



干扰素刺激基因与新型冠状病毒相互作用的研究进展

董慧君^{1,2}, 李彤^{1,2}, 庄辉^{1,2}, 向宽辉^{1,2*}

1 北京大学医学部基础医学院 病原生物学系和感染病研究中心, 北京 100191

2 北京大学北大-亚辉龙感染性疾病分子诊断联合实验室, 北京 100191

董慧君, 李彤, 庄辉, 向宽辉. 干扰素刺激基因与新型冠状病毒相互作用的研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(4): 1329-1339.

DONG Huijun, LI Tong, ZHUANG Hui, XIANG Kuanhui. Research progress in the interaction between interferon-stimulated genes and SARS-CoV-2[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(4): 1329-1339.

摘要: 目前新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)感染所致新型冠状病毒肺炎(corona virus disease, COVID-19)已成为威胁人类健康和安全的全球性流行性疾病。随着新突变株的不断出现, 寻找有效治疗药物和靶点迫在眉睫。干扰素刺激基因(interferon-stimulated genes, ISGs)是由干扰素(interferons, IFNs)诱导后表达上调的一类基因, 在宿主抵抗病毒感染过程中发挥着至关重要的作用。研究表明, ISGs能够靶向许多病毒复制的不同阶段发挥抗病毒作用, 然而 SARS-CoV-2也进化出各种策略干扰或逃避宿主天然免疫。因此, 全面了解 SARS-CoV-2与 ISGs相互作用, 对于设计抗病毒策略至关重要。本文简要综述不同 ISGs抵抗 SARS-CoV-2的作用机制, 为开发新型的抗病毒药物提供思路和理论依据。

关键词: 干扰素刺激基因; 新型冠状病毒; 天然免疫; 抗病毒机制; 免疫逃逸

资助项目: 北京医学交叉种子基金(BMU2022MX008); 国家自然科学基金青年基金(81802002)

This work was supported by the Beijing Medical Cross Seed Foundation (BMU2022MX008) and the National Natural Science Foundation of China (81802002).

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-10-82802413, E-mail: kxiang@bjmu.edu.cn

Received: 2022-09-01; Accepted: 2022-11-16; Published online: 2022-12-26

Research progress in the interaction between interferon-stimulated genes and SARS-CoV-2

DONG Huijun^{1,2}, LI Tong^{1,2}, ZHUANG Hui^{1,2}, XIANG Kuanhui^{1,2*}

1 Department of Microbiology and Infectious Disease Center, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

2 Peking University-YHLO Joint Laboratory for Molecular Diagnostics of Infectious Diseases, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection has led to a global COVID-19 pandemic threatening human health and safety. However, it is urgent to find effective therapeutic agents and targets in response to the emergence of novel variants. Interferon-stimulated genes (ISGs), a class of genes upregulated by interferons (IFNs), play a crucial role in host resistance against viral infection. Studies have demonstrated that ISGs are able to target different stages of viral replication cycle to exert the effect against viral infection, whereas SARS-CoV-2 has evolved strategies to interfere with or evade host innate immune response. Comprehensively understanding the interactions between SARS-CoV-2 and ISGs is critical for the design of antiviral therapeutics. This review aims to briefly introduce the mechanisms of different ISGs against SARS-CoV-2, which provides ideas and theoretical basis for the development of novel antiviral agents.

Keywords: interferon-stimulated genes; severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; innate immunity; antiviral mechanism; immune escape

天然免疫是机体抵抗病原体入侵的第一道屏障,病毒感染可被宿主细胞中的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别,它通过信号级联反应,触发干扰素(interferons, IFNs)产生,IFNs 诱导上调数百种干扰素刺激基因(interferon stimulated genes, ISGs)发挥抗病毒活性^[1],不同的 ISGs 能够靶向从病毒入侵到释放的不同阶段发挥抗病毒活性。然而,许多研究表明,新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)蛋白通过各种策略干扰或逃避宿主天然免疫,因此,深入理解不同 ISGs 抗 SARS-CoV-2 作用机制,对于抗病毒免疫逃逸策略意义重大。本文简要综述

