

特集：酵母から動植物まで包括するユビキチン-プロテアソーム系の新展開

動物の自然免疫に於けるユビキチンリガーゼの役割

押 海 裕 之, 松 本 美 佐 子, 瀬 谷 司

自然免疫は抗原提示やサイトカイン産生等によりリンパ球を活性化させる。自然免疫では Toll 様受容体や RIG-I 様受容体により微生物を認識するが、これらはユビキチンにより厳密な制御を受ける。RIG-I 分子は、インフルエンザや C 型肝炎ウイルス等のゲノム RNA を認識するが、Riplet ユビキチンリガーゼや TRIM25 ユビキチンリガーゼによる RIG-I の活性化に必須である。一方で、ウイルスは、この制御を攪乱し、ヒトの自然免疫系からの排除を逃れようとする。インフルエンザの NS1 タンパク質はこの TRIM25 分子を抑制することが報告されている。C 型肝炎のタンパク質もこの RIG-I のユビキチン化を阻害する能力を持ち、自然免疫のユビキチンによる制御が感染症と免疫応答の解明に重要である。

哺乳類に於ける自然免疫の役割

ウイルスや細菌等がヒトに感染すると宿主免疫系が働き排除する。B 細胞や T 細胞による免疫システムは、一度感染した病原体を記憶し、それに対する免疫応答を素早く引き起こすことから獲得免疫と呼ばれる。進化的に、B 細胞が産生する抗体の遺伝子は、有顎魚類からしか存在しないことから、獲得免疫系は脊椎動物等の一部の動物にしか存在しないシステムである。一方の自然免疫と呼ばれる免疫システムはヒトからショウジョウバエまで普遍的に存在する。獲得免疫と自然免疫の両方を持つヒトを含む哺乳類はこれら二つの免疫系の相互作用が重要である。

自然免疫は樹状細胞、マクロファージ、上皮細胞等により担われ、これらの細胞による抗原提示やサイトカイン産生により獲得免疫が活性化する (図 1A)。2011 年のノーベル賞受賞者の一人 Steinman RM は 1973 年に樹状細胞を

発見し¹⁾、この細胞が高い抗原提示能を持ち、T 細胞を活性化することを示した。獲得免疫系が T 細胞や B 細胞での遺伝子再編により多様な抗原を認識するのは対照的に、自然免疫では宿主には無い微生物特有の構造である PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern) と呼ばれる構造を認識する²⁾。Janeway CA らにより提唱された、この PAMP という概念は、提唱された当時、それを認識する実態は不明であった²⁾。1996 年に Hoffmann J が、ショウジョウバエの Toll 分子がハエで真菌に対する自然免疫に関与する分子であると報告し³⁾、これを契機に、ヒトでも Toll 様受容体 (Toll-like receptor: TLR) の探索が行われ、マウスを用い TLR4 分子が大腸菌等の持つ PAMP の一つのリポ多糖を認識することが解明され、PAMP 認識の実態が初めて解明された⁴⁾。

細菌の PAMP としてはリポ多糖の他にペプチドグリカンやリポタンパク質が存在し、ウイルスの PAMP としては二重鎖 RNA や、メチル化されていない CpG 配列を持つ DNA 等が存在する⁵⁾。現在では、これら微生物の持つ PAMP の多くは、Toll 様受容体⁶⁾、RIG-I 様受容体⁷⁾、NOD 様受容体⁸⁾、C 型レクチン⁹⁾により認識されることが知られている (図 1B)。

北海道大学大学院医学研究科免疫学分野 (〒060-8638 北海道札幌市北区北 15 条西 7 丁目)

Role of ubiquitin ligase in innate immune response in mammal

Hiroyuki Oshiumi, Misako Matsumoto, and Tsukasa Seya
(Department of Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Kita-ku, Kita-15, Nishi-7, Sapporo, Hokkaido 060-8638, Japan)

