



· 综述 ·

鱼类 microRNA 在先天免疫中的研究进展

崔俊霞¹, 徐田军^{1,2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 国家海洋科学与技术实验室, 海洋生物与生物技术实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 先天免疫是宿主识别病原及消除病原感染的第一道防线。模式识别受体是参与识别病原入侵的主要分子, 主要包括 Toll 样受体、RIG-I 样受体、NOD 样受体和 C 型凝集素受体等。模式识别受体在识别病原相关分子模式后, 激活机体的先天免疫信号通路, 诱导炎症细胞因子和干扰素的产生, 从而启动抵抗病原入侵的免疫应答。越来越多的证据表明, 免疫应答的激活、维持和终止受到了严格的调节, 使机体在保持一定免疫强度的同时避免产生过度的免疫反应。microRNA 是一类长度为 18~23 nt 的微小非编码 RNA, 是鱼类先天免疫应答网络中的重要调控因子。近年来, microRNA 在鱼类免疫学领域已开展了大量的研究, 但缺乏对其进行及时地全面性的总结。本文综述了近年来 miRNA 在鱼类先天免疫反应中的研究进展, 以期为鱼类的分子抗病育种及疾病防控研究提供一些思路。

关键词: 鱼类; 先天免疫; microRNA; TLR 通路; RLR 通路; NLR 通路

中图分类号: S 942

文献标志码: A

先天免疫是机体抵御病原入侵的第一道防线。模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 是先天免疫系统的微生物传感器, 可以识别大多数类型的微生物病原体所共有的分子模式, 这些共有的分子模式被称为病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular pattern, PAMP)。在过去的几十年里, 模式识别受体的几个家族被进行了广泛的研究, 主要包括 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs)、RIG-I 样受体 (RIG-I like receptors, RLRs)、NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLRs) 和 C 型凝集素受体 (C-type lectin receptors, CLR) 等^[1-2]。TLR 是目前研究最多的一类模式识别受体, 包括对其识别的配体、下游信号通路和效应分子均进行了深入的研究, TLR 在机体防御病原体入

侵方面发挥着重要的作用^[3]。识别 PAMP 后, TLRs 通过激活依赖于 MyD88 或 TRIF 接头分子的信号通路, 启动机体的先天性免疫应答, 从而诱导炎症细胞因子和 I 型干扰素 (IFN-I) 的产生^[4]。RLR 信号通路在病毒的识别过程中发挥着重要的作用, 通过激活 MAVS 接头分子介导的 TBK1-IRF3 信号通路后, 诱导了 IFN-I 和炎症细胞因子的产生^[5]。相比较而言, NLR 信号通路的研究稍显落后, 但近几年来, 在 NLR 的配体识别及信号通路调控方面的研究开展的如火如荼, 尤其在鱼类 NLR 信号通路方面取得了很大的突破, 并发现鱼类 NLR 在抗细菌和抗病毒免疫应答中均发挥了重要作用^[6-11]。CLR 通过吞噬和胞吞作用接受和捕获病原以及内源配体的刺激信号, 发挥抗原提呈和吞噬杀伤的

收稿日期: 2022-07-31 修回日期: 2022-09-22

资助项目: 国家自然科学基金 (31822057)

第一作者: 崔俊霞 (照片), 从事鱼类分子免疫学研究, E-mail: cjx371122@163.com

通信作者: 徐田军, 从事鱼类分子免疫学研究, E-mail: tianjunxu@163.com



作用^[12]。

近年来, microRNA (miRNA) 作为一类参与机体大部分基因表达的重要调控因子而受到广泛的关注, 其在细胞稳态、组织分化、器官发生、生长繁殖及环境胁迫等大部分生物学过程中均发挥了重要的调控作用^[13-14]。miRNA 是一类长度为 18~23 nt 的单链非编码小分子 RNA, 因为分子很小也称之为微小 RNA。miRNA 与目标 mRNA 的 3'端非翻译区 (3'UTR) 通过碱基互补配对的方式, 在真核生物的转录后水平调控基因的表达^[15]。随着 Lee 等^[16]在线虫中发现了第一种 miRNA(lin-4) 以及 Reinhart 等^[17]发现了著名的 let-7 分子, miRNA 逐渐引起了人们的关注, 并成为近 20 年来生物学领域的研究热点之一。研究者认为 miRNA 能够作为一种普遍的调控模式以行使转录后调控作用的方式存在于线虫及其他生物的各项生命过程中^[18-19]。

硬骨鱼类是低等脊椎动物中的代表种群, 作为冷血动物的鱼类, 其适应性免疫系统还比较低级, 主要是通过发达的先天免疫系统来抵抗各种病原微生物的侵袭^[13]。在鱼类抵抗病原微生物侵袭的过程中, 既要保持着持续有效的免疫应答, 还要防止过度的免疫应答给机体带来的损伤。因此, 发现和阐明能够影响机体先天免疫反应中的调节因子和调节机制就显得尤为重要^[20]。miRNA 在脊椎动物中作为不同生物过程的微调节器的作用已经被阐明, 一些 miRNA 也被认为是调节机体先天免疫反应的关键分子。从在斑马鱼 (*Danio rerio*) 中首次报道 miRNAs 以来^[21-22], 围绕鱼类 miRNA 在各项生物活动中的作用, 多个实验室陆续开展了一些工作, 并在近年得到了迅速的发展, 其中 miRNA 在鱼类免疫学领域得到了迅猛的发展并积累了大量的研究结果, 但尚缺乏较为全面的总结性报道。

本文就鱼类先天免疫反应中 miRNA 对 TLR、RLR 和 NLR 信号通路调控的相关研究进行了比较和综述。miRNA 被认为可以通过靶向信号通路的多个分子, 在不同水平上参与调控先天免疫反应, 调控的靶标可以是信号通路中的受体分子、信号分子、转录因子, 以及细胞因子, 还有信号通路中的调控因子等。本文对上述调控方式和调控的 miRNA 分子进行了概述, 另外也对目前硬骨鱼 (Osteichthyes) miRNA 调控研究中的局限性进行了讨论, 以期今后开展 miRNAs 在鱼类先天免疫信号通路中的调控研究提供一些新的思路。

1 miRNA 的产生及其作用机制

从分子产生的角度来看, miRNA 的转录方式与编码基因 mRNA 的转录方式是类似的。miRNA 的生物合成涉及到 2 种 RNase III (Drosha 和 Dicer) 的加工过程。miRNA 在 RNA 聚合酶 II (RNA pol II) 的作用下转录为初级转录本 (pri-miRNA), 然后被 Drosha 酶在细胞核内裁剪成一个短的发夹式的前体 miRNA 转录本 (pre-miRNA)^[23]。pre-miRNA 被转运到细胞质中, 然后被 Dicer 酶切割后形成成熟的 miRNA 分子。这些成熟的双链 miRNA 中的一条链被降解, 另一条链参与形成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA induced silencing complex, RISC), 该复合体利用 miRNA 的“种子序列”通过碱基互补配对的方式结合靶基因 mRNA 的 3'端非翻译区, 从而导致在转录后水平调控靶基因 mRNA 的降解和/或抑制蛋白的翻译^[24-26]。其中当 miRNA 成熟体 2~8 位的种子序列 (seed sequence) 与靶基因 mRNA 完全互补配对时, 其主要作用可能是降低靶基因 mRNA 的水平, 若二者序列不完全互补配对时, 可能会抑制靶基因蛋白的翻译^[27], 当然两种抑制方式也可以同时发生。

到目前为止, 多达 60% 的蛋白编码基因被预测能在转录后水平上受到 miRNA 的调控^[28]。从调控策略上来讲, 一种 miRNA 可以靶向多个不同的 mRNA, 而同一个 mRNA 也可能受到多种 miRNA 的调控。在过去的数十年中, 越来越多的证据表明, miRNA 可以作为免疫反应的“微调节器”, 广泛参与哺乳动物免疫细胞的分化、对病原的防御反应和肿瘤的发生等免疫反应过程^[29-30]。

2 鱼类 miRNAs 对 TLR 信号通路的调控

TLRs 通过依赖 MyD88 的信号通路或非依赖 MyD88 的信号通路来激活细胞内的信号转导^[31]。在哺乳动物中, 除 TLR3 外, 其他所有 TLRs 都依赖于 MyD88 作为接头分子来进行信号传递。TLR 识别相应的配体后, 通过 MyD88 以及下游一系列的胞质分子进行信号转导。这些下游胞质内的信号分子, 包括 IL-1R 相关蛋白激酶 (IL-1 receptor-associated kinase, IRAK)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6)、转化生长因子 β 活化激酶 1 (transforming growth factor-beta-activated kinase 1, TAK1) 以及 TAK1 结合蛋白 1 和 2 (TAB1 和 TAB2), 经过

信号转导后最终引起 NF- κ B 转录因子的激活^[32-34], 促进了下游一系列炎症细胞因子的表达, 包括 *TNF- α* 、*IL-1 β* 、*IL-6* 及 *IL-8* 等, 最终通过细胞因子引起的免疫应答来抵御病原的入侵^[35-36]。

哺乳动物的 miRNA 可以在不同层次上调节 TLR 信号通路, 例如 miR-125b、miR-147、let-7i、miR-27b 和 miR-98 等 miRNAs 已被证明可以调控 TLR 受体的表达^[37-38]; miR-146a 可以靶向 TLR 信号通路中的不同信号分子, 例如 *IRAK1* 和 *TRAF6*^[39]; miR-9 可以靶向下游转录因子 *NF- κ B1* 亚基^[40]; miR-155 可以靶向 TLR 诱导的下游细胞因子 *IL-10*^[41]。目前, 在鱼类中已经鉴定出大量的 miRNAs, 基于 miRNAs 序列与功能的高度保守性, 与哺乳动物 miRNAs 类似, 鱼类的 miRNA 也是通过靶向不同的信号分子, 在不同层次上参与调控 TLR 信号通路。

2.1 鱼类 miRNAs 对 TLR 受体的调控

鱼类中已至少发现了 22 个 TLRs, 这些 TLRs 分子属于 6 个 TLR 亚家族 (TLR1、TLR3、TLR4、TLR5、TLR7 和 TLR11)^[42]。在这些 TLRs 分子中, TLR5S、TLR14、TLR18~20 和 TLR22~28 被发现是鱼类特有的 TLR 分子^[43-44]。到目前为止, 已发现多个 miRNAs 可通过直接靶向 TLRs 受体来调控鱼类的 TLR 信号通路的激活强度 (表 1, 图 1)。与哺乳动物类似, 在鱼类中也发现多种 miRNAs 能够调控同一个靶基因。关于 miRNA 调控鱼类 TLR 受体分子的研究发现, 鳃弧菌 (*Vibrio anguillarum*) 感染后, 鳃 miR-200a-3p 与 *TLR1* 的表达量之间存在着相反的表达趋势, 进一步通过双荧光素酶报告基因证明了 miR-200a-3p 可以直接靶向 *TLR1* 分子^[45]。此外, 还发现 miR-8159-5p 和 miR-217-5p 这 2 个 miRNAs 也可以直接靶向 *TLR1*^[46]。在牙鲆中, pol-miR-153-5p 可以靶向 *TLR2*^[47]; 在斑点叉尾鲷中, ipu-miR-150 可以靶向 *TLR2*^[48]。pol-miR-727-5p 靶向牙鲆的 *TLR3* 基因^[47]; 而在斑点叉尾鲷中, *TLR3* 则可以被 ipu-miR-7 靶向抑制^[48]。草鱼的 *TLR5* 3'-UTR 具有 miR-142a-3p 和 cid-miRn-115 的结合位点, 并且 *TLR5* 的表达量水平同时受到 miR-142a-3p 和 cid-miRn-115 的调控, 抑制了下游细胞因子 *TNF- α* 、*IL-1 β* 和 *IL-8* 的表达^[49]; 在牙鲆中, pol-miR-203-3p 可以靶向 *TLR5M* 分子^[47]; 而在斜带石斑鱼中, *TLR5M* 已被证明是 miR-182-3p 的一个靶标基因^[50]。

