感染,在成纤维细胞和神经细胞中,IRF3/7负责调控IFN的表达,而在DC细胞中,IRF5则发挥相似功能<sup>[92]</sup>。鱼类IRF5在如GCRV、淋巴囊肿病毒(lymphocystis disease virus, LCDV)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)虹彩病毒(turbot reddish body

iridovirus, TRBIV)等病毒诱导ISG表达时可能发挥作用<sup>[93-96]</sup>。但是,IRF5基因的表达模式在不同鱼类中却出现了矛盾结果,而基因的功能与其组织表达特征直接相关。比如,同样是poly(I:C)注射处理,IRF5在鲤(*Cyprinus carpio*)的7个免疫相关组织(肝脏、脾脏、头肾、前肠、后肠、皮肤和鳃)中被检测到表达上调,而在大菱鲆体内,没有发现IRF5在鳃、头肾、脾脏和肌肉等组织中的表达上调<sup>[96-97]</sup>。哺乳类IRF5组成型定位在细胞质中。在病毒感染时,IRF5经N端和C端的2个NLS调控进入细胞核<sup>[44]</sup>。在鱼类,仅有的一项相关研究认为,卵形鲳鲀IRF5在poly(I:C)刺激作用下没有检测到核定位发生<sup>[98]</sup>,这与转录因子发挥功能需先移位于细胞核发生矛盾。

**IRF6** 目前,IRF6已经在鳊(*Siniperca chuatsi*)、大西洋鳕(*Gadus morhua*)、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)等鱼类中被成功鉴定<sup>[28, 33-34, 99]</sup>。在哺乳类中,IRF6与结缔组织的形成有关<sup>[100]</sup>,没有发现其调控IFN的报道。但在鱼类中有发现,体外过量表达的斑马鱼IRF6显著激活鱼类IFN启动子的活性,诱导鱼类细胞ISG15等ISG的表达,且抑制SVCV在细胞中的复制<sup>[101]</sup>。

**IRF4/8** 哺乳类IRF4和IRF8在淋巴细胞中表达量较高,因此主要调控适应性免疫反应的发生。在鱼类中,IRF4和IRF8的相关研究还停留在基因鉴定和表达特征分析上<sup>[102-105]</sup>。

**IRF10** IRF10首先在鸡(*Gallus gallus domesticus*)中被鉴定为一个受IFN诱导的ISG,主要表达在血液细胞中<sup>[15]</sup>。在IFN $\gamma$ 激活的信号通路中,鸡IRF10通过与MHC-I基因启动子特异结合促进MHC-I基因的表达,也激活鸟苷酸结合蛋白的表达。同时,IRF10还干扰I型IFN诱导的2',5'-OAS基因的表达<sup>[15]</sup>。石斑鱼(*Epinephelus* spp.)IRF10蛋白定位在细胞核中,可能与DBD结构域的一段序列(aa 57~86)直接相关<sup>[48]</sup>。有趣的是,在体外培养细胞中,过量表达鱼类IRF10负调控RLR介导的鱼类IFN基因及ISG的表达<sup>[48, 106]</sup>。斑马鱼IRF10与IRF3竞争结合在IFN $\phi$ 1和IFN $\phi$ 3启动子上,从而抑制RLR信号途径介导的IFN基因的表达,该机制被认为是低等脊椎动物具有的一种避免机体产生过度免疫反应的调控途径<sup>[106]</sup>。