ISGs 抗 SARS-CoV-2 的作用阶段及其机制,为开发新型的抗病毒药物提供思路和理论依据。

1 SARS-CoV-2 的复制周期

SARS-CoV-2 复制周期主要包括:病毒入侵、基因组转录与复制、病毒蛋白翻译、病毒粒子组装与释放。SARS-CoV-2 入侵宿主细胞包括与受体结合^[2]和内吞作用^[3]这 2 种途径。病毒刺突蛋白(spike, S)与细胞受体血管紧张素转化酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)结合入侵细胞。另外,硫酸乙酰肝素(heparan sulfate proteoglycans, HSPG)作为 SARS-CoV-2 辅助受体帮助病毒附着在细胞上^[4]。前期研究发现,母乳成分乳铁蛋白通过与 HSPG 竞争性结合,抑制

SARS-CoV-2 入侵细胞^[5]。而且 SARS-CoV-2 需要多种宿主蛋白酶对 S 进行裂解激活,跨膜丝氨酸蛋白酶(transmembrane serine protease 2, TMPRSS2)、弗林蛋白酶(furin)、胰蛋白酶等通过裂解病毒 S 蛋白帮助病毒囊膜与细胞膜完成膜融合,从而促进病毒基因组进入细胞^[6-8]。病毒基因组 RNA (genomic RNA, gRNA)进入细胞质后,首先翻译产生非结构蛋白(nonstructural proteins, NSPs),完成复制酶-转录酶复合物(replicase-transcriptase complex, RTC)的组装。RTC 以病毒 gRNA 为模板进行复制,形成负链 RNA 和新的正链 RNA,新的正链 gRNA 转录为负链亚基因组 RNA (subgenomic RNA, sgRNA),接着转为正链 sgRNA,最后翻译成结构蛋白 S、包膜蛋白(envelope, E)、膜蛋白(membrane, M)、核衣壳蛋白(nucleocapsid, N)以及辅助蛋白^[9]。翻译后的结构蛋白 S、E 和 M 在内质网-高尔基体中间室(endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment, ERGIC)中与 N 蛋白包裹的病毒 gRNA 完成组装。病毒粒子通过反式高尔基体网络在囊泡中运输,随后通过胞吐作用释放^[10]。

2 ISGs 的概述

病原体入侵后,宿主的 PRRs 会识别病原体 DNA 或 RNA,进而激活下游通路。例如识别 RNA 的视黄酸诱导基因 I 样受体(retinoic acid-inducible gene I like receptors, RLRs)主要包括视黄酸诱导基因蛋白 I (retinoic acid-inducible gene I, RIG-I)和黑色素瘤分化相关抗原 5 (melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5), RIG-I 或 MDA5 被激活后,会招募接头蛋白线粒体抗病毒信号蛋白(mitochondrial antiviral signaling protein, MAVS),进而活化转录因子核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 和干扰素应答因子 3/7 (interferon responsive

factor 3, IRF3/7), 活化后进入细胞核启动 IFNs 的转录和表达^[11]。释放到胞外的 IFNs 会与附近细胞表面的特异性受体结合,激活 Janus Kinase-signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT)通路, STAT1 和 STAT2 磷酸化后招募干扰素应答因子 9 (interferon responsive factor 9, IRF9)形成复合体,进入细胞核并结合到 ISGs 启动子区域的 IFN 刺激应答元件上,从而诱导 ISGs 的转录^[1]。ISGs 产生后可参与病毒生命周期的各个阶段,不同 ISGs 的抗病毒机制也各不相同,例如 IFN 诱导的跨膜蛋白(interferon-induced transmembrane proteins, IFITMs)能够阻碍多种病毒与宿主细胞膜发生膜融合来发挥抗病毒作用^[12-14]。三聚体蛋白(tripartite motif protein, TRIM)家族成员有 80 多个,可以与病毒蛋白或核酸相互作用直接抑制病毒复制,也可以调节免疫信号通路来发挥抗病毒作用^[15-16]。