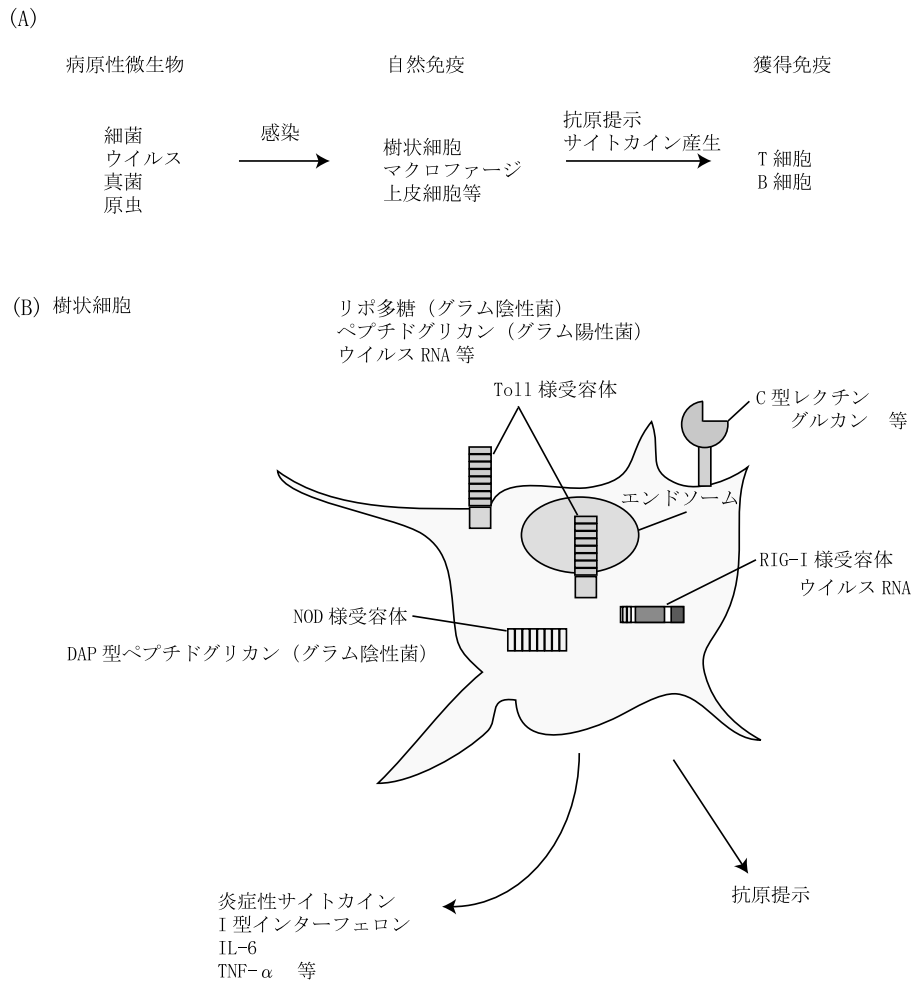


図1 自然免疫による微生物認識機構

(A) 細菌、ウイルス、真菌、原虫等の微生物は宿主に感染すると、まず自然免疫が活性化される。自然免疫は、抗原提示や炎症性サイトカイン等の産生を介して、獲得免疫で働くT細胞等を活性化する。

(B) 自然免疫で重要な働きをする樹状細胞は、微生物のPAMPを認識する。PAMP認識受容体としては、Toll様受容体、RIG-I様受容体、NOD様受容体、C型レクチン等が存在する。

ウイルス認識に於ける Toll 様受容体と RIG-I 様受容体の役割分担

Toll 様受容体はヒトでは 10 種類存在し、様々な微生物の PAMP を認識する⁵⁾。ウイルスの PAMP としては、二重鎖 RNA や 5' 末端がキャップ構造を取らない RNA が在る。RNA をゲノムに持つウイルスを認識する Toll 様受容体は、二重鎖 RNA を認識する TLR3^{10,11)}、一本鎖 RNA を認識する TLR7 と 8 である^{12,13)}。これらは全て細胞内のエンドソームに主に局在する^{10,14)}。Toll 様受容体の発現は細胞特異性があり、TLR3 はマウスでは CD8 α 陽性の樹状細胞で高発現しており、TLR7 は形質細胞様樹状細胞で高発現する^{12,15)}。一方、RIG-I 様受容体は、細胞質内の RNA ヘリケースであり¹⁶⁾、樹状細胞やマクロファージ、上皮細胞

など様々な細胞で発現し、細胞特異性は低い¹⁷⁾。ノックアウトマウスの解析からは、Toll 様受容体が獲得免疫系の活性化に必要であることがインフルエンザ感染の実験系で示され¹⁸⁾、一方、RIG-I 様受容体は肺での感染初期のサイトカイン産生に必須であり¹⁹⁾、どちらを欠失しても感染に対する抵抗性が大きく減少する。

RIG-I 様受容体経路の分子機構

RIG-I 様受容体は、RIG-I、MDA5、LGP2 の 3 種類存在する²⁰⁾。ヒトに病原性を示すウイルスである A 型インフルエンザウイルス、C 型肝炎ウイルス、日本脳炎ウイルス等は RIG-I に認識され、ポリオウイルス等は MDA5 に認識される²¹⁾。また、麻疹ウイルスや西ナイル熱ウイルス等は RIG-I と MDA5 の両方に認識される^{22,23)}。LGP2 は RIG-I と

MDA5の上流で働き、ウイルスRNAの認識を助ける²⁴⁾。

RIG-I様受容体は、ミトコンドリア外膜上に存在するIPS-1と呼ばれるアダプター分子を介しシグナルを伝える²⁵⁻²⁸⁾。IPS-1はユビキチンリガーゼのTRAFファミリー分子を活性化し、NEMO等の分子を介し^{29,30)}、TBK1やIKK-ε等のリン酸化酵素を活性化させる。これらがIRF-3等の転写因子をリン酸化することでI型インターフェロンを含む炎症性サイトカインが産生される(図2)。I型インターフェロンは強い抗ウイルス作用を持つサイトカインであり、その受容体は殆ど全ての細胞で発現している。I型インターフェロンが、その受容体に結合するとSTAT等のリン酸化を介し、ウイルスを抑制するPKR分子やRNaseL等の分子の発現が上昇し、ウイルスを抑制する。一方で、I型インターフェロンは、樹状細胞やNK細胞等の活性化にも関与する。

RIG-Iを活性化するユビキチンリガーゼ

RIG-I分子を修飾するE3ユビキチンリガーゼはTRIM25, Riplet, RNF125の3種類の分子が知られている³¹⁾。Riplet分子は、RIG-IのC末端に結合する分子として発見された³²⁾。RipletはRIG-Iと同様に殆ど全ての臓器で発現し、I型インターフェロン産生に重要な樹状細胞やマクロファージでも発現がみられ、主に細胞質に局在する³³⁾。RipletはRIG-IのC末端領域を、K63鎖を介してポリユビキチン化し、RIG-Iの活性化を引き起こす(図2)³²⁾。

Ripletノックアウトは、ウイルス感染時のI型インターフェロン産生が大きく減少し、生存率も著しく低くなることから、RipletによるRIG-IのC末端のポリユビキチン化が、ウイルス感染時の生体内でのI型インターフェロンによる生体防御に必須である³³⁾。