## 4 问题与展望

脊椎动物IRF家族的功能发现,极大促进

了对 IFN 抗病毒免疫反应机制的理解<sup>[14, 54]</sup>。鱼类存在相对保守的 IFN 天然抗病毒免疫系统, 必定存在物种特异的调控特点<sup>[56, 107]</sup>。现有研究揭示, 鱼类 IRF1、IRF3、IRF5、IRF7、IRF9 和 IRF11 在 IFN 抗病毒免疫反应中发挥正调控功能, IRF2 和 IRF10 可能发挥负调控功能。需要指出的是, 目前鱼类的研究结论都来自于体外研究的结果, 仅是依据哺乳类同源基因的功能研究进展, 在鱼类中通过有限的实验进行“保守功能”的验证。但是, 不同物种的 *IRF* 基因, 不能排除在功能上有物种特异的特点。从这个角度而言, 如果要揭示特异于鱼类的 IRF 调控 IFN 抗病毒反应的新机制, 还需要更多逻辑缜密的实验数据支持, 特别需要体内的实验证据支撑。此外, 由于体外研究的局限性, 因此许多在鱼类中的发现更需要体内的实验验证。比如, 体外研究发现斑马鱼 IRF6 与哺乳类有不同的功能<sup>[101]</sup>。如果有体内研究数据支持此结果, 将是对脊椎动物 IRF 家族成员功能研究的一大补充。

IRF 蛋白 C 末端 IAD 结构域的相对保守性决定了家族成员功能的多样性。对 *IRF* 基因的进化溯源发现, 在海绵等无脊椎动物的基因组中也有 *IRF* 同源基因<sup>[54, 108-109]</sup>。一个有趣的问题是, 如果脊椎动物 IRF 家族是 IFN 系统发挥功能的重要组成部分, 那么无脊椎动物 IRF 的功能是什么? 一种观点认为, 哺乳类 IRF1 介导的组成型抗病毒机制, 可能是无脊椎动物 IRF 发挥功能的一个缩影, 推测在没有 IFN 系统的无脊椎动物中, IRF 成员通过组成型表达的方式, 直接诱导并维持一组抗病毒效应分子的上调表达, 帮助机体抵抗病毒的入侵<sup>[54]</sup>。反观此问题, IRF 家族如何在脊椎动物中出现 IFN 系统后立即选择性地与 IFN 系统绑定在一起, 从而形成一个脊椎动物特有的、在病毒感染早期发挥抗病毒作用的高效防御系统? 关注病毒与细胞互作的特异性, 去研究为何鱼类存在更多的 IRF 家族成员, 或许对揭示鱼类抗病毒免疫的自身特有机理更有帮助。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Rehwinkel J, Gack M U. RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2020, 20(9): 537-551.
- [ 2 ] Hopfner K P, Hornung V. Molecular mechanisms and <https://www.china-fishery.cn>

cellular functions of cGAS-STING signalling[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(9): 501-521.

- [ 3 ] Zhang Q Y, Gui J F. Virus genomes and virus-host interactions in aquaculture animals[J]. *Science China Life Sciences*, 2015, 58(2): 156-169.
- [ 4 ] Zhang Q Y, Gui J F. Diversity, evolutionary contribution and ecological roles of aquatic viruses[J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(12): 1486-1502.
- [ 5 ] Fitzgerald K A, Kagan J C. Toll-like receptors and the control of immunity[J]. *Cell*, 2020, 180(6): 1044-1066.
- [ 6 ] Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity[J]. *Immunity*, 2011, 34(5): 637-650.
- [ 7 ] Ablasser A, Hur S. Regulation of cGAS- and RLR-mediated immunity to nucleic acids[J]. *Nature Immunology*, 2020, 21(1): 17-29.
- [ 8 ] 张义兵, 桂建芳. 鱼类干扰素反应及分子调控[J]. *生物工程学报*, 2011, 27(5): 675-683.
- Zhang Y B, Gui J F. Fish interferon response and its molecular regulation: a review[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2011, 27(5): 675-683(in Chinese).
- [ 9 ] 李依琳, 张义兵. 鱼类和哺乳类RLR介导的抗病毒免疫反应的泛素化修饰调控[J]. *水生生物学报*, 2020, 44(5): 976-988.
- Li Y L, Zhang Y B. Ubiquitination-mediated regulation of RLR-triggered antiviral signaling in fish and mammals[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, 44(5): 976-988(in Chinese).
- [ 10 ] Gan Z, Chen S N, Huang B, *et al.* Fish type I and type II interferons: composition, receptor usage, production and function[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(2): 773-804.
- [ 11 ] Negishi H, Taniguchi T, Yanai H. The interferon (IFN) class of cytokines and the IFN regulatory factor (IRF) transcription factor family[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2018, 10(11): a028423.
- [ 12 ] O'Neill L A J, Golenbock D, Bowie A G. The history of Toll-like receptors —redefining innate immunity[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2013, 13(6): 453-460.
- [ 13 ] Miyamoto M, Fujita T, Kimura Y, *et al.* Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN- $\beta$  gene regulatory elements[J]. *Cell*, 1988, 54(6): 903-913.