3 ISGs 抑制 SARS-CoV-2 的作用机制

ISGs 能够靶向病毒复制周期不同阶段发挥直接抗病毒作用,本文将简述 ISGs 靶向 SARS-CoV-2 复制周期不同阶段的抗病毒作用及机制的研究进展。

3.1 ISGs 抑制 SARS-CoV-2 入侵

在 SARS-CoV-2 以内吞方式入侵过程中,干扰素刺激因子核受体共激活因子 7 (nuclear receptor coactivator 7, NCOA7)与囊泡 ATP 酶相互作用,促进内体-溶酶体囊泡酸化和蛋白酶活性,内体酸化或延长蛋白酶激活可能导致 S 蛋白的异常加工,在功能上损害病毒粒子的其他成分或最终在溶酶体中降解,从而抑制病毒入侵^[17]。

可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感性因子附着蛋白 α (alpha-soluble NSF attachment protein, α -SANP)是一个新的 ISG,在 SARS-CoV-2 感染过程表达上调,可与弗林蛋白酶的 P 结构域直接结合并抑制其酶活性^[18]。弗林蛋白酶能够裂解

病毒 S 蛋白促进病毒入侵细胞, α -SNAP 在经典的细胞囊泡转运过程发挥重要作用^[19], 该研究揭示了 α -SNAP 独立于囊泡转运的新功能, 丰富了宿主针对病毒感染的防御机制。

研究人员发现组织蛋白酶不仅促进病毒内吞作用, 还可有效切割并激活 S 蛋白促进病毒入侵^[20]。ISG CD74 的甲状腺球蛋白结构域能够抑制组织蛋白酶活性^[21], 从而抑制 SARS-CoV-2 等病毒入侵细胞过程。

SARS-CoV-2 入侵细胞主要通过 ACE2 受体, Zu 等^[22]的研究表明, 病毒入侵还需要位于细胞膜上的胆固醇, 以便与细胞膜融合并入侵细胞。胆固醇-25-羟化酶(cholesterol-25-hydroxylase, CH25H)的酶活性会产生一种修饰的胆固醇, 即 25-羟基胆固醇(25-hydroxycholesterol, 25HC), 可移除细胞膜中的胆固醇, 从而阻止 SARS-CoV-2 进入宿主细胞。

TRIM28 是人类三聚体蛋白 TRIM 家族中的一员, TRIM28 可与病毒基因组结合, 抑制内源性逆转录病毒转录^[23], 在 SARS-CoV-2 感染肺上皮细胞中, TRIM28 可通过抑制 ACE2 的表达来抑制 SARS-CoV-2 入侵^[24]。

3.2 ISGs 抑制转录复制

2',5'-寡腺苷酸合成酶 1 (2',5'-oligoadenylate synthetase 1, OAS1) 识别并直接结合病毒 dsRNA, 激活 RNase L, 并通过 RNase L 有效地抑制 SARS-CoV-2^[25]。RNase L 是宿主细胞中广泛存在的天然抗病毒免疫组分, 被配体招募激活后, 通过切割病毒 RNA、诱导 IFN 分泌等方式激活细胞的天然抗病毒免疫^[26]。

含四肽重复序列的干扰素诱导蛋白(interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats, IFIT)家族通过结合和隔离 5'三磷酸或 2'-O-未甲基化的单链 RNA, 以抑制病毒 RNA 复制^[27-28]。在应激刺激下, 精子发生相关富含丝氨酸样 2 蛋白(spermatogenesis associated serine rich 2 like,

SPATS2L)作为 RNA 结合蛋白被招募到细胞质应激颗粒中, 病毒 RNA 可以被隔离, 以减少病毒基因组的合成^[29]。研究表明, Z-DNA 结合蛋白(Z-DNA binding protein 1, ZBP1)在体外感染 SARS-CoV-2 过程中具有抗病毒活性, ZBP1 通过 ZBP1-RIPK1-RIPK3 炎症信号通路, 促进 SARS-CoV-2 诱导炎症细胞因子的产生^[30]。研究表明, IFIT3、SPATS2L、ZBP1 可有效抑制 SARS-CoV-2 RNA 复制^[31]。