鳃 *TLR7* 被预测是 miR-217 的靶基因, 但二者之间确切的靶向关系还有待于进一步阐明^[51]。在团头鲂中, mam-miR-22a 可以靶向 *TLR7*^[52]。在草鱼 *TLR8* 中鉴定出 8 个 SNPs, 其表达水平被鉴定可能与 GCRV 感染的易感性和耐药性相关, 进一步从 *TLR8* 3'-UTR 中被鉴定出包含了 miR-519e、miR-519d、miR-515-3p、miR-548j 和 miR-19b 等结合位点, 提示了 *TLR* 的 SNP 可能通过影响 *TLR8* 的表达进而影响 miRNA 与 *TLR8* 的结合^[53]。此外, 牙鲆的 pol-miR-135b-3p 可以靶向 *TLR9*^[54]。

在大西洋鲑中, miR-140 在罗氏梭菌感染后的皮肤和头肾中高度表达, 发现 miR-140 表达量与 *TLR12* 的表达量呈负相关, 暗示了 *TLR12* 可能是 miR-140 的靶基因^[55]。在鳃弧菌和 LPS 刺激后, 鳃 miR-8159 的表达量降低和 *TLR13* 的表达量增加呈现出负相关关系, 发现 miR-8159 是 *TLR13* 的调节因子^[56]。在大西洋鲑中, sas-miR-1772 靶作用于 *TLR13*^[57]。*TLR14* 基因是鱼类所特有的, 已经在鳃、牙鲆和斑马鱼等几种鱼类中被发现^[43, 58], 在牙鲆中 pol-miR-203-3p 可以靶向 *TLR14*^[47]; 在鳃中 miR-122 通过直接靶向鳃 *TLR14* 3'-UTR, 负向调控 *TLR14* 的表达^[58]。在团头鲂中 *TLR19* 是 mam-miR-140-3p 的靶标基因^[52]。在牙鲆中 pol-miR-19b-5p 可以靶向 *TLR21*^[47], 而在斑点叉尾鲷中 ipu-miR-101 也可以靶向 *TLR21* 基因^[48]。大西洋鲑中, miR-140-4 与 *TLR22* 的表达量呈负相关, miR-140-4 可以靶作用于 *TLR22* 基因^[55]。此外, 鳃 miR-21 可以通过靶向 *TLR28* 来抑制细胞因子的产生^[59]。这些研究表明, 鱼类 miRNAs 可以通过直接靶向 Toll 受体分子来调控 TLR 信号通路。

2.2 鱼类 miRNAs 对 TLR 通路重要信号分子的调控

TLRs 与识别的配体结合后, 主要通过 *MyD88* 依赖的信号通路启动免疫反应, 在此过程中需要通过一系列的胞质分子进行信号传导, 这些重要的信号分子包括 *MyD88*、*IRAK1*、*IRAK4*、*TRAF6*、*TAK1*、*TAB1* 及 *TAB2* 等, 最终诱导炎症细胞因子的产生^[60]。此外, *TLR* 信号通路也可以依赖 *TRIF* 接头分子启动免疫反应, 依赖 *TRIF* 介导的 TLR 信号通路主要承担了抗病毒免疫反应^[43]。越来越多的研究表明, 鱼类 TLR 信号通路中的信号分子可以被多个 miRNAs 所调控。

TLR 通路的信号转导途径在脊椎动物中是高

表 1 鱼类 miRNA 调控 Toll 样受体信号通路的研究概况

Tab. 1 Overview of the regulation of TLR signaling pathway by miRNAs in fish

miRNAs类型 miRNAs type	靶基因 target genes	物种 species	参考文献 reference
miR-200a-3p	Toll样受体1(TLR1)	鳊 <i>Miichthys miiuy</i>	[45]
miR-8 159-5p	TLR1	鳊 <i>M. miiuy</i>	[46]
miR-217-5p	TLR1	鳊 <i>M. miiuy</i>	[46]
pol-miR-153-5p	Toll样受体2(TLR2)	牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	[47]
ipu-miR-150	TLR2	斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	[48]
pol-miR-727-5p	TLR2	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
ipu-miR-7	Toll样受体3(TLR3)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
miR-142a-3p	Toll样受体5(TLR5)	草鱼 <i>Ctenopharyngodon idella</i>	[49]
pol-miR-203-3p	Toll样受体5 M(TLR5M)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
miR-182-3p	TLR5M	斜带石斑鱼 <i>Epinephelus coioides</i>	[50]
miR-217	Toll样受体7(TLR7)	鳊 <i>M. miiuy</i>	[51]
mam-miR-22a	TLR7	团头鲂 <i>Megalobrama amblycephala</i>	[52]
miR-19b	Toll样受体8(TLR8)	草鱼 <i>C. idella</i>	[53]
pol-miR-135b-3p	Toll样受体9(TLR9)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
miR-140	Toll样受体12(TLR12)	大西洋鲑 <i>Salmo salar</i>	[55]
miR-8 159	Toll样受体13(TLR13)	鳊 <i>M. miiuy</i>	[56]
sas-miR-1 772	TLR13	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	[57]
pol-miR-203-3p	Toll样受体14(TLR14)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
miR-122	TLR14	鳊 <i>M. miiuy</i>	[58]
mam-miR-140-3p	Toll样受体19(TLR19)	团头鲂 <i>M. amblycephala</i>	[52]
pol-miR-19b-5p	Toll样受体21(TLR21)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
ipu-miR-101	TLR21	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
miR-140-4	Toll样受体22(TLR22)	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	[55]
miR-21	Toll样受体28(TLR28)	鳊 <i>M. miiuy</i>	[59]
pol-miR-146a	髓样分化因子88(MyD88)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
miR-3 570	MyD88	鳊 <i>M. miiuy</i>	[60]
miR-214	MyD88	鳊 <i>M. miiuy</i>	[61]
miR-148	MyD88	鳊 <i>M. miiuy</i>	[62]
miR-19a	MyD88	鳊 <i>M. miiuy</i>	[63]
ipu-miR-129b	MyD88	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
miR-1 388-5p	IL-1R相关蛋白激酶1(IRAK1)	鳊 <i>M. miiuy</i>	[65]
miR-148-1-5p	IRAK1	鳊 <i>M. miiuy</i>	[66]
miR-21	IRAK4	鳊 <i>M. miiuy</i>	[67]
miR-21	IL-1R相关蛋白激酶4(IRAK4)	斑马鱼 <i>D. rerio</i>	[67]
miR-203	IRAK4	鳊 <i>M. miiuy</i>	[68]
miR-203	IRAK4	大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	[68]
miR-27c-3p	IRAK4	鳊 <i>M. miiuy</i>	[69]
miR-27c-3p	IRAK4	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[69]
miR-27c-3p	IRAK4	双棘黄姑鱼 <i>Nibea diacanthus</i>	[69]
miR-2 187	肿瘤坏死因子受体相关因子6(TRAF6)	鳊 <i>M. miiuy</i>	[71]
miR-2 187	TRAF6	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[71]
miR-2 187	TRAF6	美国红鱼 <i>Sciaenops ocellatus</i>	[71]
miR-489	TRAF6	鳊 <i>M. miiuy</i>	[72]
miR-20-1	TRAF6	鳊 <i>M. miiuy</i>	[73]
miR-101a	TRAF6	鳊 <i>M. miiuy</i>	[73]
miR-146a	TRAF6	斜带石斑鱼 <i>Epinephelus coioides</i>	[74]

· 续表 1 ·

miRNAs类型 miRNAs type	靶基因 target genes	物种 species	参考文献 reference
miR-146a	<i>TRAF6</i>	斑马鱼 <i>D. rerio</i>	[75]
miR-30c-3-3p	<i>TRAF6</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[76]
miR-30c-3-3p	<i>TRAF6</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[76]
miR-30c-3-3p	<i>TRAF6</i>	双棘黄姑鱼 <i>N. diacanthus</i>	[76]
miR-217	转化生长因子激酶1(<i>TAK1</i>)	鳊 <i>M. miuuy</i>	[77]
miR-122-5p	<i>TAK1</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[78]
miR-128	转化生长因子激酶1结合蛋白2(<i>TAB2</i>)	鳊 <i>M. miuuy</i>	[79]
pol-miR-221-3p	核转录因子- κ B亚单位(<i>p65</i>)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
miR-216a	<i>p65</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[83]
miR-216a	<i>p65</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[83]
miR-216a	<i>p65</i>	斑马鱼 <i>D. rerio</i>	[83]
miR-144	NF- κ B抑制蛋白 α (<i>IκBα</i>)	鳊 <i>M. miuuy</i>	[85]
miR-122	<i>IκBα</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[86]
miR-30e	NF- κ B抑制蛋白(<i>IκB</i>)	鲤上皮瘤细胞系EPC	[87]
miR-10b-19	环氧化酶(<i>COX2</i>)	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	[55]
pol-miR-122	CC趋化因子受体3(<i>CCR3</i>)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-1788-5p	<i>CCR3</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-181c-5p	<i>CCR3</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-210-3p	<i>CCR3</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
miR-21-2	<i>CCR3</i>	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	[55]
miR-21	CC趋化因子受体4(<i>CCR4</i>)	鳊 <i>M. miuuy</i>	[59]
mam-miR-15a-3p	CC趋化因子受体7(<i>CCR7</i>)	团头鲂 <i>M. amblycephala</i>	[52]
pol-miR-122	CC趋化因子受体9(<i>CCR9</i>)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-15b-5p	<i>CCR9</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-27b-5p	<i>CCR9</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
sas-miR-142-3p	<i>CCR9</i>	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	[57]
ipu-miR-214	CXC型趋化因子配体12(<i>CXCL12</i>)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
ipu-miR-7548	CXC型趋化因子配体14(<i>CXCL14</i>)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
miR-129a	白介素6(<i>IL-6</i>)	大西洋庸鲈 <i>Hippoglossus hippoglossus</i>	[88]
miR-4448	<i>IL-6</i>	大西洋庸鲈 <i>H. hippoglossus</i>	[88]
pol-miR-133a-3p	白介素8(<i>IL-8</i>)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-133b-3p	<i>IL-8</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-1788-5p	<i>IL-8</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
miR-21	<i>IL-8</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[59]
miR-1893	<i>IL-8</i>	大西洋庸鲈 <i>H. hippoglossus</i>	[88]
cse-miR-71c-5p	白介素10(<i>IL-10</i>)	半滑舌鳎 <i>Cynoglossus semilaevis</i>	[89]
pol-miR-107-5p	白细胞介素1 β (<i>IL-1β</i>)	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[47]
ipu-miR-126-5p	<i>IL-1β</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
pol-miR-181c-5p	<i>IL-1β</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	[54]
miR-1957	<i>IL-1β</i>	大西洋庸鲈 <i>H. hippoglossus</i>	[88]
cse-miR-146a	<i>IL-1β</i>	半滑舌鳎 <i>C. semilaevis</i>	[89]
miR-144	<i>IL-1β</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[90]
miR-132	<i>IL-1β</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[93]
miR-148	<i>IL-1β</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[92]
mam-novel-miR-41	白细胞介素-1受体1(<i>IL-1R1</i>)	团头鲂 <i>M. amblycephala</i>	[52]
mam-novel-miR-102	<i>IL-1R1</i>	团头鲂 <i>M. amblycephala</i>	[52]
miR-21	<i>IL-1R1</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[93]
miR-192	<i>IL-1R1</i>	鳊 <i>M. miuuy</i>	[94]