- [ 14 ] Tamura T, Yanai H, Savitsky D, *et al.* The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis[J]. *Annual Review of Immunology*, 2008, 26(1): 535-584.
- [ 15 ] Nehyba J, Hrdlickova R, Burnside J, *et al.* A novel interferon regulatory factor (IRF), IRF-10, has a unique role in immune defense and is induced by the  $\nu$ -Rel oncoprotein[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, 22(11): 3942-3957.
- [ 16 ] Stein C, Caccamo M, Laird G, *et al.* Conservation and divergence of gene families encoding components of innate immune response systems in zebrafish[J]. *Genome Biology*, 2007, 8(11): R251.
- [ 17 ] Zhao X, Gong X Y, Li Y L, *et al.* Characterization of DNA binding and nuclear retention identifies zebrafish IRF11 as a positive regulator of IFN antiviral response[J]. *The Journal of Immunology*, 2020, 205(1): 237-250.
- [ 18 ] Antonczyk A, Krist B, Sajek M, *et al.* Direct inhibition of IRF-dependent transcriptional regulatory mechanisms associated with disease[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1176.
- [ 19 ] Escalante C R, Yie J M, Thanos D, *et al.* Structure of IRF-1 with bound DNA reveals determinants of interferon regulation[J]. *Nature*, 1998, 391(6662): 103-106.
- [ 20 ] Chiang H S, Liu H M. The molecular basis of viral inhibition of IRF- and STAT-dependent immune responses[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 9: 3086.
- [ 21 ] Kimura T, Nakayama K, Penninger J, *et al.* Involvement of the IRF-1 transcription factor in antiviral responses to interferons[J]. *Science*, 1994, 264(5167): 1921-1924.
- [ 22 ] Reis L F, Ruffner H, Stark G, *et al.* Mice devoid of interferon regulatory factor 1 (IRF-1) show normal expression of Type I interferon genes[J]. *The EMBO Journal*, 1994, 13(20): 4798-4806.
- [ 23 ] Schmitz F, Heit A, Guggemoos S, *et al.* Interferon-regulatory-factor 1 controls Toll-like receptor 9-mediated IFN- $\beta$  production in myeloid dendritic cells[J]. *European Journal of Immunology*, 2007, 37(2): 315-327.
- [ 24 ] Schoggins J W, Wilson S J, Panis M, *et al.* A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response[J]. *Nature*, 2011, 472(7344): 481-485.
- [ 25 ] Feng H, Zhang Y B, Zhang Q M, *et al.* Zebrafish IRF1 regulates IFN antiviral response through binding to IFN $\phi$ 1 and IFN $\phi$ 3 promoters downstream of MyD88 signaling[J]. *The Journal of Immunology*, 2015, 194(3): 1225-1238.
- [ 26 ] Bergan V, Kileng Ø, Sun B J, *et al.* Regulation and function of interferon regulatory factors of Atlantic salmon[J]. *Molecular Immunology*, 2010, 47(11-12): 2005-2014.
- [ 27 ] Jia W Z, Guo Q L. Gene structures and promoter characteristics of interferon regulatory factor 1 (IRF-1), IRF-2 and IRF-7 from snakehead *Channa argus*[J]. *Molecular Immunology*, 2008, 45(8): 2419-2428.
- [ 28 ] Laghari Z A, Li L, Chen S N, *et al.* Composition and transcription of all interferon regulatory factors (IRFs), IRF1-11 in a perciform fish, the mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 81: 127-140.
- [ 29 ] Lai Q N, Lin G, Ma M S, *et al.* IRF-1 acts as a positive regulator in the transcription of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) IFN gene[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(6): 1432-1438.
- [ 30 ] Ordás M C, Abollo E, Costa M M, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of interferon regulatory factor-1 (IRF-1) of turbot and sea bream[J]. *Molecular Immunology*, 2006, 43(7): 882-890.
- [ 31 ] Shan S J, Qi C C, Zhu Y Y, *et al.* Expression profile of carp IFN correlate with the up-regulation of interferon regulatory factor-1 (IRF-1) *in vivo* and *in vitro*: the pivotal molecules in antiviral defense[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 52: 94-102.
- [ 32 ] Shi Y, Zhang Y B, Zhao Z, *et al.* Molecular characterization and subcellular localization of *Carassius auratus* interferon regulatory factor-1[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(2): 134-146.
- [ 33 ] Zhang J, Li Y X, Hu Y H. Molecular characterization and expression analysis of eleven interferon regulatory factors in half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(1): 272-282.
- [ 34 ] Guan Y Y, Chen X J, Luo T, *et al.* Molecular characterization of the interferon regulatory factor (IRF) family