3.3 ISGs 抑制翻译

程序化 -1 核糖体移码(programmed -1 ribosomal frameshifting, -1 PRF)是一种广泛使用的翻译记录机制。SARS-CoV-2 等多种病毒普遍利用 -1 PRF, 实现同一转录本翻译出不同蛋白质, 提高基因组的编码能力。冠状病毒利用这种机制编码复制转录关键基因 1a/1b。Zimmer 等^[32]应用 GFP/mCherry 移码荧光报告系统, 发现锌指抗病毒蛋白(zinc finger antiviral protein, ZAP)具有最明显的抑制移码作用。

ISGs 产物 C19orf66 (又称 Shiftless)可抑制包括 SARS-CoV-2 等病毒 mRNA 的 -1 PRF^[33]。SFL 与靶 mRNA 的 -1 PRF 信号相互作用并在移码位点引起过早终止翻译。

3.4 ISGs 抑制组装与病毒粒子释放

病毒粒子在 ERGIC 组装过程中, 病毒蛋白的积累可触发内质网相关性降解(endoplasmic reticulum-associated degradation, ERAD)反应。研究发现, ERAD 调节因子 ERLIN1^[34]和另外 2 个参与 ERAD 通路的 RETREG1 和 FNDC4 因子, 明显抑制 SARS-CoV-2 复制的后期阶段, 这表明与 ERAD 通路相关的因素可作为 SARS-CoV-2 感染的抑制剂^[31], 参与囊泡运输因子例如 NAPA, 作为 SARS-CoV-2 复制的关键负调控因子。在负责蛋白质包装的亚细胞隔室中, 同时特异性抑制 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 的复制^[31]。另外 Martin-Sancho 等^[31]发现 BST2/tetherin 抑制

SARS-CoV-2 的释放, 并且能够被 SARS-CoV-2 辅助蛋白(open reading frame) ORF7a 拮抗。

总之, ISGs 可靶向 SARS-CoV-2 生命周期的不同阶段发挥有效的抗病毒作用(图 1), 因此, 未来对于 ISGs 的研究将有利于针对新型冠状病毒肺炎设计预防及免疫治疗策略。

4 SARS-CoV-2 逃逸 ISGs 的抗病毒作用

在宿主对抗病毒入侵的过程中, 虽然多种 ISGs 可靶向病毒入侵到释放的不同阶段发挥抗病毒活性。然而, 许多研究表明, SARS-CoV-2 通过各种策略干扰或逃避宿主天然免疫。

E3 泛素连接酶 TRIM25 介导 RIG-I 的半胱天冬酶激活招募结构域(caspase activation and recruitment domain, CARD)的 K63 泛素化, 是目前已知的 RIG-I 活化并激活下游信号通路最重要的修饰^[35], SARS-CoV-2 N 蛋白靶向 TRIM25

介导的 RIG-I 激活来抑制宿主天然免疫^[36-37]。SARS-CoV-2 M 蛋白与 RIG-I、MAVS 和 TANK 结合激酶 1 (Tank binding kinase 1, TBK1)相互作用, M 蛋白通过靶向 RIG-I/黑色素瘤分化相关基因 5 (melanoma differentiation associated gene-5, MDA-5)信号通路拮抗 I 型和 III 型 IFN 的产生, 进而拮抗宿主抗病毒免疫, 增强病毒自身复制^[38]。

NSP3 主要针对泛素链, 靶向泛素样蛋白 ISG15 的 K48 泛素链, 抑制 ISG15 对 IRF3 的激活, 并减弱 I 型干扰素应答^[39]。NSP5 靶向 IFN 通路关键病毒 RNA 识别受体 RIG-I, 并抑制 RIG-I 与其 E3 泛素连接酶 TRIM25 结合, 降低其 K63 泛素化, 抑制 I 型 IFN 的产生。另一方面可通过促进转录因子 STAT1 的自噬降解, 削弱 STAT1 入核, 从而抑制 I 型 IFN 介导的 JAK-STAT 通路^[40]。另外 Chen 等还发现 NSP5 在多个位点切割 NEMO (NF- κ B essential modulator)抑制 IFN- β 表达^[41], 帮助 SARS-CoV-2 实现天然免疫逃逸。