过程中发挥重要的作用^[70]。研究发现, miR-2187 作为负调控因子在鳗的抗病毒感染和抗细菌感染反应中均发挥了关键性的作用, 从机制上讲是 miR-2187 通过靶向 *TRAF6* 抑制其介导的 NF- κ B 和 IRF3 信号通路进而负调控先天免疫反应, 减少炎症因子和抗病毒因子的产生, 从而避免机体产生过度的炎症反应^[71]; 鳗 miR-489 也可以通过靶向 *TRAF6* 负调控 RLR 信号通路, 从而在宿主-病毒相互作用中发挥调控作用^[72]; 在 LPS 刺激和哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 感染后, miR-20-1 和 miR-101a 的表达量均显著升高, 并发现这 2 个 miRNA 都是通过靶向鳗的 *TRAF6*, 抑制其介导的 NF- κ B 信号通路, 参与了宿主抗菌免疫反应^[73]。在斜带石斑鱼中, *TRAF6* 是 miR-146a 调控的靶基因, miR-146a 通过靶向并负调控 *TRAF6* 的表达促进了石斑鱼神经坏死病毒 (RGNNV) 的复制^[74]。在斑马鱼中, miR-146a 同样靶向调控 *TRAF6* 基因, 进一步发现在暴露于低剂量浓度的邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (*DEHP*) 的斑马鱼胚胎中, miR-146a 和 *TRAF6* 的表达量分别下调和上调, 这些结果加深了对 *DEHP* 毒性的分子机制的理解, 并进一步提示 miR-146a 可以作为 *DEHP* 暴露的潜在生物标志物^[75]。此外在鳗中, miR-30c-3-3p 可以通过靶向 *TRAF6* 抑制宿主的抗病毒和抗细菌的先天免疫反应, 在此基础上进一步发现, 环状 RNA (*circBCL2L1*) 作为 miR-30c-3-3p 的竞争性内源 RNA, 通过与 miR-30c-3-3p 结合, 减弱了 miRNA 对其靶标基因 *TRAF6* 的负调控强度, 减弱了对 NF- κ B 和 IRF3 信号通路的抑制, 最终增强了宿主的先天免疫应答水平^[76]。

miR-217 通过靶向鳗 *TAK1*, 抑制了 *TAK1* 介导的 NF- κ B 和 IRF3 信号通路, 减少了炎症细胞因子和 *IFN- γ* 的产生, 调节了抗细菌感染和抗病毒感染的能力, 维持了机体的免疫平衡^[77]。miR-122-5p 也通过靶向 *TAK1* 负调控下游 NF- κ B 和 IRF3 信号通路的激活, 进一步发现长链非编码 RNA (*MIR122HG*) 可以作为 miR-122-5p 的前体生成基因, 能够间接调控 *TAK1* 的表达^[78]。miR-128 通过靶向鳗 *TAB2* 调控了其介导的 NF- κ B 信号通路, 抑制了炎症细胞因子的表达^[79]。

作为 TLR 抗病毒通路中的重要接头分子 *TRIF* 基因也受到 miRNA 的调控, 发现 miR-15a-5p 通过靶向 *TRIF* 抑制宿主的抗病毒免疫反应, 促进了病毒的复制, 在此基础上进一步发现环状

RNA (*circDtx1*) 在鳗抗病毒免疫反应中发挥着重要的作用, 从机制上来讲, *circDtx1* 可以竞争性吸附 miR-15a-5p, 起到分子海绵的作用, 最终激活了 *TRIF* 介导的 NF- κ B 和 IRF3 信号通路, 从而增强了宿主的抗病毒免疫反应^[80]。

此外, 鱼类中与 TLR 通路相关的其他分子, 例如 *TLR7*、*JNK*、*TRIF*、*p38* 和 *TIRAP* 等, 也是多个 miRNAs (miR-217、miR-187、miR-455、miR-200b、miR-30a、miR-184 和 miR-143) 的预测靶基因, 但这些分子之间的确切靶向关系还有待进一步功能验证^[51, 81]。

综上所述, 鱼类 TLR 信号通路相关的一些关键分子受到某些 miRNAs 的调控, 从而在先天免疫应答中发挥了调控作用。这些研究表明, TLR 信号通路被激活后, miRNA 可以通过靶向关键信号分子, 能够在一定程度上适时地下调和/或终止 TLR 信号通路的激活^[82]。

2.3 鱼类 miRNAs 对 TLR 通路下游转录因子的调控

转录因子 (如 NF- κ B) 的激活是 TLR 通路实现免疫应答的关键步骤, miRNAs 可以通过直接靶向转录因子, 进而影响免疫应答的强度。研究发现, miRNA 在哺乳动物 TLR 信号通路中对转录因子的调控发挥了重要作用^[37], 在鱼类中已发现 miR-216a 可以通过直接靶向 *p65* 负调控 NF- κ B 信号通路, 从而抑制炎症反应的强度, 进一步发现 miR-216a 也可以靶向大黄鱼和斑马鱼的 *p65* 基因^[83]。在牙鲆中, *pol-miR-221-3p* 可以靶向调控 *p65*^[47]。*I κ B* 作为能抑制 NF- κ B 活性的一类分子^[84], 研究发现 miR-144 和 miR-122 是鳗 NF- κ B 抑制蛋白 α (*I κ B α*) 的调节因子, 通过靶向 *I κ B α* , 从而促进激活 NF- κ B 信号通路^[85-86]。此外, miR-30e 已被证明可以通过抑制鲤上皮瘤细胞 (EPC) 中的 *I κ B* 来调节 NF- κ B 信号通路, 进而激活免疫应答^[87]。

2.4 鱼类 miRNAs 对 TLR 信号通路下游细胞因子及其受体的调控

TLR 信号通路激活后产生促炎性细胞因子和趋化因子, 它们在病原体清除和招募免疫细胞的过程中发挥着重要的作用。大西洋鲑的环氧化酶 (*COX2*) 及 CC 趋化因子受体 3 (*CCR3*) 基因分别具有 miR-10b-19 及 miR-21-2 的预测靶位点, 在病原感染后的皮肤和头肾中, miRNA 与靶基因的表达量之间呈现负性相关关系, 初步说明 *COX2* 或

CCR3 基因的表达可能是由 miRNA 所调控的^[55]。牙鲆的 pol-miR-122、pol-miR-1788-5p、pol-miR-181c-5p 和 pol-miR-210-3p 可以靶向 *CCR3*^[54]；鳊 *CCR4* 是 miR-21 的预测靶基因^[59]。在团头鲂中，mam-miR-15a-3p 靶作用于 *CCR7*^[52]。牙鲆的 pol-miR-122、pol-miR-15b-5p 和 pol-miR-27b-5p 靶向 *CCR9*^[54]。大西洋鲑的 sas-miR-142-3p 靶作用于 *CCR9*^[57]。在斑点叉尾鲷中，ipu-miR-214 和 ipu-miR-7548 分别靶作用于 CXC 型趋化因子配体 12 (*CXCL12*) 和 CXC 型趋化因子配体 14 (*CXCL14*) 基因^[48, 64]。大西洋庸鲽的 miR-129a 和 miR-4448 可以靶作用于 *IL-6*^[88]。鳊 *IL-8* 基因被预测是 miR-21 的靶基因^[59]；在牙鲆中，pol-miR-133a-3p、pol-miR-133b-3p 和 pol-miR-1788-5p 可以靶向 *IL-8*^[54]；miR-1893 可以靶向大西洋庸鲽的 *IL-8* 基因^[88]。半滑舌鳎的 cse-miR-71c-5p 和 cse-miR-146a 分别靶向 *IL-10* 和 *IL-1 β* ^[89]。牙鲆的 pol-miR-107-5p 和 pol-miR-181c-5p 可以靶作用于 *IL-1 β* 基因^[47, 54]。此外，ipu-miR-126-5p 可以靶作用于斑点叉尾鲷的 *IL-1 β* 基因^[48]，miR-1957 可以靶向大西洋庸鲽的 *IL-1 β* 基因^[88]。miR-144、miR-132 和 miR-148 可以作为调控炎症反应的关键调控因子，通过靶向鳊 *IL-1 β* 抑制 LPS 诱导的 NF- κ B 信号通路激活^[90-92]。在团头鲂中，mam-novel-miR-41 和 mam-novel-miR-102 可以靶作用于 *IL-1R1*^[52]；miR-21 和 miR-192 通过靶向鳊 *IL-1R1* 负调控 NF- κ B 信号通路^[93-94]。

3 鱼类 miRNAs 对 RLR 信号通路的调控

RLR 家族成员包括视黄酸诱导基因蛋白 I (retinoic acid-inducible gene- I, *RIG- I*)、遗传学和生理实验室蛋白 2 (laboratory of genetics and physiology 2, *LGP2*) 和黑色素瘤分化相关基因 5 (melanoma differentiation-associated gene 5, *MDA5*)，它们是细胞质中识别病毒 RNA 的 RNA 解旋酶^[95]。目前，*RLRs* 已经在草鱼、斑马鱼和虹鳟等鱼类^[96-98]，鸟类^[99] 以及人^[100] 等物种中被鉴定和研究。无脊椎动物的长牡蛎 (*Crassostrea gigas*)^[101] 和脊索动物文昌鱼 (*Branchiostoma japonicum*)^[102] 中也发现了 *RLRs* 家族的同源基因，并且这些基因已被证明具有与脊椎动物类似的抗病毒功能^[103]。

RLR 受体家族的保守结构域包括 N 端串联半胱氨酸天冬氨酸酶激活和募集结构域 (CARD) (*LGP2* 除外)、中间端 DExD/HRNA 解旋酶结构域和 C 末端包含一抑制区结构域 (repressed domain, RD) (*MDA5* 除

外)^[104]。当配体被有效识别后，RLRs 与关键的适配器蛋白线粒体抗病毒信号蛋白 (mitochondrial antiviral-signaling protein, MAVS；也被称为 VISA、CARDIF 或 IPS-1) 相互作用，并促进下游干扰素调节因子 (interferon regulatory factor, IRF) 的激活和细胞因子的产生，从而发挥清除病毒的作用^[105-106]。*MAVS* 主要存在于过氧化物酶体膜和线粒体的外膜中^[107-108]，*MAVS* 包含一个 N 端 CARD 结构域 (主要负责与 *MDA5* 和 *RIG-I* 的 CARD 结构域的相互识别)，一个富含脯氨酸的中央结构域 (主要负责与下游各种靶标相互作用) 和一个 C 末端跨膜的 TM 结构域 (主要负责将 *MAVS* 易位到线粒体外膜)。*RIG-I* 和 *MDA5* 的 CARD 结构域与 *MAVS* 的 CARD 结构域相互作用^[109-110]，随后募集和激活下游信号分子，例如 TANK 结合激酶 1 (TANK-bindingkinase1, *TBK1*) 和 *IRF3* 及 *IRF7* 等，促进 *IRF3* 和 *IRF7* 的磷酸化，从而诱导 *IFN- I* 的产生^[105, 110]。而位于过氧化物酶体膜中的 *MAVS* 则被认为在病毒侵染的早期就参与了宿主快速触发干扰素的反应。具体来讲，就是当细胞受到病原感染时，识别病原的 *RIG-I* 或 *MDA5* 分子的 CARD 结构域，与 *MAVS* 的 CARD 结构域相互识别，随后募集 *TRAF6* 和 *TRAF3* 蛋白以激活 NF- κ B、*IRF3*、*IRF7* 等转录因子^[111]。随后 *IRF3* 和 *IRF7* 被磷酸化，然后转运到细胞核中，与干扰素刺激反应原件 (interferon stimulation reaction element, *ISRE*) 结合，最终触发 *IFN* 刺激的基因表达和 *IFN- I* 的产生^[110, 112]。*MDA5* 存在于所有的鱼类中，*LGP2* 在哺乳动物 RLR 信号通路激活中发挥了负调节作用，但在鱼类的抗病毒免疫反应中，*MDA5* 和 *LGP2* 可能独立发挥功能^[98, 113-114]。

RLR 信号通路在各种细胞的 RNA 病毒的识别及免疫应答过程中均发挥着重要作用^[5]。在配体被有效识别后，*MDA5* 和 *RIG-I* 会与关键的适配器蛋白 *MAVS* 相互作用并激活下游基因，促进炎症细胞因子和 *IFN* 的产生，从而发挥清除病毒的作用^[105-106]。为了实现机体适当强度的免疫反应，RLRs 信号通路受到多种调控方式和多个基因的密切调控。在哺乳动物中，越来越多的证据表明 miRNAs 能够参与调控 RLR 信号通路。例如 miR-125a-3p 已被证明可以调节系统性红斑狼疮 CD4⁺ T 细胞中 *MDA5* 的表达^[115]；miR-218 通过靶向 *RIG-I* 抑制 *IFN- I* 的产生，促进病毒免疫逃逸^[116]。