- and functional analysis of IRF11 in the large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 107: 218-229.
- [ 35 ] Huang W S, Zhu M H, Chen S, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of a fish specific interferon regulatory factor, IRF11, in orange spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 60: 368-379.
- [ 36 ] Li L, Chen S N, Nie P. IRF11 regulates positively type I IFN transcription and antiviral response in mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 114: 103846.
- [ 37 ] Shu C, Sun Y Y, Xu T J. Molecular characterization of three IRF1 subfamily members reveals evolutionary significance of IRF11 in miiuy croaker[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 53(2): 385-391.
- [ 38 ] Mancuso G, Gambuzza M, Midiri A, *et al.* Bacterial recognition by TLR7 in the lysosomes of conventional dendritic cells[J]. *Nature Immunology*, 2009, 10(6): 587-594.
- [ 39 ] Dietrich N, Lienenklaus S, Weiss S, *et al.* Murine toll-like receptor 2 activation induces Type I interferon responses from endolysosomal compartments[J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10250.
- [ 40 ] Negishi H, Fujita Y, Yanai H, *et al.* Evidence for licensing of IFN- $\gamma$ -induced IFN regulatory factor 1 transcription factor by MyD88 in Toll-like receptor-dependent gene induction program[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(41): 15136-15141.
- [ 41 ] Ruan B Y, Chen S N, Hou J, *et al.* Two type II IFN members, IFN- $\gamma$  and IFN- $\gamma$  related (rel), regulate differentially IRF1 and IRF11 in zebrafish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 65: 103-110.
- [ 42 ] Shan L L, Fu F, Xue M, *et al.* Interferon gamma inhibits transmissible gastroenteritis virus infection mediated by an IRF1 signaling pathway[J]. *Archives of Virology*, 2019, 164(11): 2659-2669.
- [ 43 ] Schaper F, Kirchhoff S, Posern G, *et al.* Functional domains of interferon regulatory factor I (IRF-1)[J]. *Biochemical Journal*, 1998, 335(1): 147-157.
- [ 44 ] Barnes B J, Kellum M J, Field A E, *et al.* Multiple regulatory domains of IRF-5 control activation, cellular localization, and induction of chemokines that mediate recruitment of T lymphocytes[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2002, 22(16): 5721-5740.
- [ 45 ] Zhu M Z, Fang T, Li S, *et al.* Bipartite nuclear localization signal controls nuclear import and DNA-binding activity of IFN regulatory factor 3[J]. *The Journal of Immunology*, 2015, 195(1): 289-297.
- [ 46 ] Lin R T, Mamane Y, Hiscott J. Multiple regulatory domains control IRF-7 activity in response to virus infection[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(44): 34320-34327.
- [ 47 ] Shi J, Zhang Y B, Liu T K, *et al.* Subcellular localization and functional characterization of a fish IRF9 from crucian carp *Carassius auratus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 33(2): 258-266.
- [ 48 ] Huang B, Li W X, Wang Z X, *et al.* Identification of a novel splice variant isoform of interferon regulatory factor 10, IRF10, in orange spotted grouper *Epinephelus coioides*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 97: 637-647.
- [ 49 ] Feng H, Zhang Q M, Zhang Y B, *et al.* Zebrafish IRF1, IRF3, and IRF7 differentially regulate IFN $\Phi$ 1 and IFN $\Phi$ 3 expression through assembly of homo- or heteroprotein complexes[J]. *The Journal of Immunology*, 2016, 197(5): 1893-1904.
- [ 50 ] Li Y F, Lee K G, Ou X J, *et al.* Bruton's tyrosine kinase and protein kinase C  $\mu$  are required for TLR7/9-Induced IKK  $\alpha$  and IRF-1 activation and interferon- $\beta$  production in conventional dendritic cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105420.
- [ 51 ] Österlund P I, Pietilä T E, Veckman V, *et al.* IFN regulatory factor family members differentially regulate the expression of type III IFN (IFN- $\lambda$ ) genes[J]. *The Journal of Immunology*, 2007, 179(6): 3434-3442.
- [ 52 ] Yamane D, Feng H, Rivera-Serrano E E, *et al.* Basal expression of interferon regulatory factor 1 drives intrinsic hepatocyte resistance to multiple RNA viruses[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(7): 1096-1104.
- [ 53 ] Panda D, Gjinaj E, Bachu M, *et al.* IRF1 maintains optimal constitutive expression of antiviral genes and regulates the early antiviral response[J]. *Frontiers in*