TRIM25は別名Efpと呼ばれる。Efpはもともと、エストロゲン応答性のRINGフィンガータンパク質として報告された。TRIM25は、細胞周期のG2期の進行を制御する14-3-3σ分子をポリユビキチン化し、プロテアソームによる分解を促すことで細胞周期を進行させる³⁴⁾。その後、Gackらにより、このTRIM25はウイルス感染時にインターフェロン依存的にも発現誘導され、RIG-IのN末端領域に存在するCARD様ドメインに結合し、RIG-Iの172番目のリジンを、K63鎖を介したポリユビキチン化することが報告された³⁵⁾。一方で、TRIM25が作るK63鎖を介したポリユビキチン鎖とRIG-IのN末端のCARD様ドメインが非共有結合的に会合するだけであるとの報告もある³⁶⁾。このTRIM25によるポリユビキチン鎖がRIG-Iとその下流のアダプター分子のIPS-1との会合を促し、これが引き金となりIPS-1がプリオン様の構造体をミトコンドリア外膜上で形成することでシグナルが生じる(図2)³⁷⁾。そのため、TRIM25遺伝子をノックアウトしたマウス胎児由来繊維芽

細胞ではウイルス感染に非常に弱いことが報告されている³⁵⁾。また、RIG-Iの170番目のスレオニン残基がリン酸化されることで、TRIM25によるユビキチン化が阻害されることや、選択的スプライシングによりTRIM25が結合できないRIG-Iタンパク質が発現する³¹⁾。

ポリユビキチン化は通常、ユビキチンに存在する七つのリジン残基(K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63)のいずれかを介して生じる。しかし、HOIL-1Lタンパク質とHOIPタンパク質から形成されるLUBACタンパク質複合体はユビキチンのN末端にユビキチンを結合させ、直鎖状ポリユビキチン鎖をつくる³⁸⁾。このLUBAC複合体はTRIM25に結合し、TRIM25のプロテアソームによる分解を促す。さらに、HOIL-1LのNZFドメインは、TRIM25とRIG-Iとの結合を阻害し、ユビキチン化を介さずにTRIM25の機能を阻害する(図2)。そのため、LUBAC複合体をノックダウンすることで、ウイルス感染時のI型インターフェロンが通常よりも非常に多く産生される³⁹⁾。

RNF125ユビキチンリガーゼは、RipletやTRIM25分子と異なり、K48鎖を介したRIG-Iのポリユビキチン化を引き起こす⁴⁰⁾。RNF125はウイルス感染後に発現が上昇することから、ウイルス感染後活性化したRIG-I経路を抑制する負のフィードバックの機能を果たす(図2)。また、RipletやTRIM25はRIG-I様受容体の中で、RIG-Iのみをターゲットとするのに対し、RNF125はMDA5分子やその下流のIPS-1分子もK48鎖を介したポリユビキチン化しプロテアソームによる分解を引き起こす⁴⁰⁾。RNF125はUbcH1, UbcH5a-cをE2として使用するが、RIG-Iをユビキチン化するには主にUbcH5cを使用する⁴⁰⁾。RNF125はRIG-I経路以外にも働き、T細胞の活性化に必要であるとの報告もあり、別名TRAC-1と呼ばれる⁴¹⁾。

RIG-IのK63鎖を介したポリユビキチン化を脱ユビキチン化する因子としてCYLD分子が存在する。CYLD分子も、ウイルス感染後発現が誘導され、RIG-Iを脱ユビキチン化することから、RNF125と同様に負のフィードバックの機能を果たす(図2)⁴²⁾。

RIG-I下流分子のユビキチンによる制御

RIG-Iのアダプター分子であるIPS-1は、ウイルス感染後、500番目のリジン残基がK63鎖を介したポリユビキチン化を受ける。この時に働くE3ユビキチンリガーゼは未同定である。このポリユビキチン化により、IKK-εがIPS-1の存在するミトコンドリア上へと誘導される。しかし、このIKK-εの誘導は、RIG-I経路に対して負に働く⁴³⁾。

一方、IPS-1分子を用いた酵母のtwo-hybridによるスクリーニングからPCBP2タンパク質がIPS-1と結合することが発見された⁴⁴⁾。PCBP2は、IPS-1以外にも、MDA5とRIG-Iにも結合する。PCBP2は、HECT型のE3ユビキチ