另外, RLR 受体也可以直接受到 miRNA 的调控^[4]。总之, miRNA 调控 RLR 信号通路参与细胞中许多重要的活动, 如参与 T 细胞非依赖性 B 细胞活化、细胞的增殖以及转移等^[117-118]。在鱼类中, miRNA 已被阐明在多个层次上发挥了调控 RLR 信号通路的作用 (表 2, 图 2)。

3.1 鱼类 miRNAs 对 RLR 受体的调控

MDA5 基因属于 RLR 家族的重要成员^[5], *MDA5* 识别病毒核酸成分后激活下游信号传递, 促进炎症细胞因子和 *IFN* 的产生^[95]。在鳊中, 通过生物信息学预测和双荧光素酶报告基因实验证

明了 miR-145-5p 和 miR-203 可以直接靶向 *MDA5* 基因^[119-120]。这表明鱼类 miRNA 可以通过直接靶向 RLR 受体分子来调控下游的信号通路。

3.2 鱼类 miRNAs 对 RLR 通路重要信号分子的调控

鱼类 miRNA 除了可以直接调控 RLR 受体分子的表达外, 还可以通过靶向 RLR 通路重要信号分子参与对该通路的调控。MAVS 作为抗病毒信号转导的适配器, 在 *RIG-I/MDA5* 对病毒感染的感知和下游信号转导之间架起了一个桥梁^[121]。在哺乳动物中, miR-22 和 miR-125a/b 参与调控了

表 2 鱼类 miRNA 调控 RIG-I 样受体信号通路的研究概况

Tab. 2 Overview of the regulation of RLR signaling pathway by miRNAs in fish

miRNAs 类型 miRNAs type	靶基因 target genes	物种 species	参考文献 reference
pol-miR-727-3p	遗传学和生理学实验室蛋白2(<i>LGP2</i>)	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[47]
miR-145-5p	黑色素瘤分化相关基因5(<i>MDA5</i>)	鳊 <i>M. miuy</i>	[119]
miR-203	<i>MDA5</i>	鳊 <i>M. miuy</i>	[120]
miR-3570	线粒体抗病毒信号蛋白(<i>MAVS</i>)	鳊 <i>M. miuy</i>	[121]
miR-3570	<i>MAVS</i>	斑马鱼 <i>D. rerio</i>	[121]
miR-3570	<i>MAVS</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[121]
miR-122	<i>MAVS</i>	鳊 <i>M. miuy</i>	[124]
miR-122	<i>MAVS</i>	斑马鱼 <i>D. rerio</i>	[124]
miR-122	<i>MAVS</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[124]
miR-21-3p	<i>MAVS</i>	鳊 <i>M. miuy</i>	[125]
miR-210	IFN 基因刺激因子(<i>STING</i>)	鳊 <i>M. miuy</i>	[128]
miR-210	<i>STING</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[128]
miR-210	<i>STING</i>	美国红鱼 <i>S. ocellatus</i>	[128]
miR-29a-3p	<i>STING</i>	鳊 <i>M. miuy</i>	[129]
miR-21-3p	<i>STING</i>	鳊 <i>M. miuy</i>	[130]
pol-miR-731	肿瘤抑制基因(<i>p53</i>)	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[131]
pol-miR-107-5p	干扰素调节因子3(<i>IRF3</i>)	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[47]
pol-miR-107-5p	干扰素调节因子7(<i>IRF7</i>)	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[47]
pol-miR-727-3p	<i>IRF7</i>	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[47]
pol-miR-301c	<i>IRF7</i>	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[47]
pol-miR-375	<i>IRF7</i>	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[54]
pol-miR-731	<i>IRF7</i>	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[131]
pol-miR-194a	<i>IRF7</i>	牙鲈 <i>P. olivaceus</i>	[132]
cse-miR-23a	信号传导转录激活因子1(<i>STAT1</i>)	半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i>	[89]
ipu-miR-126-5p	干扰素1(<i>IFN1</i>)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
miR-126-03	<i>IFN</i>	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	[55]
miR-210-3p	去泛素化酶A(<i>DUBA</i>)	鳊 <i>M. miuy</i>	[133]
miR-122	二羟基丙酮激酶(<i>DAK</i>)	鳊 <i>M. miuy</i>	[135]

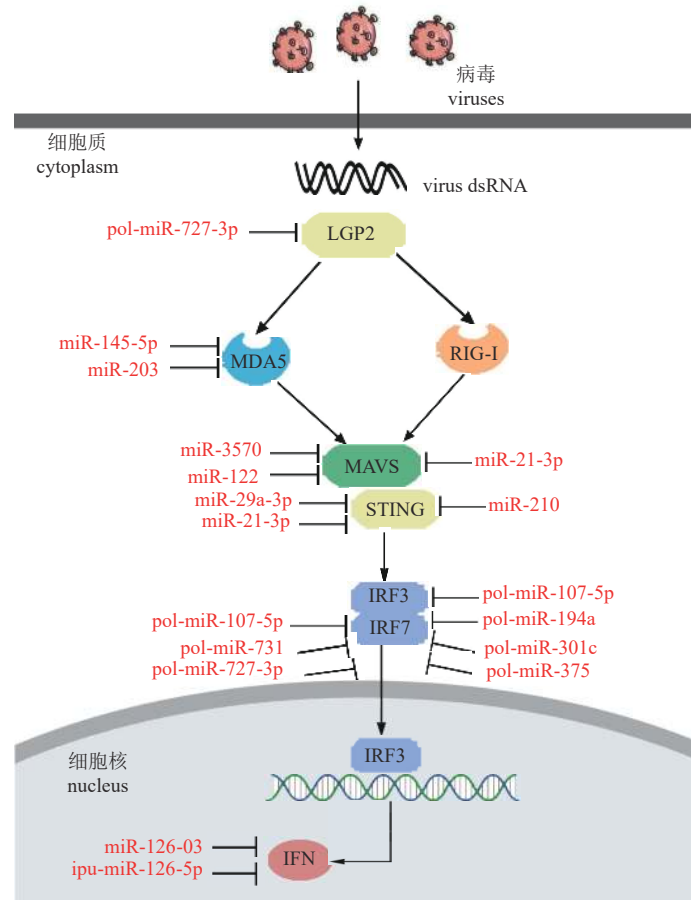


图 2 鱼类 miRNA 及其所调控的 RIG- I 样受体信号通路中的靶基因

Fig. 2 Schematic diagram of fish miRNAs and their target genes in RLR signaling pathway

MAVS 的表达及其介导的免疫反应, 其中 miR-125a/b 被证明参与病毒感染时对 *MAVS* 的调控^[122-123]。在鱼类中, miR-3570 与 SCR_V 诱导的抗病毒免疫应答相关, 是抑制 *IFN-I* 和抗病毒基因产生的负调控因子。具体来说, 鳊 miR-3570 靶向 *MAVS* 后在蛋白质和 mRNA 水平上负调控其表达, 进而负调控 NF-κB 和 IRF3 信号通路, 抑制 SCR_V 感染诱导的 IFN-I 和炎症细胞因子的表达, 从而促进病毒的复制^[121]。除了 miRNA, 还发现一个与鱼类 *MAVS* 抗病毒相关的长链非编码 RNA(*MARL*), 也是参与鱼类抗病毒免疫反应的调控因子, 具体研究发现 miR-122 通过靶向抑制鳊 *MAVS* 的表达后有助于病毒逃逸宿主的抗病毒免疫, 而 *MARL* 能够作为 miR-122 的竞争性内源性 RNA(ccRNA) 减弱了 miR-122 对 *MAVS* 的抑制并最终促进了 *MAVS* 的表达, 从而抑制 SCR_V 的复制并促进抗病毒免疫反应^[124]。此外, 研究表明环状 RNA(*circPIKfyve*) 也与鱼类抗病毒免疫反应有关, 进一步发现 *MAVS* 是 miR-21-3p 的直接靶点, 在转录后水平调控

MAVS 的表达, 而 *circPIKfyve* 可以竞争性吸附 miR-21-3p 起到分子海绵作用, 从而增加了 *MAVS* 的丰度, 激活下游 *MAVS* 介导的 NF-κB 和 IRF3 信号通路, 促进了宿主的抗病毒免疫反应^[125]。此外, 干扰素基因刺激蛋白 (stimulator of interferon genes, STING, 也被称为 MITA、ERIS 或 MYPS), 已被鉴定为参与机体的先天性抗病毒免疫反应的重要分子^[126]。哺乳动物的 miR-576-3p 能够靶向 *STING* 并调控机体的抗病毒免疫反应^[127]。在鱼类中发现 miR-210 是一种参与调节病毒与宿主相互作用的调控因子, 通过直接靶向 *STING* 在 SCR_V 感染时抑制 *STING* 的表达, 最终调控了 NF-κB、IRF3 和 JAK/STAT 信号通路, 抑制了 IFN-I 和炎症细胞因子的产生^[128]。还发现了另外一个参与鱼类抗病毒免疫反应的环状 RNA(*circSamd4a*), 在抑制 SCR_V 的病毒复制中发挥着关键性的作用, 进一步研究表明 *circSamd4a* 作为竞争性内源性 RNA 可以吸附 miR-29a-3p, 增强 *STING* 介导的 NF-κB 和 IRF3 信号通路, 从而促进宿主的抗病毒免疫反应

答^[129]。另外一个环状 RNA(*circRasGEF1B*) 也是促进鳃抗病毒免疫反应的关键调节因子, *circRasGEF1B* 作为 miR-21-3p 的竞争性内源性 RNA, 通过吸附 miR-21-3p, 减弱了 miRNA 对其靶标 *STING* 的抑制作用, 进而增强了宿主的抗病毒免疫反应^[130]。

3.3 鱼类 miRNAs 对 RLR 通路下游转录因子和细胞因子的调控

鱼类的 miRNA 还可以通过靶向转录因子参与对 RLR 通路的调控。在牙鲆中已经鉴定出很多 miRNA 可能参与了先天免疫应答和细胞凋亡等过程, 其中 pol-miR-731 在体内感染 3~5 d 时对病毒复制的促进作用最强, 进一步发现 pol-miR-731 直接靶向 *IRF7*, 从而抑制巨噬细胞中病毒触发的 *IFN-I* 的表达, 另外 pol-miR-731 也可以通过靶向 *p53*, 抑制机体的细胞凋亡和阻滞细胞周期^[131]。在牙鲆中, pol-miR-107-5p 可以靶向调控 *IRF3* 基因^[47]; pol-miR-194a 在迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染牙鲆的脾脏、肝脏和鳃中显著表达, 可显著增强爱德华氏菌在细胞内的复制, 进一步发现能够靶向 *IRF7* 后抑制 *IRF7* 的表达, 从而抑制了 *IFN-I* 的启动子活性^[132]。在牙鲆中还发现 pol-miR-107-5p、pol-miR-727-3p、pol-miR-301c 和 pol-miR-375 也可以靶向 *IRF7* 基因^[47, 54]。半滑舌鳎 *cse-miR-23a* 在迟缓爱德华氏菌的感染条件下, 表达量降低, 进一步研究发现, *cse-miR-23a* 可以靶向 *STAT1*^[89]。在鱼类中, miRNAs 除了可以通过靶向转录因子之外, 还可以通过靶向细胞因子参与调控 RLR 通路。例如, 在大西洋鲑中, miR-126-03 可以直接靶向 *IFN* 基因, 在病原感染条件下, miRNA 与 *IFN* 的表达量呈负相关^[55]。在斑点叉尾鲷中, 也证实了 ipu-miR-126-5p 可以直接靶向 *IFN1* 基因^[48]。