- Immunology*, 2019, 10: 1019.
- [ 54 ] Feng H, Zhang Y B, Gui J F, *et al.* Interferon regulatory factor 1 (IRF1) and anti-pathogen innate immune responses[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(1): e1009220.
- [ 55 ] Abou El Hassan M, Huang K, Xu Z D, *et al.* Frequent interferon regulatory factor 1 (IRF1) binding at remote elements without histone modification[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(26): 10353-10362.
- [ 56 ] Zhang Y B, Gui J F. Molecular regulation of interferon antiviral response in fish[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2012, 38(2): 193-202.
- [ 57 ] Sun F, Zhang Y B, Liu T K, *et al.* Characterization of fish IRF3 as an IFN-inducible protein reveals evolving regulation of IFN response in vertebrates[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 185(12): 7573-7582.
- [ 58 ] Chen X W, Wei Q, Wang Z P, *et al.* Identification and functional analysis of interferon regulatory factor 3 in *Lateolabrax maculatus*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016, 63: 1-9.
- [ 59 ] Gu Y F, Wei Q, Tang S J, *et al.* Molecular characterization and functional analysis of IRF3 in tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016, 55: 130-137.
- [ 60 ] Holland J W, Bird S, Williamson B, *et al.* Molecular characterization of IRF3 and IRF7 in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: functional analysis and transcriptional modulation[J]. *Molecular Immunology*, 2008, 46(2): 269-285.
- [ 61 ] Hu G B, Xia J, Lou H M, *et al.* An IRF-3 homolog that is up-regulated by DNA virus and poly I: C in turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 31(6): 1224-1231.
- [ 62 ] Hu G B, Xia J, Lou H M, *et al.* Cloning and expression analysis of interferon regulatory factor 7 (IRF-7) in turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(4): 416-420.
- [ 63 ] Hu G B, Yin X Y, Lou H M, *et al.* Interferon regulatory factor 3 (IRF-3) in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*: Sequencing, limited tissue distribution, inducible expression and induction of fish type I interferon promoter[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(2): 164-173.
- [ 64 ] Hu G B, Yin X Y, Xia J, *et al.* Molecular cloning and characterization of interferon regulatory factor 7 (IRF-7) in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(6): 963-971.
- [ 65 ] Huang Y H, Huang X H, Cai J, *et al.* Identification of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) interferon regulatory factor 3 involved in antiviral immune response against fish RNA virus[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 42(2): 345-352.
- [ 66 ] Krishnan R, Kurcheti P P, Mushtaq Z, *et al.* Interferon-regulatory factors, IRF3 and IRF7 in Asian seabass, *Lates calcarifer*: Characterization, ontogeny and transcriptional modulation upon challenge with nervous necrosis virus[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 89: 468-476.
- [ 67 ] Li Z C, Chen J, Li P, *et al.* Functional characterization of dark sleeper (*Odontobutis obscura*) IRF3 in IFN regulation[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 89: 411-419.
- [ 68 ] Liu X X, Lv X, Wu Y Q, *et al.* Molecular characterization of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) IRF7 suggests involvement in innate immune response[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 109: 103700.
- [ 69 ] Shu C, Chu Q, Bi D K, *et al.* Identification and functional characterization of miyu croaker IRF3 as an inducible protein involved regulation of IFN response[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 499-506.
- [ 70 ] Wang R H, Li Y G, Zhou Z Y, *et al.* Involvement of interferon regulatory factor 3 from the barbel chub *Squaliobarbus curriculus* in the immune response against grass carp reovirus[J]. *Gene*, 2018, 648: 5-11.
- [ 71 ] Yao C L, Huang X N, Fan Z J, *et al.* Cloning and expression analysis of interferon regulatory factor (IRF) 3 and 7 in large yellow croaker, *Larimichthys crocea*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(5): 869-878.
- [ 72 ] Zhang W W, Li Z L, Jia P, *et al.* Interferon regulatory factor 3 from sea perch (*Lateolabrax japonicus*) exerts antiviral function against nervous necrosis virus infection[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 88: 200-205.
- [ 73 ] Zhao X, Wang R H, Li Y G, *et al.* Molecular cloning and functional characterization of interferon regulatory