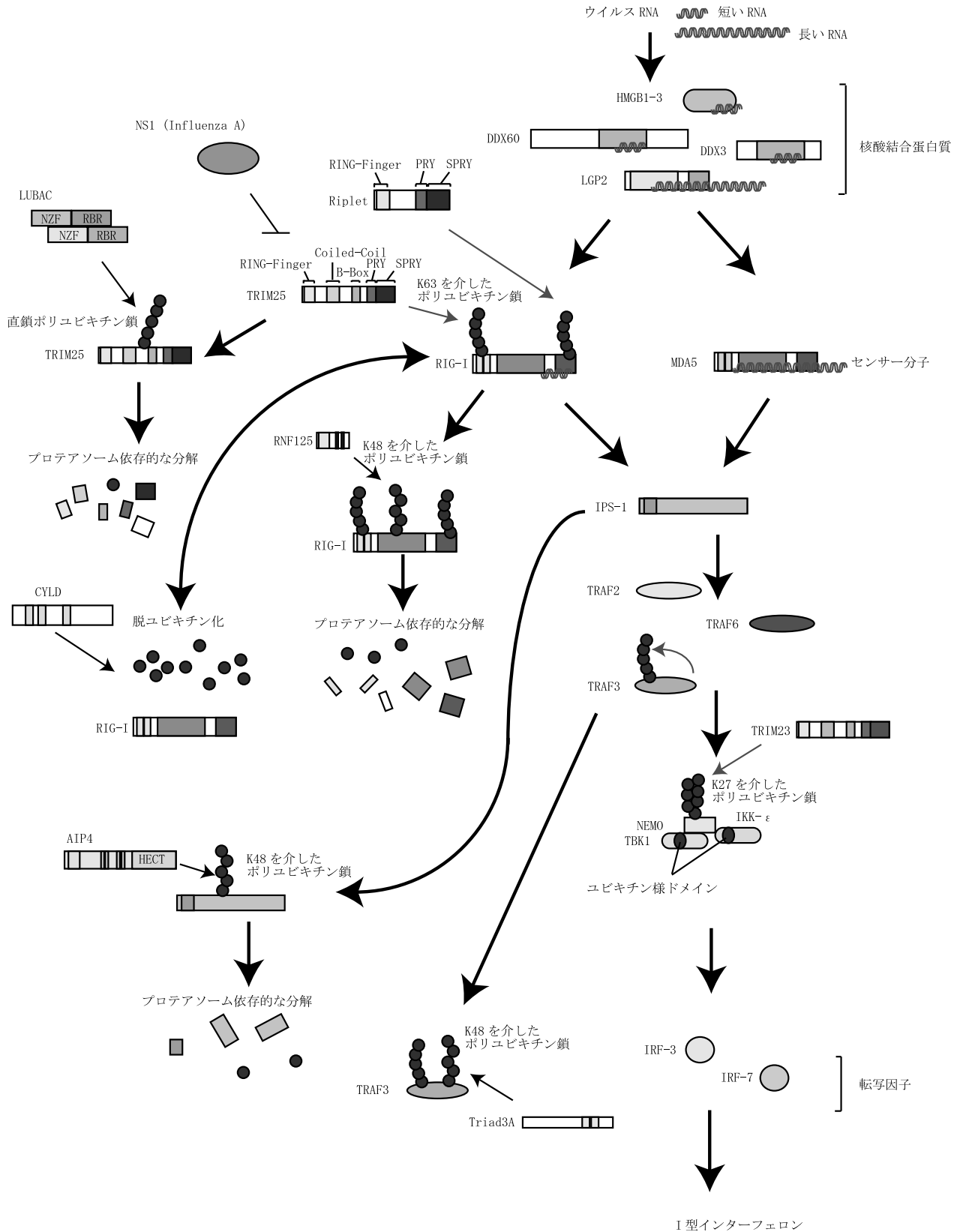


図2 RIG-I様受容体経路のユビキチンによる制御機構
 細胞質内に存在するウイルス由来の核酸は、RIG-I様受容体のRIG-IとMDA5により主に認識される。RIG-IとMDA5はウイルスRNAを認識するとアダプター分子のIPS-1を介してシグナルを伝え、IRF3等の転写因子を活性化し、I型インターフェロンを含む炎症性サイトカインの発現を誘導する。この過程は、ユビキチン化により厳密に制御されている。

ンリガーゼの AIP4 を IPS-1 分子近傍へと導き、AIP4 による IPS-1 の 371 番目と 420 番目のリジン残基に対し、K48 鎖を介したポリユビキチン化を促進する。この時の E2 は、UbcH5b と UbcH5c である。この PCBP2 もウイルス感染後にインターフェロン依存的に発現が上昇することから、RNF125 と同様に、ネガティブフィードバックとして働く。

TRIM ファミリーの一つ TRIM23 は IPS-1 下流の NEMO 分子をターゲットとする。TRIM23 は NEMO の 165 番目、309 番目、325 番目、326 番目、344 番目のリジン残基に対し、ユビキチンの 27 番目のリジンを介したポリユビキチン鎖を結合させる (図 2)。生化学的解析からこの時使用される E2 は主に UbcH5 であると示唆されている。TRIM 23 による NEMO のユビキチン化は、下流へのシグナル伝達に必要であるため、TRIM23 をノックダウンするとウイルス感染時の I 型インターフェロン産生が減少し、また細胞はウイルスに対する抵抗力が低下する⁴⁵⁾。

脱ユビキチン化酵素の A20 は RIG-I 下流のシグナルを抑制することが報告されているがその詳細な分子機構は不明である⁴⁶⁾。

E3 ユビキチンリガーゼの Triad3A は TRAF 結合モチーフを持つ。RIG-I 下流で働く TRAF3 分子はこの Triad3A と TRAF 結合モチーフを介して結合する。Triad3A は K48 を介したポリユビキチン鎖を TRAF3 分子に結合することによりプロテアソーム依存的な TRAF3 分子の分解を誘導する (図 2)。そのため、Triad3A をノックダウンすると TRAF3 タンパク質量が上昇する⁴⁷⁾。Triad3A 分子もウイルス感染後に発現が誘導されることから、RNF125 や CYLD と同様に負のフィードバックで働くと考えられる。

NEMO と結合する TBK1 と IKK-ε の二つのリン酸化酵素には、キナーゼドメインの近傍にユビキチン様ドメインがある⁴⁸⁾。NMR による解析からこのユビキチン様ドメインは、ユビキチン様タンパク質のスーパーファミリーに属することが示唆されている。このユビキチン様ドメインはタンパク質間相互作用に重要であり、I 型インターフェロン遺伝子の発現に重要な転写因子 IRF-3 と結合する。そのため、このユビキチン様ドメインを欠失させると、TBK1 や IKK-ε の下流のシグナルが消失することから機能的に重要である⁴⁸⁾。

ウイルスによるユビキチン化の阻害

RIG-I は A 型インフルエンザウイルスの RNA を認識する¹⁷⁾。このインフルエンザの非構造タンパク質の NS1 はウイルス感染時の I 型インターフェロン産生を抑制する⁴⁹⁾。最近の解析から、この NS1 タンパク質は TRIM25 に結合し、TRIM25 による RIG-I のユビキチン化を阻害することが報告された⁵⁰⁾。しかし、様々なインフルエンザウイルス

の NS1 を用いて、I 型インターフェロン産生能と TRIM25 結合能を比較した場合、必ずしも相関が無いことから、NS1 は他のメカニズムを介して I 型インターフェロンの産生を阻害する可能性も指摘されている⁵¹⁾。