3.4 鱼类 miRNAs 对 RLR 通路中调节因子的调控

miRNAs 也可以通过靶向通路的调节因子, 进而间接调控 RLR 通路。去泛素化酶 A (deubiquitinating enzyme A, *DUBA*) 是 RLR 通路的重要调节因子, 可以与 *TRAF3* 结合并调控 *IFN-I* 的产生^[105]。鳃 miR-210 在病原体感染时, 通过靶向 *DUBA* 参与调控机体的免疫反应^[133]。二羟基丙酮激酶 (dihydroxyacetone kinase, *DAK*) 基因是 *MDA5* 的负调控因子, 通过与 *MDA5* 相互作用负调控抗

病毒反应^[134], 在鱼类中发现 miR-122 可以靶向作用鳃的 *DAK* 基因, 从而参与调控 RLR 信号通路^[135]。

3.5 鱼类 miRNAs 对病毒基因的调控

miRNA 除了能够靶向 RLR 通路相关分子之外, 还可以直接靶向病毒基因参与调控病毒的复制。在人巨噬细胞中, *VSV* 感染诱导了 miR-146a 的表达, miR-146a 通过靶向 *TRAF6*、*IRAK1* 和 *IRAK2*, 抑制了 *IFN-I* 的产生, 从而促进了 *VSV* 的复制^[136]。鱼类的 *SSN-1* 细胞在受到 *SHVV* 感染后抑制了 miR-214 的表达, 下调的 miR-214 增加了病毒 N 蛋白和 P 蛋白的表达, 减少了 *IFN-α* 的产生, 从而促进了 *SHVV* 的复制^[137], 这也为阐述 miRNA 调控鱼类病毒感染提供了新的见解。

4 鱼类 miRNAs 对 NLR 信号通路的调控

NLR 是一类重要的胞质模式识别受体, 在对病原的识别过程中起着重要的作用。迄今为止, 已在哺乳动物中鉴定出至少 22 个 NLR 家族成员, 包括 14 个 NALPs, 5 个 NLRA 亚家族成员 (*NOD1*、*NOD2*、*NOD3* (*NLRC3*)、*NOD4* (*NLRC5*) 和 *NOD5* (*NLRX1*) 和 3 个其他成员^[138]。作为 NLR 家族的主要成员, *NOD1* 和 *NOD2* 通过与下游关键互作蛋白 *RIPK2* (也被称为 *RIP2*、*RICK*、*CARDIAK* 或 *CARD3*) 相互识别后, 触发一系列的信号级联反应, 从而激活 *NF-κB* 转录因子, 促进炎症细胞因子的产生, 发挥抗细菌免疫和抗病毒免疫的作用^[139-140]。另外, NLR 家族的其他基因参与了炎症小体的激活和组装^[141]。在哺乳动物中, miR-223 通过靶向 *NLRP3* 基因, 从而抑制炎症小体中 *IL-1β* 的产生^[142]。

NOD1 基因已在斑马鱼^[143]、牙鲆^[144]、虹鳟^[145]、石斑鱼^[146]和鳃^[139]等多种鱼类中被报道。*NOD1* 基因作为一种细胞内受体, 在哺乳动物和鱼类中均存在, 在鱼类中发现 *NOD1* 能够识别革兰氏阴性菌和 LPS^[10, 147]。鱼类 miRNA 也在不同层面上参与调控 NLR 信号通路 (表 3, 图 3)。研究发现 miR-144 和 miR-217 可以靶作用于鳃 *NOD1* 基因, 并在 LPS 刺激下调 *NOD1* 基因的表达, 抑制 LPS 诱导的炎症细胞因子的表达, 从而避免过度的炎症反应^[11]。鳃 miR-217-5p 可以通过靶向 *NOD1* 并抑制其表达, 从而抑制其介导的 *NF-κB* 和 *IRF3* 信号通路, 进一步发现 *NOD1* 相关的长链非编码 RNA (*NARL*), 作为 miR-217-5p 的竞争性

表 3 鱼类 miRNA 调控 NOD 样受体信号通路的研究概况

Tab. 3 Overview of the regulation of NLR signaling pathway by miRNAs in fish

miRNAs类型 miRNAs type	靶基因 target genes	物种 species	参考文献 reference
miR-144	含核苷酸结合寡聚化域蛋白1(NOD1)	鳊 <i>M. miituy</i>	[11]
miR-144	<i>NOD1</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[11]
miR-144	<i>NOD1</i>	双棘黄姑鱼 <i>N. diacanthus</i>	[11]
miR-217	<i>NOD1</i>	鳊 <i>M. miituy</i>	[11]
miR-217	<i>NOD1</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[11]
miR-217	<i>NOD1</i>	双棘黄姑鱼 <i>N. diacanthus</i>	[11]
miR-217-5p	<i>NOD1</i>	鳊 <i>M. miituy</i>	[12]
ipu-miR-142-3p	<i>NOD1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
ipu-miR-29a	<i>NOD1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-16c	<i>NOD1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-129b	<i>NOD1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7557	<i>NOD1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7571	<i>NOD1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
miR-1	<i>NOD1</i>	鳊 <i>M. miituy</i>	[139]
miR-130-3p	<i>NOD1</i>	鳊 <i>M. miituy</i>	[148]
ipu-miR-293	含核苷酸结合寡聚化域蛋白2(NOD2)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
miR-199-3-3p	<i>NOD2</i>	鳊 <i>M. miituy</i>	[139]
ipu-miR-24b	含半胱天冬酶激活和募集域结构域5(NLRC5)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-101a	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-3618	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7547	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7556	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7559	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7564	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7567	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-miR-7574	<i>NLRC5</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
ipu-let-7a	NOD样受体家族蛋白X1(NLRX1)	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[48]
ipu-miR-7559	<i>NLRX1</i>	斑点叉尾鲷 <i>I. punctatus</i>	[64]
miR-210	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶2(RIPK2)	鳊 <i>M. miituy</i>	[149]
miR-210	<i>RIPK2</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[149]
miR-3570	<i>RIPK2</i>	鳊 <i>M. miituy</i>	[149]
miR-3570	<i>RIPK2</i>	大黄鱼 <i>L. crocea</i>	[149]

内源性 RNA, 通过与 miR-217-5p 结合, 减弱了 miR-217-5p 对其靶标基因 *NOD1* 的负调控作用, 进而增强了宿主的抗病毒和抗细菌免疫反应^[12]。还发现 miR-130-3p 通过靶向 *NOD1* 后抑制了宿主的抗细菌免疫反应, 进一步发现环状 RNA (circRNA217) 可以作为 *NOD1* 的竞争性内源性 RNA, 竞争性吸附 miR-130-3p 起到分子海绵的作用, 从而激活 *NOD1* 介导的 NF- κ B 信号通路, 增强宿主

的抗细菌免疫应答^[148]。在斑点叉尾鲷中, ipu-miR-142-3p、ipu-miR-29a、ipu-miR-16c、ipu-miR-129b、ipu-miR-7571 和 ipu-miR-7557 靶向 *NOD1* 基因^[48,66]。利用生物信息学预测, miR-1 和 miR-199-3-3p 可能靶向鳊的 *NOD1* 和 *NOD2* 基因^[139], 而 ipu-miR-293 可能靶向斑点叉尾鲷的 *NOD2* 基因^[48]。斑点叉尾鲷的 *NLRC5* 是 ipu-miR-24b、ipu-miR-101a、ipu-miR-3618、ipu-miR-7547、ipu-miR-7556、ipu-

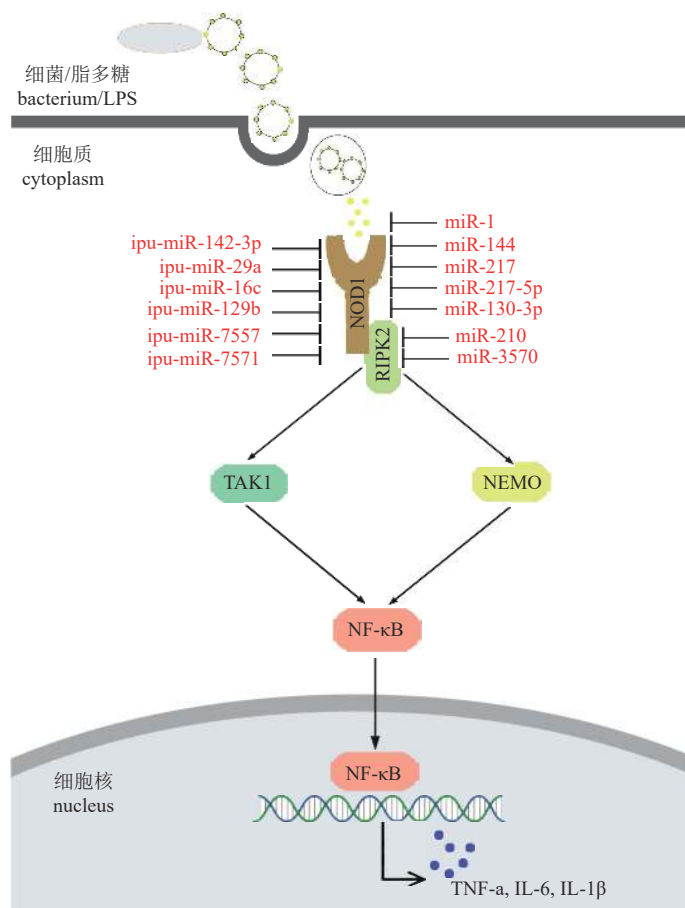


图3 鱼类 miRNA 及其所调控的 NOD 样受体信号通路中的靶标基因

Fig. 3 Schematic diagram of fish miRNAs and their target genes in NLR signaling pathway

miR-7559、ipu-miR-7564、ipu-miR-7567和 ipu-miR-7574 的靶基因^[64]。此外，ipu-let-7a 和 ipu-miR-7559 可以靶向斑点叉尾鲷的 *NLRX1* 基因^[48, 64]。miR-210 和 miR-3570 可以通过靶向鳊 *RIPK2*，从而负调控 *NOD1* 通路^[149]。鳊的 *RIP1* 被预测是 miR-200b-3p 的靶基因，*NLRX1* 也是多个 miRNAs (miR-155、miR-727-3p 和 miR-737-3p) 的预测靶基因，但是这些分子之间的确切靶向关系还有待验证^[81]。

5 总结及展望

近十年来，关于 miRNAs 在鱼类中的研究已取得了很大进展，在很多种鱼类中发现了几千种 miRNA。随着 miRNA 的研究继续深入，相信会有越来越多的鱼类 miRNA 被鉴定出来，也会有更多的 mRNA 功能机制被阐释。迄今为止，对参与鱼类免疫应答的 miRNA 类型和特征已经有了较为清晰的认识，也拓宽了对鱼类非编码基因类型和功能的认识。本文对鱼类 miRNA 与先天免疫之间调控关系以及它们在 TLR、RLR 和 NLR 信号通

路调控中的作用进行了全面的概述。

对鱼类先天免疫相关的 miRNAs 的鉴定主要是基于高通量测序和生物信息学预测。高通量测序作为一个强大的技术手段，可以直接反映 miRNA 的丰度和相对表达量。利用高通量测序，在不同的鱼类中开展了很多项关于 miRNAs 在先天免疫应答中的功能研究，从而获得了不同类型的 miRNAs 和表达谱。鉴于 miRNAs 对靶基因的识别是了解 miRNAs 调控作用的有效途径，一般首先是通过生物信息学对 miRNA 及其靶基因的互作关系进行预测。通过生物信息学预测软件，许多 miRNAs 的靶基因可以被预测出来，但是在经过实验验证后，并不是所有的 miRNAs 都可以调控所预测的靶基因。因此，实验验证是研究 miRNA 及其靶基因的重要步骤，利用双荧光素酶报告基因检测以及蛋白质免疫印迹等实验方法对预测出的靶基因进行验证是其中最重要的技术手段^[47, 131, 137, 150]。目前对于 miRNAs 调控靶基因分子机制及其对信号通路影响的研究还比较少，因