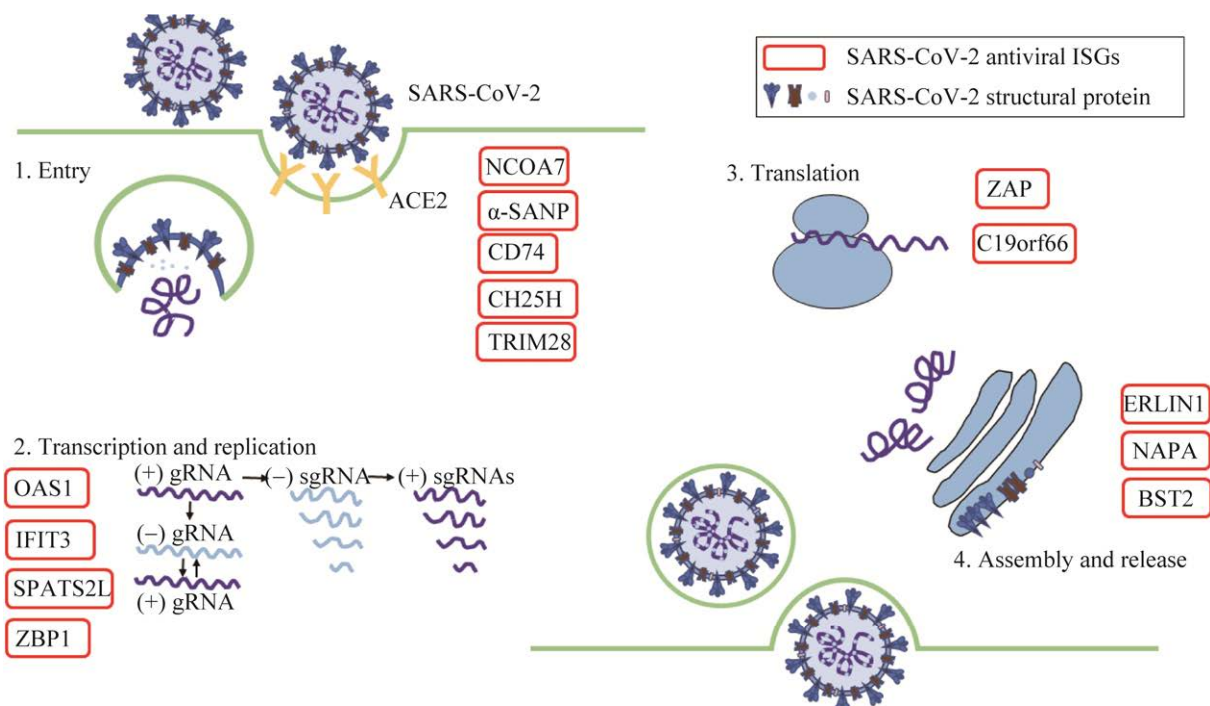


图 1 ISGs 抑制 SARS-CoV-2 复制周期各阶段示意图

Figure 1 Schematic representation of the ISGs target specific steps of the SARS-CoV-2 life cycle.