- factor 7 of the barbel chub, *Squaliobarbus curriculus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 69: 185-194.
- [ 74 ] Zhang Q M, Zhao X, Li Z, *et al.* Alternative splicing transcripts of zebrafish LGP2 gene differentially contribute to IFN antiviral response[J]. *The Journal of Immunology*, 2018, 200(2): 688-703.
- [ 75 ] Cui H C, Yan Y, Wei J G, *et al.* Identification and functional characterization of an interferon regulatory factor 7-like (IRF7-like) gene from orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(6): 672-684.
- [ 76 ] Kumar K P, McBride K M, Weaver B K, *et al.* Regulated nuclear-cytoplasmic localization of interferon regulatory factor 3, a subunit of double-stranded RNA-activated factor 1[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, 20(11): 4159-4168.
- [ 77 ] Wu M, Zhao X, Gong X Y, *et al.* FTRCA1, a species-specific member of finTRIM family, negatively regulates fish IFN response through autophagy-lysosomal degradation of TBK1[J]. *The Journal of Immunology*, 2019, 202(8): 2407-2420.
- [ 78 ] Zang Z X, Dan C, Zhou L, *et al.* Function characterization and expression regulation of two different-sized 3'untranslated region-containing interferon genes from clone F of gibel carp *Carassius auratus gibelio*[J]. *Molecular Immunology*, 2020, 119: 18-26.
- [ 79 ] Li Y L, Zhao X, Gong X Y, *et al.* Molecular identification and function characterization of four finTRIM genes from the immortal fish cell line, EPC[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 113: 103775.
- [ 80 ] Sun F, Zhang Y B, Liu T K, *et al.* Fish MITA serves as a mediator for distinct fish IFN gene activation dependent on IRF3 or IRF7[J]. *The Journal of Immunology*, 2011, 187(5): 2531-2539.
- [ 81 ] Ashley C L, Abendroth A, McSharry B P, *et al.* Interferon-independent upregulation of interferon-stimulated genes during human cytomegalovirus infection is dependent on IRF3 expression[J]. *Viruses*, 2019, 11(3): 246.
- [ 82 ] Brownell J, Bruckner J, Wagoner J, *et al.* Direct, interferon-independent activation of the CXCL10 Promoter by NF- $\kappa$  B and interferon regulatory factor 3 during Hepatitis C virus infection[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(3): 1582-1590.
- [ 83 ] Chattopadhyay S, Kuzmanovic T, Zhang Y, *et al.* Ubiquitination of the transcription factor IRF-3 activates RIPA, the apoptotic pathway that protects mice from viral pathogenesis[J]. *Immunity*, 2016, 44(5): 1151-1161.
- [ 84 ] Yu F F, Zhang Y B, Liu T K, *et al.* Fish virus-induced interferon exerts antiviral function through Stat1 pathway[J]. *Molecular Immunology*, 2010, 47(14): 2330-2341.
- [ 85 ] Paul A, Tang T H, Ng S K. Interferon regulatory factor 9 structure and regulation[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1831.
- [ 86 ] Tang J T, Jiang L H, Liu W, *et al.* Expression and functional characterization of interferon regulatory factors 4, 8, and 9 in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 78: 35-41.
- [ 87 ] Yang Q, Cui J X, Song W H, *et al.* The evolution and functional characterization of miyu croaker interferon regulatory factor 9 involved in immune response[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 66: 524-530.
- [ 88 ] Shi J, Zhang Y B, Zhang J S, *et al.* Expression regulation of zebrafish interferon regulatory factor 9 by promoter analysis[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2013, 41(4): 534-543.
- [ 89 ] Lau J F, Parisien J P, Horvath C M. Interferon regulatory factor subcellular localization is determined by a bipartite nuclear localization signal in the DNA-binding domain and interaction with cytoplasmic retention factors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, 97(13): 7278-7283.
- [ 90 ] Gu M H, Lin G, Lai Q N, *et al.* *Ctenopharyngodon idella* IRF2 plays an antagonistic role to IRF1 in transcriptional regulation of *IFN* and *ISG* genes[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 49(1): 103-112.
- [ 91 ] Zhu K C, Guo H Y, Zhang N, *et al.* Functional characterization of interferon regulatory factor 2 and its role in the transcription of *interferon a3* in golden pompano