此, 在鱼类 miRNA 研究中, 在分子水平上积极开展靶基因的实验验证和互作调控机制的研究, 是非常有必要的。目前, 鱼类 miRNA 的研究还存在着细胞系等实验材料的限制以及实验技术存在瓶颈等问题, 但由于 miRNA 在鱼类各项生命活动中发挥着重要作用, 科研工作者对 miRNA 的研究仍然抱有很高的热情。

在哺乳动物中, miRNA 可以同时靶向多个 mRNA 以调节基因表达, 这种方式被称为 *targetome*, 最终一个 miRNA 可能通过直接或间接的作用微调数千个基因的蛋白表达^[151]。也已被证明某些重要的 miRNAs 不仅可以调控同一信号通路中的多个靶基因, 甚至可以同时调控多个信号通路中的多个靶基因。例如, miR-21 同时靶向 *MyD88* 和 *IRAK1*, 这有助于加强 miR-21 在 TLR 信号通路中的负调控功能^[152]。miR-146a 可以通过靶向 *IRAK1*、*IRAK2* 和 *TRAF6*, 从而抑制 *IFN- γ* 的产生, 最终促进 VSV 复制^[136]。在鱼类中也发现了类似的调控机制, 同一个 miRNA 调控多个靶基因, 甚至调控多个不同信号通路的靶基因, 丰度一定的 miRNA 如何选择调控靶基因的^[153]、在调控顺序上是具有优先级还是同等强度、在什么条件下选择调控哪个靶基因, 这应该是研究者需要关注的方向。

在哺乳动物中, 多个 miRNA 也可以同时靶向一个重要的基因。例如, miR-146a-5p 和 miR-146b-5p 能够同时靶向 *TRAF6* 来抑制复发性自然流产中滋养细胞的迁移和侵袭^[154]。miR-22 和 miR-125a/b 参与调控 *MAVS* 的表达及其所介导的免疫反应^[122-123]。miR-192 可以调控结肠上皮 HCT116 细胞中 *NOD2* 的表达^[155]。PPAR γ 调节的 miR-125a 靶向 *NOD1* 并调节 *NOD1* 介导的血管生成^[156]。在对鱼类 miRNA 参与先天免疫的研究中, 也发现了类似的调控机制。有如此多的 miRNA 共同参与调控同一个重要的靶基因, 哪些 miRNA 是主要的调控分子、在什么条件下选择哪些 miRNA 来发挥调控作用, 是需要关注的科学问题。因此在后续鱼类 miRNA 研究中, 深入了解多个 miRNA 协同调控的同一个靶基因的分子选择机制是需要关注的研究目标。

与哺乳动物相比, 当前鱼类 miRNA 研究受到一些实验技术和实验材料的限制。受限和不足之处也体现在以下几个方面: ①由于在大多数鱼类中缺乏能够稳定转染的细胞系, 在鱼类 miRNA

研究中, 很多报道都是利用 HEK293、HEK293T 和 HeLa 等哺乳动物的工具细胞系进行研究, 这本身就是一种不足; ②在鱼类 miRNA 的细胞转染和体内递送过程中缺乏稳定可靠的技术手段也限制了 miRNA 的研究层次; ③大部分经济鱼类的生殖周期较长, 以及胚胎细胞的操作技术不成熟, 在绝大部分经济鱼类中仍难以有效实施基因编辑技术, 这也限制了 miRNA 的研究深度。这些技术和材料上的不足不仅限制了 miRNA 的研究, 也限制了鱼类免疫学其他研究领域。尽管存在这样或那样的不足和障碍, 但由于 miRNA 在鱼类先天免疫中的重要作用, 有理由相信以 miRNA 为代表的非编码 RNA 一定会在鱼类的分子抗病育种及疾病防控中大放光彩。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system[J]. *Science*, 2010, 327(5963): 291-295.
- [2] Zhang J R, Liu S K, Rajendran K V, *et al.* Pathogen recognition receptors in channel catfish: III phylogeny and expression analysis of Toll-like receptors[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2013, 40(2): 185-194.
- [3] 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.
- [4] O'Neill L A, Bowie A G. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2007, 7(5): 353-364.
- [5] Takeuchi O, Akira S. MDA5/RIG-I and virus recognition[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2008, 20(1): 17-22.
- [6] Chang M X, Xiong F, Wu X M, *et al.* The expanding and function of NLRC3 or NLRC3-like in teleost fish: recent advances and novel insights[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 114: 103859.
- [7] Chen W Q, Xu Q Q, Chang M X, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of nuclear oligomerization domain proteins NOD1 and NOD2 in grass carp *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Fish & Shellfish*

- Immunology, 2010, 28(1): 18-29.
- [8] Zou P F, Chang M X, Li Y, *et al.* NOD2 in zebrafish functions in antibacterial and also antiviral responses via NF- κ B, and also MDA5, RIG-I and MAVS[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 55: 173-185.
- [9] Bi D K, Wang Y, Gao Y H, *et al.* Recognition of lipopolysaccharide and activation of NF- κ B by cytosolic sensor NOD1 in teleost fish[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1413.
- [10] Chu Q, Bi D K, Zheng W W, *et al.* MicroRNA negatively regulates NF- κ B-mediated immune responses by targeting NOD1 in the teleost fish *Miichthys miiuy*[J]. *Science China Life Sciences*, 2021, 64(5): 803-815.
- [11] Zheng W W, Chu Q, Xu T J. The long noncoding RNA NARL regulates immune responses via microRNA-mediated NOD1 downregulation in teleost fish[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 296: 100414.
- [12] 杨芸宁, 徐媛媛, 龙珊, 等. C型凝集素受体在肿瘤免疫作用中的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(9): 1139-1142.
- Yang Y N, Xu Y Y, Long S, *et al.* Research progress of C-type lectin receptor in tumor immunity[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2019, 35(9): 1139-1142 (in Chinese).
- [13] Bizuayehu T T, Babiak I. MicroRNA in teleost fish[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2014, 6(8): 1911-1937.
- [14] 李文笙, 王东方. 鱼类microRNA研究进展[J]. *水产学报*, 2017, 41(4): 628-639.
- Li W S, Wang D F. A review of microRNA research in fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(4): 628-639 (in Chinese).
- [15] Andreassen R, Rangnes F, Sivertsen M, *et al.* Discovery of miRNAs and their corresponding miRNA genes in Atlantic cod (*Gadus morhua*): use of stable miRNAs as reference genes reveals subgroups of miRNAs that are highly expressed in particular organs[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153324.
- [16] Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- [17] Reinhart B J, Slack F J, Basson M, *et al.* The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 901-906.
- [18] Karlsen T A, Brinchmann J E. Liposome delivery of microRNA-145 to mesenchymal stem cells leads to immunological off-target effects mediated by RIG-I[J]. *Molecular Therapy*, 2013, 21(6): 1169-1181.
- [19] Zhao L Z, Zhu J P, Zhou H B, *et al.* Identification of cellular microRNA-136 as a dual regulator of RIG-I-mediated innate immunity that antagonizes H5N1 IAV replication in A549 cells[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14991.
- [20] Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20(2): 137-151.
- [21] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, *et al.* Identification of novel genes coding for small expressed RNAs[J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858.
- [22] Lim L P, Glasner M E, Yekta S, *et al.* Vertebrate microRNA genes[J]. *Science*, 2003, 299(5612): 1540.
- [23] Lee Y, Kim M, Han J J, *et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. *The EMBO Journal*, 2004, 23(20): 4051-4060.
- [24] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. *Cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- [25] Filipowicz W, Bhattacharyya S N, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight?[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2008, 9(2): 102-114.
- [26] Winter J, Jung S, Keller S, *et al.* Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation[J]. *Nature Cell Biology*, 2009, 11(3): 228-234.
- [27] Guo H L, Ingolia N T, Weissman J S, *et al.* Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels[J]. *Nature*, 2010, 466(7308): 835-840.
- [28] Friedman R C, Farh K K H, Burge C B, *et al.* Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs[J]. *Genome Research*, 2009, 19(1): 92-105.
- [29] Baltimore D, Boldin M P, O'Connell R M, *et al.* MicroRNAs: new regulators of immune cell development and function[J]. *Nature Immunology*, 2008, 9(8): 839-845.
- [30] Xiao C C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles[J]. *Cell*, 2009, 136(1): 26-36.
- [31] Akira S, Yamamoto M, Takeda K. Role of adapters in

- Toll-like receptor signalling[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2003, 31(3): 637-642.
- [32] Suzuki N, Suzuki S, Yeh W C. IRAK-4 as the central TIR signaling mediator in innate immunity[J]. *Trends in Immunology*, 2002, 23(10): 503-506.
- [33] Janssens S, Beyaert R. Functional diversity and regulation of different interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) family members[J]. *Molecular Cell*, 2003, 11(2): 293-302.
- [34] Leulier F, Lemaitre B. Toll-like receptors-taking an evolutionary approach[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2008, 9(3): 165-178.
- [35] Lang C H, Silvis C, Deshpande N, *et al.* Endotoxin stimulates *in vivo* expression of inflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 β , -6, and high-mobility-group protein-1 in skeletal muscle[J]. *Shock*, 2003, 19(6): 538-546.
- [36] Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2009, 9(1): 57-63.
- [37] Hu G K, Zhou R, Liu J, *et al.* MicroRNA-98 and let-7 confer cholangiocyte expression of cytokine-inducible Src homology 2-containing protein in response to microbial challenge[J]. *The Journal of Immunology*, 2009, 183(3): 1617-1624.
- [38] Androulidaki A, Iliopoulos D, Arranz A, *et al.* The kinase Akt1 controls macrophage response to lipopolysaccharide by regulating microRNAs[J]. *Immunity*, 2009, 31(2): 220-231.
- [39] Taganov K D, Boldin M P, Chang K J, *et al.* NF- κ B-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(33): 12481-12486.
- [40] Ma X D, Becker Buscaglia L E, Barker J R, *et al.* MicroRNAs in NF- κ B signaling[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2011, 3(3): 159-166.
- [41] McCoy C E, Sheedy F J, Qualls J E, *et al.* IL-10 inhibits miR-155 induction by Toll-like receptors[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(27): 20492-20498.
- [42] Rebl A, Goldammer T, Seyfert H M. Toll-like receptor signaling in bony fish[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2010, 134(3-4): 139-150.
- [43] Zhang J, Kong X H, Zhou C J, *et al.* Toll-like receptor recognition of bacteria in fish: ligand specificity and signal pathways[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 41(2): 380-388.
- [44] Rauta P R, Samanta M, Dash H R, *et al.* Toll-like receptors (TLRs) in aquatic animals: signaling pathways, expressions and immune responses[J]. *Immunology Letters*, 2014, 158(1-2): 14-24.
- [45] Wang Y J, Xu G L, Han J J, *et al.* miR-200a-3p regulates TLR1 expression in bacterial challenged miyu croaker[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2016, 63: 181-186.
- [46] Chu Q, Sun Y N, Bi D K, *et al.* Up-regulated of miR-8159-5p and miR-217-5p by LPS stimulation negatively co-regulate TLR1 in miyu croaker[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 67: 117-125.
- [47] Zhang B C, Zhang J, Sun L. In-depth profiling and analysis of host and viral microRNAs in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) infected with megalocytivirus reveal involvement of microRNAs in host-virus interaction in teleost fish[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 878.
- [48] Barozai M Y K. The MicroRNAs and their targets in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*)[J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(9): 8867-8872.
- [49] Xu X Y, Shen Y B, Fu J J, *et al.* MicroRNA-induced negative regulation of TLR-5 in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 18595.
- [50] He L G, Zhao M, Yu X, *et al.* MicroRNA-182-3p negatively regulates cytokines expression by targeting TLR5M in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 93: 589-596.
- [51] Xu G L, Han J J, Xu T J. Comparative analysis of the small RNA transcriptomes of miyu croaker revealed microRNA-mediated regulation of TLR signaling pathway response to *Vibrio anguillarum* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 52: 248-257.
- [52] Jiang Y H, Tang L L, Zhang F Y, *et al.* Identification and characterization of immune-related microRNAs in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 49: 470-492.
- [53] Su J J, Su J G, Shang X Y, *et al.* SNP detection of