C 型肝炎ウイルスも RIG-I により認識される⁵²⁾。C 型肝炎ウイルスが細胞に感染すると様々な遺伝子の発現が上昇するが、その中にはユビキチン様タンパク質の ISG15 が含まれる。RIG-I はこの ISG15 により修飾されると、RIG-I のユビキチン化が阻害されることから⁵³⁾、C 型肝炎ウイルスは細胞内の ISG15 の発現を上昇させ RIG-I のユビキチン化を阻害する⁵⁴⁾。

細胞質内 DNA 認識経路のユビキチンによる制御

インフルエンザウイルスや C 型肝炎ウイルス等の RNA をゲノムにもつウイルスは細胞質内では主に RIG-I 様受容体により認識されるが、ヘルペスウイルスやポックスウイルス等の DNA をゲノムに持つウイルスや細菌のゲノム由来の DNA は、RIG-I 様受容体以外の分子にも認識される。

細胞質内の DNA 認識センサーとしてこれまで報告されている分子として、DAI 分子、RIG-I 分子、IFI16 分子、DDX41 分子等が存在する^{55~58)}。ヒトでは、細胞質内の DNA が RNA ポリメラーゼ III により転写され、これが RIG-I 様受容体により認識される経路も存在する。これらの受容体は全て STING と呼ばれる小胞体上に存在する分子を介して I 型インターフェロン等の炎症性サイトカインの産生を誘導する。

STING 分子の活性化を制御するユビキチンリガーゼとして TRIM56 分子が報告されている。TRIM56 はインターフェロン依存的に発現誘導され、STING の 150 番目のリジン残基を、K63 を介したポリユビキチン化する⁵⁹⁾。これにより TBK1 分子が STING と結合し下流へのシグナル伝達が生じる⁵⁹⁾。STING 分子は細胞質内の DNA のみならず、ウイルス由来の RNA 認識にも関与することから⁶⁰⁾ TRIM56 をノックダウンすることで、NDV 感染による I 型インターフェロン遺伝子の発現も減少する⁵⁹⁾。

Toll 様受容体経路のユビキチンによる制御

TLR3 はウイルス由来の二重鎖 RNA を認識するとアダプター分子の TICAM-1 (別名 Trif) を介して下流へとシグナルを伝える⁶¹⁾。一方 TLR7 と 8 は一本鎖 RNA を認識し、アダプター分子の Myd88 を介してシグナルを伝える。

最近まで、TLR3 のウイルス感染時の役割が不明であったが、ピコルナウイルス科のウイルスであるコクサッキー B3 ウイルスやポリオウイルスは TLR3 により主に認識されることが明らかとなり、ウイルスの種類によりどの TLR 分子によって認識されるかが異なる^{62,63)}。

TLR3 のアダプター分子である TICAM-1 は中央に TIR

ドメインを持ち長いN末端領域とC末端領域を持つ分子である。TICAM-1のN末端領域を用いた酵母 Two-hybrid 法によるスクリーニングから TRAF ファミリーの TRAF1 と 2 が単離された⁶⁴。TRAF1 は TICAM-1 下流のシグナルを抑制する。一方、TRAF2 は TICAM-1 のシグナルの活性化につながる。TRAF2 が結合するアミノ酸配列にはコンセンサス配列があり、P/S/A/T-X-Q/E-E、P-X-Q-X-X-D、P-X-Q-X-T/S の 3 種類が知られる。TICAM-1 の N 末端領域には TRAF2 結合のコンセンサス配列が存在し、この配列に変異を入れることで TICAM-1 からのシグナルが減少する。TRAF2 は K63 を介したポリユビキチン鎖を TICAM-1 の N 末端に結合させることで TICAM-1 を活性化させるがその詳細な分子機構は未定である (図 3)⁶⁴。

TLR7 のアダプター分子の MyD88 はユビキチンリガーゼの TRAF6 分子と転写因子の IRF7 に結合する。この時 TRAF6 は IRF7 を、K63 を介したポリユビキチン化を引き

起こし IRF7 を活性化する。この IRF7 の活性化が形質細胞様樹状細胞に於ける I 型インターフェロン産生に必須である (図 3)⁶⁵。

TRAF3 の分解に関与する Triad3A は Toll 様受容体の分解にも働く。TLR4 と TLR9 は Triad3A により K48 を介したポリユビキチン鎖を結合させ、プロテアソーム依存的な分解を受ける (図 3)⁶⁶。

おわりに

自然免疫に於けるユビキチンの役割は上記にとどまらない。炎症性サイトカイン産生経路で働く NF- κ B 転写因子の活性化にもユビキチンによる制御が必須である⁶⁷。ウイルスや細菌による宿主のユビキチン化の阻害が感染の成立や病原性に大きく関与しており、その解明が今後の課題である。