- Trachinotus ovatus* (Linnaeus 1758)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 93: 90-98.
- [ 92 ] Chow K T, Wilkins C, Narita M, *et al.* Differential and overlapping immune programs regulated by IRF3 and IRF5 in plasmacytoid dendritic cells[J]. *The Journal of Immunology*, 2018, 201(10): 3036-3050.
- [ 93 ] Ai K, Luo K, Xia L H, *et al.* Functional characterization of interferon regulatory factor 5 and its role in the innate antiviral immune response[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 72: 31-36.
- [ 94 ] Hu G B, Lou H M, Dong X Z, *et al.* Characteristics of the interferon regulatory factor 5 (IRF5) and its expression in response to LCDV and poly I: C challenges in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2012, 38(2): 377-382.
- [ 95 ] Wickramaarachchi W D N, Wan Q, Lim B S, *et al.* Genomic characterization of interferon regulatory factor 5 from rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) and its role in antiviral defense[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 37(2): 256-267.
- [ 96 ] Xia J, Hu G B, Dong X Z, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of interferon regulatory factor 5 (IRF-5) in turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(1): 211-218.
- [ 97 ] Zhu Y Y, Qi C C, Shan S J, *et al.* Characterization of common carp (*Cyprinus carpio* L.) interferon regulatory factor 5 (IRF5) and its expression in response to viral and bacterial challenges[J]. *BMC Veterinary Research*, 2016, 12(1): 127.
- [ 98 ] Zhu K C, Guo H Y, Zhang N, *et al.* Structural and expression analysis of golden pompano *Trachinotus ovatus* IRF5 and its role in regulation of type I IFN[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 97: 313-321.
- [ 99 ] Inkpen S M, Solbakken M H, Jentoft S, *et al.* Full characterization and transcript expression profiling of the interferon regulatory factor (IRF) gene family in Atlantic cod (*Gadus morhua*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2019, 98: 166-180.
- [100] Leslie E J, Standley J, Compton J, *et al.* Comparative analysis of *IRF6* variants in families with Van der Woude syndrome and popliteal pterygium syndrome using public whole-exome databases[J]. *Genetics in Medicine*, 2013, 15(5): 338-344.
- [101] Li S, Lu L F, Wang Z X, *et al.* Fish IRF6 is a positive regulator of IFN expression and involved in both of the MyD88 and TBK1 pathways[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 57: 262-268.
- [102] Bathige S D N K, Whang I, Umasuthan N, *et al.* Interferon regulatory factors 4 and 8 in rock bream, *Oplegnathus fasciatus*: structural and expressional evidence for their antimicrobial role in teleosts[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 33(4): 857-871.
- [103] Holland J W, Karim A, Wang T H, *et al.* Molecular cloning and characterization of interferon regulatory factors 4 and 8 (IRF-4 and IRF-8) in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(1): 157-166.
- [104] Hu G B, Chen X L, Gong Q L, *et al.* Structural and expression studies of interferon regulatory factor 8 in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(3): 1016-1024.
- [105] Li S, Hu G B, Chen Z P, *et al.* Cloning and expression study of an IRF4a gene and its two transcript variants in turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 72: 389-398.
- [106] Li S, Lu L F, Feng H, *et al.* IFN regulatory factor 10 is a negative regulator of the IFN responses in fish[J]. *The Journal of Immunology*, 2014, 193(3): 1100-1109.
- [107] Boudinot P, Mondot S, Jouneau L, *et al.* Restricting nonclassical MHC genes coevolve with TRAV genes used by innate-like T cells in mammals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(21): E2983-E2992.
- [108] Huang B, Qi Z T, Xu Z, *et al.* Global characterization of interferon regulatory factor (IRF) genes in vertebrates: glimpse of the diversification in evolution[J]. *BMC Immunology*, 2010, 11(1): 28.
- [109] Nehyba J, Hrdličková R, Bose H R. Dynamic evolution of immune system regulators: the history of the interferon regulatory factor family[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2009, 26(11): 2539-2550.