- TLR8* gene, association study with susceptibility/resistance to GCRV and regulation on mRNA expression in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 43(1): 1-12.
- [54] Najib A, Kim M S, Choi S H, *et al.* Changes in microRNAs expression profile of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in response to viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 51: 384-391.
- [55] Valenzuela-Muñoz V, Novoa B, Figueras A, *et al.* Modulation of Atlantic salmon miRNome response to sea louse infestation[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 76: 380-391.
- [56] Cui J X, Gao Y H, Chu Q, *et al.* miRNA-8159 is involved in TLR signaling pathway regulation after pathogen infection by direct targeting TLR13 in miuiy croaker[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 66: 531-539.
- [57] Barozai M Y K. Identification and characterization of the microRNAs and their targets in *Salmo salar*[J]. *Gene*, 2012, 499(1): 163-168.
- [58] Cui J X, Chu Q, Xu T J. miR-122 involved in the regulation of toll-like receptor signaling pathway after *Vibrio anguillarum* infection by targeting TLR14 in miuiy croaker[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 58: 67-72.
- [59] Bi D K, Cui J X, Chu Q, *et al.* MicroRNA-21 contributes to suppress cytokines production by targeting TLR28 in teleost fish[J]. *Molecular Immunology*, 2017, 83: 107-114.
- [60] Chu Q, Sun Y N, Cui J X, *et al.* MicroRNA-3570 modulates the NF-κB pathway in teleost fish by targeting MyD88[J]. *The Journal of Immunology*, 2017, 198(8): 3274-3282.
- [61] Chu Q, Sun Y N, Cui J X, *et al.* Inducible microRNA-214 contributes to the suppression of NF-κB-mediated inflammatory response via targeting *myd88* gene in fish[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(13): 5282-5290.
- [62] Chu Q, Gao Y H, Bi D K, *et al.* MicroRNA-148 as a negative regulator of the common TLR adaptor mediates inflammatory response in teleost fish[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 4124.
- [63] Zhao X Y, Chu Q, Cui J X, *et al.* microRNA-19a as a negative regulator in TLR signaling pathway by direct targeting myeloid differentiation factor 88 in miuiy croaker[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 87: 171-175.
- [64] Xu Z Q, Chen J P, Li X G, *et al.* Identification and characterization of microRNAs in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) by using Solexa sequencing technology[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54174.
- [65] Chang R J, Zheng W W, Sun Y N, *et al.* microRNA-1388-5p inhibits NF-κB signaling pathway in miuiy croaker through targeting IRAK1[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 119: 104025.
- [66] Chang R J, Zheng W W, Luo Q, *et al.* miR-148-1-5p modulates NF-κB signaling pathway by targeting IRAK1 in miuiy croaker (*Miichthys miuiy*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 125: 104229.
- [67] Chu Q, Yan X L, Liu L H, *et al.* The inducible microRNA-21 negatively modulates the inflammatory response in teleost fish via targeting IRAK4[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1623.
- [68] Xu T J, Chu Q, Cui J X, *et al.* The inducible microRNA-203 in fish represses the inflammatory responses to Gram-negative bacteria by targeting IL-1 receptor-associated kinase 4[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(4): 1386-1396.
- [69] Zheng W W, Chu Q, Xu T J. Long noncoding RNA IRL regulates NF-κB-mediated immune responses through suppression of miR-27c-3p-dependent IRAK4 downregulation in teleost fish[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 296: 100304.
- [70] Chung J Y, Park Y C, Ye H, *et al.* All TRAFs are not created equal: common and distinct molecular mechanisms of TRAF-mediated signal transduction[J]. *Journal of Cell Science*, 2002, 115(4): 679-688.
- [71] Gao W Y, Chang R J, Sun Y N, *et al.* MicroRNA-2187 modulates the NF-κB and IRF3 pathway in teleost fish by targeting TRAF6[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 647202.
- [72] Gao W Y, Zheng W W, Sun Y N, *et al.* microRNA-489 negatively modulates RIG-I signaling pathway via targeting TRAF6 in miuiy croaker after poly(I: C) stimulation[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 113: 61-68.

- [73] Cui J X, Gu L P, Zhong L C, *et al.* microRNA-20-1 and microRNA-101a suppress the NF- κ B-mediated inflammation production by targeting TRAF6 in miiuy croaker[J]. *Infection and Immunity*, 2022, 90(1): e0058521.
- [74] Ni S W, Yu Y P, Wei J G, *et al.* MicroRNA-146a promotes red spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV) replication by targeting TRAF6 in orange spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 72: 9-13.
- [75] Du Y T, Yu J J, Huang G, *et al.* Regulation of TRAF6s by MicroRNA-146a in zebrafish embryos after exposure to Di(2-Ethylhexyl) phthalate at different concentrations[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2021, 34(11): 2261-2272.
- [76] Zheng W W, Sun L P, Yang L Y, *et al.* The circular RNA circBCL2L1 regulates innate immune responses via microRNA-mediated downregulation of TRAF6 in teleost fish[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 297(4): 101199.
- [77] Zhang L, Chu Q, Chang R J, *et al.* Inducible microRNA-217 inhibits NF- κ B and IRF3-driven immune responses in lower vertebrates through targeting TAK1[J]. *The Journal of Immunology*, 2020, 205(6): 1620-1632.
- [78] Zheng W W, Chang R J, Luo Q, *et al.* The long non-coding RNA MIR122HG is a precursor for miR-122-5p and negatively regulates the TAK1-induced innate immune response in teleost fish[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2022, 298(4): 101773.
- [79] Ren X M, Cui J X, Xu T J, *et al.* microRNA-128 inhibits the inflammatory responses by targeting TAB2 in miiuy croaker, *Miichthys miiuy*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 117: 103976.
- [80] Zheng W W, Chu Q, Yang L Y, *et al.* Circular RNA circDtx1 regulates IRF3-mediated antiviral immune responses through suppression of miR-15a-5p-dependent TRIF downregulation in teleost fish[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(3): e1009438.
- [81] Han J J, Xu G L, Xu T J. The miiuy croaker microRNA transcriptome and microRNA regulation of RIG-I like receptor signaling pathway after poly(I: C) stimulation[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 419-426.
- [82] Chu Q, Xu T J. MicroRNA regulation of Toll-like receptor, RIG-I-like receptor and Nod-like receptor pathways in teleost fish[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(4): 2177-2193.
- [83] Xu T J, Chu Q, Cui J X, *et al.* MicroRNA-216a inhibits NF- κ B-mediated inflammatory cytokine production in teleost fish by modulating p65[J]. *Infection and Immunity*, 2018, 86(6): e00256-18.
- [84] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF- κ B signaling[J]. *Cell*, 2008, 132(3): 344-362.
- [85] Yang L Y, Zheng W W, Lv X, *et al.* microRNA-144 modulates the NF- κ B pathway in miiuy croaker (*Miichthys miiuy*) by targeting I κ B α gene[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2022, 130: 104359.
- [86] Yang L Y, Zheng W W, Xin S Y, *et al.* microRNA-122 regulates NF- κ B signaling pathway by targeting I κ B α in miiuy croaker, *Miichthys miiuy*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 122: 345-351.
- [87] Kwak J S, Kim M S, Kim K H. Generation of microRNA-30e-producing recombinant viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) and its effect on *in vitro* immune responses[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 94: 381-388.
- [88] Bizuayehu T T, Fernandes J M O, Johansen S D, *et al.* Characterization of novel precursor miRNAs using next generation sequencing and prediction of miRNA targets in Atlantic halibut[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61378.
- [89] Hu Y H, Zhang B C, Zhou H Z, *et al.* *Edwardsiella tarda*-induced miRNAs in a teleost host: global profile and role in bacterial infection as revealed by integrative miRNA-mRNA analysis[J]. *Virulence*, 2017, 8(7): 1457-1464.
- [90] Yan X L, Cui J X, Liu X Z, *et al.* microRNA-144 regulates the NF- κ B signaling in miiuy croaker via targeting IL1 β [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2019, 96: 47-50.
- [91] Dong W J, Gao W Y, Yan X L, *et al.* microRNA-132 as a negative regulator in NF- κ B signaling pathway via targeting IL-1 β in miiuy croaker[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 122: 104113.
- [92] Dong W J, Gao W Y, Cui J X, *et al.* microRNA-148 is involved in NF- κ B signaling pathway regulation after LPS stimulation by targeting IL-1 β in miiuy croaker[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 118: 66-71.

- [93] Zhang L, Chu Q, Liu X Z, *et al.* microRNA-21 negatively regulates NF- κ B signaling pathway via targeting IL1R1 in miiuy croaker[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 105: 103578.
- [94] Chu Q, Xu T J. miR-192 targeting IL-1RI regulates the immune response in miiuy croaker after pathogen infection *in vitro* and *in vivo*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 537-543.
- [95] Kato H, Takahasi K, Fujita T. RIG-I-like receptors: cytoplasmic sensors for non-self RNA[J]. *Immunological Reviews*, 2011, 243(1): 91-98.
- [96] Yang C R, Su J G, Huang T, *et al.* Identification of a retinoic acid-inducible gene I from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and expression analysis *in vivo* and *in vitro*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30(3): 936-943.
- [97] Nie L, Zhang Y S, Dong W R, *et al.* Involvement of zebrafish RIG-I in NF- κ B and IFN signaling pathways: insights into functional conservation of RIG-I in antiviral innate immunity[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 48(1): 95-101.
- [98] Chang M X, Collet B, Nie P, *et al.* Expression and functional characterization of the RIG-I-like receptors MDA5 and LGP2 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(16): 8403-8412.
- [99] Jiao P R, Wei L M, Song Y F, *et al.* Molecular cloning and immune responsive expression of LGP2 gene, a pivotal member of the RLR gene family from muscovy duck *Cairina moschata*[J]. *Poultry Science*, 2015, 94(6): 1170-1176.
- [100] Wang M Q, Huang Y L, Huang J, *et al.* RIG-I detects HIV-1 infection and mediates type I interferon response in human macrophages from patients with HIV-1-associated neurocognitive disorders[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(4): 13799-13811.
- [101] Zhang Y, Yu F, Li J, *et al.* The first invertebrate RIG-I-like receptor (RLR) homolog gene in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 40(2): 466-471.
- [102] Liu S S, Liu Y Y, Yang S S, *et al.* Evolutionary conservation of molecular structure and antiviral function of a viral receptor, LGP2, in amphioxus *Branchiostoma japonicum*[J]. *European Journal of Immunology*, 2015, 45(12): 3404-3416.
- [103] 李娜, 高丽丽, 郑康, 等. RIG- I 的基因结构、进化及功能[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(10): 1736-1744.
- Li N, Gao L L, Zheng K, *et al.* Gene structure, evolution and function of RIG- I [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2018, 40(10): 1736-1744 (in Chinese).
- [104] Yoneyama M, Kikuchi M, Matsumoto K, *et al.* Shared and unique functions of the DExD/H-box helicases RIG-I, MDA5, and LGP2 in antiviral innate immunity[J]. *The Journal of Immunology*, 2005, 175(5): 2851-2858.
- [105] Kawai T, Takahashi K, Sato S, *et al.* IPS-1, an adaptor triggering RIG- I - and Mda5-mediated type I interferon induction[J]. *Nature Immunology*, 2005, 6(10): 981-988.
- [106] Besch R, Poeck H, Hohenauer T, *et al.* Proapoptotic signaling induced by RIG- I and MDA-5 results in type I interferon -independent apoptosis in human melanoma cells[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2009, 119(8): 2399-2411.
- [107] Seth R B, Sun L J, Ea C K, *et al.* Identification and characterization of MAVS, a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- κ B and IRF3[J]. *Cell*, 2005, 122(5): 669-682.
- [108] Dixit E, Boulant S, Zhang Y J, *et al.* Peroxisomes are signaling platforms for antiviral innate immunity[J]. *Cell*, 2010, 141(4): 668-681.
- [109] Johnson C L, Gale Jr M. CARD games between virus and host get a new player[J]. *Trends in Immunology*, 2006, 27(1): 1-4.
- [110] Xu L G, Wang Y Y, Han K J, *et al.* VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN- β signaling[J]. *Molecular Cell*, 2005, 19(6): 727-740.
- [111] Scott I. The role of mitochondria in the mammalian antiviral defense system[J]. *Mitochondrion*, 2010, 10(4): 316-320.
- [112] Honda K, Taniguchi T. IRFs: Master regulators of signalling by Toll-like receptors and cytosolic pattern-recognition receptors[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2006, 6(9): 644-658.
- [113] Rothenfusser S, Goutagny N, Diperna G, *et al.* The RNA helicase Lgp2 inhibits TLR-independent sensing of viral replication by retinoic acid-inducible gene-I[J]. *The Journal of Immunology*, 2005, 175(8): 5260-5268.