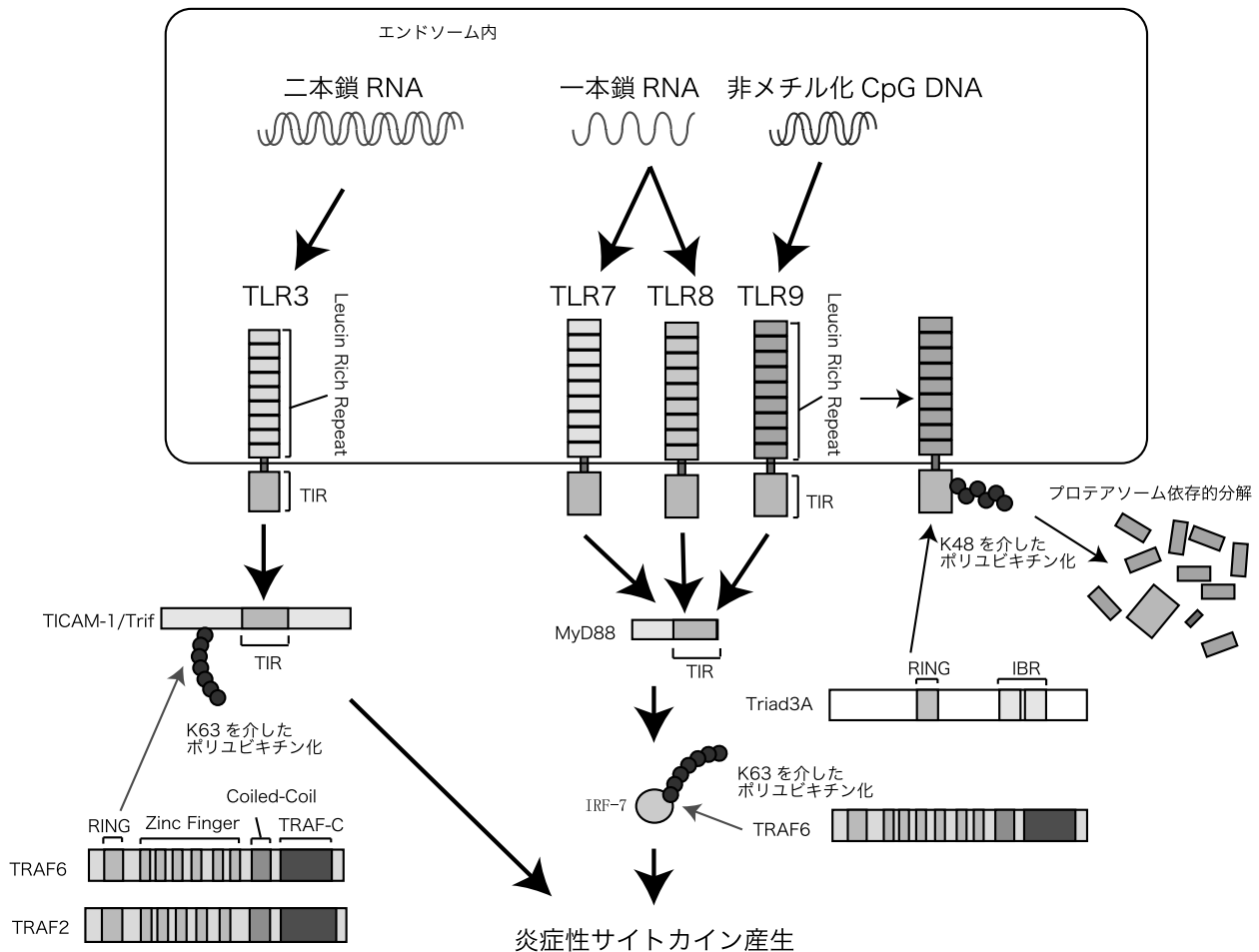


図 3 Toll 様受容体経路のユビキチンによる制御機構

ウイルスの核酸を認識する Toll 様受容体は主にエンドソームに局在する。二重鎖 RNA を認識する TLR3 はアダプター分子の TICAM-1 を介して細胞内にシグナルを伝える。一方、一本鎖 RNA や非メチル化 DNA を認識する TLR7, 8, 9 は、アダプター分子の MyD88 を介して細胞内にシグナルを伝える。これらの過程は、TRAF タンパク質や Triad3A タンパク質によりユビキチン化を介して制御されている。