## IRF-mediated regulation of IFN antiviral response in fish

ZHAO Xiang<sup>1,2</sup>, ZHANG Yibing<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology,  
Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. The Innovation Academy of Seed Design, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

4. Key Laboratory of Aquaculture Disease Control of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Hydrobiology,  
Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Members of the interferon regulatory factor (IRF) family are essential transcription factors that regulate the expression of *IFN* genes individually and collectively in viral-infected cells. IRF family proteins are structurally conserved. The N-terminal DBD domain endows IRF proteins with the binding affinity to *IFN* gene promoter DNAs, while the C-terminal IAD domains mediate protein-protein interaction, e. g. interaction with other IRFs or transcription factors from other families, leading to functional specificity and diversity of IRF proteins. That is, when a given cell type is infected with a given type of virus, different signaling pathways will be triggered, where different IRF members are activated to turn on the transcription of different *IFN* genes. Mammalian IRF family includes 9 members, IRF1-9, and a total of 11 members are identified in fish IRF family. In addition to IRF1~9, fish genomes possess teleost-specific IRF11, and IRF10, which also exists in bird genomes. As a transcription factor, IRF proteins have to enter cellular nucleus first, followed by initiation of *IFN* gene transcription. In mammals, accumulated evidence has shown that IRF1/3/5/7/9, although localized to cytoplasm or nucleus in resting cells, positively regulate the transcription of *IFN* genes upon virus infection, but IRF2 exerts a negative role. In the past two decades, significant progresses have been made on molecular cloning, expression characterization and function analyses of fish IRF family genes, although these conclusions are often drawn from different fish species or different experiment systems. It is noted that only *in vitro* data have been acquired, and future work needs to focus on *in vivo* studies regarding the physiological function of fish IRF members. This review summarizes the recent mechanism research progresses on expression characterization, subcellular localization and molecular regulation of fish IRF family genes during IFN antiviral immune response.

**Key words:** interferon regulatory factor (IRF); expression characterization; subcellular localization; transcriptional regulation; IFN antiviral response

**Corresponding author:** ZHANG Yibing. E-mail: ybzhang@ihb.ac.cn

**Funding projects:** Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA24010308); National Natural Science Foundation (31772875, 31972826)