- [114] Satoh T, Kato H, Kumagai Y, *et al.* LGP2 is a positive regulator of RIG-I –and MDA5-mediated antiviral responses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(4): 1512-1517.
- [115] Zhang C Z, Zhang C, Ji J, *et al.* Hsa_circ_0012919 regulates expression of MDA5 by miR-125a-3p in CD4⁺ T cells of systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2020, 29(7): 727-734.
- [116] Qiu Y L, Geng X X, Ban J D, *et al.* MicroRNA-218 inhibits type I interferon production and facilitates virus immune evasion via targeting RIG- I [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2020, 67(3): 396-403.
- [117] Zhang N N, Shen S H, Jiang L J, *et al.* RIG- I plays a critical role in negatively regulating granulocytic proliferation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(30): 10553-10558.
- [118] Takahashi T, Nakano Y, Onomoto K, *et al.* LGP2 virus sensor regulates gene expression network mediated by TRBP-bound microRNAs[J]. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(17): 9134-9147.
- [119] Han J J, Sun Y N, Song W H, *et al.* microRNA-145 regulates the RLR signaling pathway in miiuy croaker after poly(I: C) stimulation via targeting MDA5[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 68: 79-86.
- [120] Chu Q, Han J J, Sun L P, *et al.* Characterization of MDA5 and microRNA-203 negatively regulates the RLR signaling pathway via targeting MDA5 in miiuy croaker[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2022, 126: 104259.
- [121] Xu T J, Chu Q, Cui J X, *et al.* Inducible MicroRNA-3570 feedback inhibits the RIG-I-dependent innate immune response to Rhabdovirus in teleost fish by targeting MAVS/IPS-1[J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(2): e01594-17.
- [122] Wan S F, Ashraf U, Ye J, *et al.* MicroRNA-22 negatively regulates poly(I: C)-triggered type I interferon and inflammatory cytokine production via targeting mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS)[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 76667-76683.
- [123] Hsu A C Y, Dua K, Starkey M R, *et al.* MicroRNA-125a and –b inhibit A20 and MAVS to promote inflammation and impair antiviral response in COPD[J]. *Journal of Clinical Investigation Insight*, 2017, 2(7): e90443.
- [124] Chu Q, Xu T J, Zheng W W, *et al.* Long noncoding RNA MARL regulates antiviral responses through suppression miR-122-dependent MAVS downregulation in lower vertebrates[J]. *PLoS Pathogens*, 2020, 16(7): e1008670.
- [125] Su H, Chu Q, Zheng W, *et al.* Circular RNA circ-PIKfyve acts as a sponge of miR-21-3p to enhance antiviral immunity through regulation of MAVS in teleost fish[J]. *Journal of Virology*, 2021, 95(8): e02296-20.
- [126] Ishikawa H, Barber G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling[J]. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678.
- [127] Yarbrough M L, Zhang K, Sakthivel R, *et al.* Primate-specific miR-576-3p sets host defense signalling threshold[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 4963.
- [128] Xu T J, Chu Q, Cui J X. Rhabdovirus-inducible MicroRNA-210 modulates antiviral innate immune response via targeting STING/MITA in fish[J]. *The Journal of Immunology*, 2018, 201(3): 982-994.
- [129] Su H, Zheng W W, Pan J J, *et al.* Circular RNA circ-Samd4a regulates antiviral immunity in teleost fish by upregulating STING through sponging miR-29a-3p[J]. *The Journal of Immunology*, 2021, 207(11): 2770-2784.
- [130] Chu Q, Zheng W W, Su H, *et al.* A highly conserved circular RNA, circRasGEF1B, enhances antiviral immunity by regulating the miR-21-3p/MITA pathway in lower vertebrates[J]. *Journal of Virology*, 2021, 95(7): e02145-20.
- [131] Zhang B C, Zhou Z J, Sun L. pol-miR-731, a teleost miRNA upregulated by megalocytivirus, negatively regulates virus-induced type I interferon response, apoptosis and cell cycle arrest[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28354.
- [132] Guan X L, Zhang B C, Sun L. pol-miR-194a of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) suppresses type I interferon response and facilitates *Edwardsiella tarda* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 87: 220-225.

- [133] Sun Y N, Han J J, Chu Q, *et al.* microRNA-210 participates in regulating RIG-I signaling pathway via targeting DUBA in miiuy croaker after poly(I: C) stimulation[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 77: 1-7.
- [134] Diao F C, Li S, Tian Y, *et al.* Negative regulation of MDA5- but not RIG- I -mediated innate antiviral signaling by the dihydroxyacetone kinase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(28): 11706-11711.
- [135] Han J J, Chu Q, Huo R X, *et al.* Inducible microRNA-122 modulates RIG- I signaling pathway via targeting DAK in miiuy croaker after poly(I: C) stimulation[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 78: 52-60.
- [136] Hou J, Wang P, Lin L, *et al.* MicroRNA-146a feedback inhibits RIG- I -dependent Type I IFN production in macrophages by targeting TRAF6, IRAK1, and IRAK2[J]. *The Journal of Immunology*, 2009, 183(3): 2150-2158.
- [137] Zhang C, Yi L Z, Feng S S, *et al.* MicroRNA miR-214 inhibits snakehead vesiculovirus replication by targeting the coding regions of viral N and P[J]. *Journal of General Virology*, 2017, 98(7): 1611-1619.
- [138] Li J R, Kong L C, Gao Y H, *et al.* Characterization of NLR-A subfamily members in miiuy croaker and comparative genomics revealed NLRX1 underwent duplication and lose in actinopterygii[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 47(1): 397-406.
- [139] Li J R, Gao Y H, Xu T J. Comparative genomic and evolution of vertebrate NOD1 and NOD2 genes and their immune response in miiuy croaker[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 46(2): 387-397.
- [140] Magalhaes J G, Lee J, Geddes K, *et al.* Essential role of Rip2 in the modulation of innate and adaptive immunity triggered by Nod1 and Nod2 ligands[J]. *European Journal of Immunology*, 2011, 41(5): 1445-1455.
- [141] Franchi L, Muñoz-Planillo R, Núñez G. Sensing and reacting to microbes through the inflammasomes[J]. *Nature Immunology*, 2012, 13(4): 325-332.
- [142] Bauernfeind F, Rieger A, Schildberg F A, *et al.* NLRP3 inflammasome activity is negatively controlled by miR-223[J]. *The Journal of Immunology*, 2012, 189(8): 4175-4181.
- [143] 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): 251.
- [144] Park S B, Hikima J I, Suzuki Y, *et al.* Molecular cloning and functional analysis of nucleotide-binding oligomerization domain 1 (NOD1) in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2012, 36(4): 680-687.
- [145] Chang M X, Wang T H, Nie P, *et al.* Cloning of two rainbow trout nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) splice variants and functional characterization of the NOD2 effector domains[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30(1): 118-127.
- [146] Hou Q H, Yi S B, Ding X, *et al.* Differential expression analysis of nuclear oligomerization domain proteins NOD1 and NOD2 in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 33(5): 1102-1111.
- [147] Swain B, Basu M, Samanta M. NOD1 and NOD2 receptors in mrigal (*Cirrhinus mrigala*): inductive expression and downstream signalling in ligand stimulation and bacterial infections[J]. *Journal of Biosciences*, 2013, 38(3): 533-548.
- [148] Zheng W W, Su H, Lv X, *et al.* Exon-intron circular RNA circRNF217 promotes innate immunity and antibacterial activity in teleost fish by reducing miR-130-3p function[J]. *The Journal of Immunology*, 2022, 208(5): 1099-1114.
- [149] Su H, Chang R J, Zheng W W, *et al.* microRNA-210 and microRNA-3570 negatively regulate NF- κ B-mediated inflammatory responses by targeting RIPK2 in teleost fish[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 617753.
- [150] 汪小冬, 金生振, 赵鑫, 等. 硬骨鱼免疫相关microRNA研究进展[J]. *水产学报*, 2021, 45(8): 1430-1437.
- Wang X D, Jin S Z, Zhao X, *et al.* Advances of immune-related microRNA research in teleost fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(8): 1430-1437 (in Chinese).
- [151] Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, *et al.* Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs[J]. *Nature*, 2008, 455(7209): 58-63.
- [152] Chen Y N, Chen J B, Wang H, *et al.* HCV-induced miR-

- 21 contributes to evasion of host immune system by targeting MyD88 and IRAK1[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(4): e1003248.
- [153] 李俊茹, 马晓, 吴利敏, 等. 锦鲤microRNA-137系统进化、靶基因验证及表达分析[J]. 水产学报, 2021, 45(6): 831-845.
- Li J R, Ma X, Wu L M, *et al.* Evolution, target genes certification and expression analysis of microRNA-137 in Japanese ornamental carp (*Cyprinus carpio* var. *koi*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(6): 831-845 (in Chinese).
- [154] Ding J, Zhang Y, Cai X P, *et al.* Extracellular vesicles derived from M1 macrophages deliver miR-146a-5p and miR-146b-5p to suppress trophoblast migration and invasion by targeting TRAF6 in recurrent spontaneous abortion[J]. *Theranostics*, 2021, 11(12): 5813-5830.
- [155] Chuang A Y, Chuang J C, Zhai Z L, *et al.* NOD2 expression is regulated by microRNAs in colonic epithelial HCT116 cells[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2014, 20(1): 126-135.
- [156] Kang H, Park Y, Lee A, *et al.* Negative regulation of NOD1 mediated angiogenesis by PPAR γ -regulated miR-125a[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 482(1): 28-34.

Research progress of fish microRNA in innate immunity

CUI Junxia¹, XU Tianjun^{1,2*}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Laboratory of Marine Biology and Biotechnology,

Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China)

Abstract: Innate immunity is the first line of defense for hosts to recognize pathogens and eliminate pathogen infection. Pattern recognition receptors are the main molecules involved in the recognition of foreign pathogen invasion, including Toll-like receptors, RIG-I like receptors, NOD-like receptors and CLR-like receptors. After recognizing the molecular patterns associated with pathogens, pattern recognition receptors activate innate immune signaling pathways and induce the production of inflammatory cytokines and interferons, thereby initiating immune responses against pathogen invasion. Accumulating evidence suggests that the activation, maintenance and termination of immune responses need to be tightly regulated so that the body can maintain a certain immune strength while avoiding hyperimmune responses. MicroRNAs are small non-coding RNAs of 18-23 nt in length, which are important regulators in the innate immune response network of fish. Recently, a large number of studies have been conducted on microRNA in fish innate immunity, but there is no comprehensive and up to date review of such studies at home or abroad. In view of this, this paper reviews the research progress on miRNA in fish innate immune response in recent years, so as to provide some ideas for molecular disease-resistance breeding and disease prevention and control of fish.

Key words: fish; innate immune; microRNA; TLR pathway; RLR pathway; NLR pathway

Corresponding author: XU Tianjun. E-mail: tianjunxu@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31822057)