文 献

- 1) Steinman, R.M. & Cohn, Z.A. (1973) *J. Exp. Med.*, **137**, 1142-1162.
- 2) Janeway, C.A., Jr. (1989) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **54**, Pt 1, 1-13.
- 3) Lemaitre, B., Nicolas, E., Michaut, L., Reichhart, J.M., & Hoffmann, J.A. (1996) *Cell*, **86**, 973-983.
- 4) Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M.Y., Van Huffel, C., Du, X., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Galanos, C., Freudenberg, M., Ricciardi-Castagnoli, P., Layton, B., & Beutler, B. (1998) *Science*, **282**, 2085-2088.
- 5) Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006) *Cell*, **124**, 783-801.
- 6) Kawai, T. & Akira, S. (2011) *Immunity*, **34**, 637-650.
- 7) Loo, Y.M. & Gale, M., Jr. (2011) *Immunity*, **34**, 680-692.
- 8) Elinav, E., Strowig, T., Henao-Mejia, J., & Flavell, R.A. (2011) *Immunity*, **34**, 665-679.
- 9) Osorio, F. & Reis e Sousa, C. (2011) *Immunity*, **34**, 651-664.
- 10) Matsumoto, M., Funami, K., Tanabe, M., Oshiumi, H., Shingai, M., Seto, Y., Yamamoto, A., & Seya, T. (2003) *J. Immunol.*, **171**, 3154-3162.
- 11) Alexopoulou, L., Holt, A.C., Medzhitov, R., & Flavell, R.A. (2001) *Nature*, **413**, 732-738.
- 12) Diebold, S.S., Kaisho, T., Hemmi, H., Akira, S., & Reis e Sousa, C. (2004) *Science*, **303**, 1529-1531.
- 13) Hemmi, H., Kaisho, T., Takeuchi, O., Sato, S., Sanjo, H., Hoshino, K., Horiuchi, T., Tomizawa, H., Takeda, K., & Akira, S. (2002) *Nat. Immunol.*, **3**, 196-200.
- 14) Johnsen, I.B., Nguyen, T.T., Ringdal, M., Tryggestad, A.M., Bakke, O., Lien, E., Espevik, T., & Anthonen, M.W. (2006) *EMBO J.*, **25**, 3335-3346.
- 15) Schulz, O., Diebold, S.S., Chen, M., Naslund, T.I., Nolte, M. A., Alexopoulou, L., Azuma, Y.T., Flavell, R.A., Liljestrom, P., & Reis e Sousa, C. (2005) *Nature*, **433**, 887-892.
- 16) Yoneyama, M., Kikuchi, M., Natsukawa, T., Shinobu, N., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Akira, S., & Fujita, T. (2004) *Nat. Immunol.*, **5**, 730-737.
- 17) Kato, H., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Uematsu, S., Matsui, K., Tsujimura, T., Takeda, K., Fujita, T., Takeuchi, O., & Akira, S. (2005) *Immunity*, **23**, 19-28.
- 18) Koyama, S., Ishii, K.J., Kumar, H., Tanimoto, T., Coban, C., Uematsu, S., Kawai, T., & Akira, S. (2007) *J. Immunol.*, **179**, 4711-4720.
- 19) Kumagai, Y., Takeuchi, O., Kato, H., Kumar, H., Matsui, K., Morii, E., Aozasa, K., Kawai, T., & Akira, S. (2007) *Immunity*, **27**, 240-252.
- 20) Yoneyama, M., Kikuchi, M., Matsumoto, K., Imaizumi, T., Miyagishi, M., Taira, K., Foy, E., Loo, Y.M., Gale, M., Jr., Akira, S., Yonehara, S., Kato, A., & Fujita, T. (2005) *J. Immunol.*, **175**, 2851-2858.
- 21) Kato, H., Takeuchi, O., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Matsui, K., Uematsu, S., Jung, A., Kawai, T., Ishii, K.J., Yamaguchi, O., Otsu, K., Tsujimura, T., Koh, C.S., Reis e Sousa, C., Matsuura, Y., Fujita, T., & Akira, S. (2006) *Nature*, **441**, 101-105.
- 22) Fredericksen, B.L. & Gale, M., Jr. (2006) *J. Virol.*, **80**, 2913-2923.
- 23) Ikegame, S., Takeda, M., Ohno, S., Nakatsu, Y., Nakanishi, Y., & Yanagi, Y. (2010) *J. Virol.*, **84**, 372-379.
- 24) Satoh, T., Kato, H., Kumagai, Y., Yoneyama, M., Sato, S., Matsushita, K., Tsujimura, T., Fujita, T., Akira, S., & Takeuchi, O. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 1512-1517.
- 25) Xu, L.G., Wang, Y.Y., Han, K.J., Li, L.Y., Zhai, Z., & Shu, H. B. (2005) *Mol. Cell*, **19**, 727-740.
- 26) Seth, R.B., Sun, L., Ea, C.K., & Chen, Z.J. (2005) *Cell*, **122**, 669-682.
- 27) Meylan, E., Curran, J., Hofmann, K., Moradpour, D., Binder, M., Bartenschlager, R., & Tschopp, J. (2005) *Nature*, **437**, 1167-1172.
- 28) Kawai, T., Takahashi, K., Sato, S., Coban, C., Kumar, H., Kato, H., Ishii, K.J., Takeuchi, O., & Akira, S. (2005) *Nat. Immunol.*, **6**, 981-988.
- 29) Zhao, T., Yang, L., Sun, Q., Arguello, M., Ballard, D.W., Hiscott, J., & Lin, R. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 592-600.
- 30) Oganessian, G., Saha, S.K., Guo, B., He, J.Q., Shahangian, A., Zarnegar, B., Perry, A., & Cheng, G. (2006) *Nature*, **439**, 208-211.
- 31) Oshiumi, H., Matsumoto, M., & Seya, T. (2012) *J. Biochem.*, **151**, 5-11.
- 32) Oshiumi, H., Matsumoto, M., Hatakeyama, S., & Seya, T. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 807-817.
- 33) Oshiumi, H., Miyashita, M., Inoue, N., Okabe, M., Matsumoto, M., & Seya, T. (2010) *Cell Host Microbe*, **8**, 496-509.
- 34) Urano, T., Saito, T., Tsukui, T., Fujita, M., Hosoi, T., Muramatsu, M., Ouchi, Y., & Inoue, S. (2002) *Nature*, **417**, 871-875.
- 35) Gack, M.U., Shin, Y.C., Joo, C.H., Urano, T., Liang, C., Sun, L., Takeuchi, O., Akira, S., Chen, Z., Inoue, S., & Jung, J.U. (2007) *Nature*, **446**, 916-920.
- 36) Zeng, W., Sun, L., Jiang, X., Chen, X., Hou, F., Adhikari, A., Xu, M., & Chen, Z.J. (2010) *Cell*, **141**, 315-330.
- 37) Hou, F., Sun, L., Zheng, H., Skaug, B., Jiang, Q.X., & Chen, Z.J. (2011) *Cell*, **146**, 448-461.
- 38) Tokunaga, F., Sakata, S., Saeki, Y., Satomi, Y., Kirisako, T., Kamei, K., Nakagawa, T., Kato, M., Murata, S., Yamaoka, S., Yamamoto, M., Akira, S., Takao, T., Tanaka, K., & Iwai, K. (2009) *Nat. Cell Biol.*, **11**, 123-132.
- 39) Inn, K.S., Gack, M.U., Tokunaga, F., Shi, M., Wong, L.Y., Iwai, K., & Jung, J.U. (2011) *Mol. Cell*, **41**, 354-365.
- 40) Arimoto, K., Takahashi, H., Hishiki, T., Konishi, H., Fujita, T., & Shimotohno, K. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 7500-7505.
- 41) Zhao, H., Li, C.C., Pardo, J., Chu, P.C., Liao, C.X., Huang, J., Dong, J.G., Zhou, X., Huang, Q., Huang, B., Bennett, M.K., Molineaux, S.M., Lu, H., Daniel-Issakani, S., Payan, D.G., & Masuda, E.S. (2005) *J. Immunol.*, **174**, 5288-5297.
- 42) Friedman, C.S., O'Donnell, M.A., Legarda-Addison, D., Ng, A., Cardenas, W.B., Yount, J.S., Moran, T.M., Basler, C.F., Komuro, A., Horvath, C.M., Xavier, R., & Ting, A.T. (2008) *EMBO Rep.*, **9**, 930-936.
- 43) Paz, S., Vilasco, M., Arguello, M., Sun, Q., Lacoste, J., Nguyen, T.L., Zhao, T., Shestakova, E.A., Zaari, S., Bibeau-Poirier, A., Servant, M.J., Lin, R., Meurs, E.F., & Hiscott, J. (2009) *Mol. Cell Biol.*, **29**, 3401-3412.
- 44) You, F., Sun, H., Zhou, X., Sun, W., Liang, S., Zhai, Z., & Jiang, Z. (2009) *Nat. Immunol.*, **10**, 1300-1308.
- 45) Arimoto, K., Funami, K., Saeki, Y., Tanaka, K., Okawa, K., Takeuchi, O., Akira, S., Murakami, Y., & Shimotohno, K. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 15856-15861.
- 46) Lin, R., Yang, L., Nakhaei, P., Sun, Q., Sharif-Askari, E.,

- Julkunen, I., & Hiscott, J. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 2095–2103.
- 47) Nakhaei, P., Mesplede, T., Solis, M., Sun, Q., Zhao, T., Yang, L., Chuang, T.H., Ware, C.F., Lin, R., & Hiscott, J. (2009) *PLoS Pathog.*, **5**, e1000650.
- 48) Ikeda, F., Hecker, C.M., Rozenknop, A., Nordmeier, R.D., Rogov, V., Hofmann, K., Akira, S., Dotsch, V., & Dikic, I. (2007) *EMBO J.*, **26**, 3451–3462.
- 49) Diebold, S.S., Montoya, M., Unger, H., Alexopoulou, L., Roy, P., Haswell, L.E., Al-Shamkhani, A., Flavell, R., Borrow, P., & Reis e Sousa, C. (2003) *Nature*, **424**, 324–328.
- 50) Gack, M.U., Albrecht, R.A., Urano, T., Inn, K.S., Huang, I.C., Carnero, E., Farzan, M., Inoue, S., Jung, J.U., & Garcia-Sastre, A. (2009) *Cell Host Microbe*, **5**, 439–449.
- 51) Kuo, R.L., Zhao, C., Malur, M., & Krug, R.M. (2010) *Virology*, **408**, 146–158.
- 52) Saito, T., Owen, D.M., Jiang, F., Marcotrigiano, J., & Gale, M., Jr. (2008) *Nature*, **454**, 523–527.
- 53) Arimoto, K., Konishi, H., & Shimotohno, K. (2008) *Mol. Immunol.*, **45**, 1078–1084.
- 54) Arnaud, N., Dabo, S., Akazawa, D., Fukasawa, M., Shinkai-Ouchi, F., Hugon, J., Wakita, T., & Meurs, E.F. (2011) *PLoS Pathog.*, **7**, e1002289.
- 55) Zhang, Z., Yuan, B., Bao, M., Lu, N., Kim, T., & Liu, Y.J. (2011) *Nat. Immunol.*, **12**, 959–965.
- 56) Unterholzner, L., Keating, S.E., Baran, M., Horan, K.A., Jensen, S.B., Sharma, S., Sirois, C.M., Jin, T., Latz, E., Xiao, T.S., Fitzgerald, K.A., Paludan, S.R., & Bowie, A.G. (2010) *Nat. Immunol.*, **11**, 997–1004.
- 57) Choi, M.K., Wang, Z., Ban, T., Yanai, H., Lu, Y., Koshiba, R., Nakaima, Y., Hangai, S., Savitsky, D., Nakasato, M., Negishi, H., Takeuchi, O., Honda, K., Akira, S., Tamura, T., & Taniguchi, T. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 17870–17875.
- 58) Takaoka, A., Wang, Z., Choi, M.K., Yanai, H., Negishi, H., Ban, T., Lu, Y., Miyagishi, M., Kodama, T., Honda, K., Ohba, Y., & Taniguchi, T. (2007) *Nature*, **448**, 501–505.
- 59) Tsuchida, T., Zou, J., Saitoh, T., Kumar, H., Abe, T., Matsuura, Y., Kawai, T., & Akira, S. (2010) *Immunity*, **33**, 765–776.
- 60) Ishikawa, H. & Barber, G.N. (2008) *Nature*, **455**, 674–678.
- 61) Oshiumi, H., Matsumoto, M., Funami, K., Akazawa, T., & Seya, T. (2003) *Nat. Immunol.*, **4**, 161–167.
- 62) Oshiumi, H., Okamoto, M., Fujii, K., Kawanishi, T., Matsumoto, M., Koike, S., & Seya, T. (2011) *J. Immunol.*, **187**, 5320–5327.
- 63) Negishi, H., Osawa, T., Ogami, K., Ouyang, X., Sakaguchi, S., Koshiba, R., Yanai, H., Seko, Y., Shitara, H., Bishop, K., Yonekawa, H., Tamura, T., Kaisho, T., Taya, C., Taniguchi, T., & Honda, K. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 20446–20451.
- 64) Sasai, M., Tatematsu, M., Oshiumi, H., Funami, K., Matsumoto, M., Hatakeyama, S., & Seya, T. (2010) *Mol. Immunol.*, **47**, 1283–1291.
- 65) Kawai, T., Sato, S., Ishii, K.J., Coban, C., Hemmi, H., Yamamoto, M., Terai, K., Matsuda, M., Inoue, J., Uematsu, S., Takeuchi, O., & Akira, S. (2004) *Nat. Immunol.*, **5**, 1061–1068.
- 66) Chuang, T.H. & Ulevitch, R.J. (2004) *Nat. Immunol.*, **5**, 495–502.
- 67) Jiang, X. & Chen, Z.J. (2012) *Nat. Rev. Immunol.*, **12**, 35–48.
-