SARS-CoV-2 的 ORF6 定位于核孔复合物 (nuclear pore complex, NPC), 并通过其 C 端结构域直接与 Nup98-Rae1 相互作用, NUP98-RAE1 复合物是 IFN 诱导的核转运复合物, 这种结合破坏核转运蛋白与输入蛋白复合物的对接, 破坏 IRF3 和 STAT1 的核易位^[42-43]。此外, ORF6 的点突变 M58R 会削弱 ORF6 与 Nup98-Rae1 复合物的结合, 并消除其对 IFN 信号通路的拮抗功能。MAVS 是天然免疫信号通路中重要的 RNA 传感适配器。线粒体外膜转运酶(translocase of mitochondrial outer membrane 70, TOM70)是激活 MAVS 所需的线粒体蛋白。Thorne 等^[44]发现, SARS-CoV-2 的 ORF9b 通过与 TOM70 相互作用, 抑制天然免疫反应。此外, 磷酸化后的 ORF9b 的拮抗作用会受到抑制。这说明, ORF9b 受到宿主激酶的调控来发挥对天然免疫系统的调控。未磷酸化的 ORF9b 最大限度地活跃结合 TOM70, 从而产生有效的天然免疫拮抗并利于病毒自身复制, 但随着宿主天然免疫的激活, ORF9b 被磷酸化并关闭拮抗功能, 宿主从而驱动随后的天然免疫激活。

目前 SARS-CoV-2 依然不能得到有效防治的主要原因来源于其成功地逃避宿主免疫防御系统, 对于许多病毒蛋白来说, 它们是否也针对 IFN 的诱导或应答有待进一步确定。此外, 单个蛋白对 SARS-CoV-2 免疫逃逸的相关性, 以及与其他蛋白的相互作用或协同作用, 目前在很大程度上尚不清楚。因此, 未来还需要更多重组病毒和体内模型的建立与研究, 以更好地理解宿主与病毒互为牵制的防御或逃逸策略。

5 ISGs 双刃剑

干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)是对于天然免疫应答至关重要的 ISG, 环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(cyclic GMP-AMP

synthase, cGAS)-STING 通路是 I 型 IFN 应答的重要组成部分。已有多项研究报道, cGAS-STING 通路参与 SARS-CoV-2 感染。STING 激动剂二酰氨基苯并咪唑(diamidobenzimidazole, DiABZI)通过刺激 I 型 IFN 反应有效地阻止 SARS-CoV-2 感染^[45]。然而 STING 在一定条件下可能发挥相反的作用。SARS-CoV-2 感染的后期会造成上皮细胞线粒体的损伤, 导致线粒体 DNA 在胞浆中积聚。大量的线粒体 DNA 过度激活 cGAS-STING 通路, 导致细胞产生大量的 I 型 IFN, 引起强烈的炎症反应, 而 STING 在增强炎症反应中起中心作用。失调的细胞因子反应推动免疫病理, 包括组织损伤和急性身体损伤^[46]。研究表明, SING 小分子抑制剂 H-151 在减轻 SARS-CoV-2 感染后期的免疫病理反应和改善肺部病理方面发挥了重要作用^[46]。它可能作为一种治疗剂, 在未来减少对 SARS-CoV-2 的有害炎症。

IFITMs 可以对多种病毒具有抗病毒活性^[12-14]。有意义的是, 外源表达的 IFITM 能够阻断 SARS-CoV-2 感染。IFITM 衍生的多肽和靶向抗体可抑制 SARS-CoV-2 在人肺细胞、心肌细胞和肠道类器官中的入侵和复制^[47]。然而, 内源 IFITM 支持人肺细胞高效感染 SARS-CoV-2, 其作用机制是 IFITMs 与 SARS-CoV-2 S 蛋白相互作用并促进病毒与细胞融合, 但过表达和内源性 IFITM 蛋白在 SARS-CoV-2 感染中具有相反的作用的原因依然未知, 这可能与蛋白质的拓扑结构、定位或内吞活性有关。据报道, IFITM3 的特定突变改变了这些特征, 将 IFITM3 从冠状病毒感染的抑制剂转化为增强剂^[48]。这说明 ISGs 对于抵抗病毒感染来说可能是双刃剑, 因此, 要深入探究 ISGs 与病毒相互作用关系, 发挥其抗病毒功能, 减少宿主自身损伤。

6 展望

在天然免疫中, IFNs 是对抗病毒感染的关键角色, SARS-CoV-2 必须克服宿主 IFNs 介导的抗病毒应答来完成自身的复制与传播。IFNs 干预可作为临床治疗 SARS-CoV-2 轻症的措施, 可起到较好的治疗效果^[49-50], 阿比多尔(Arbidol)是一种广谱抗病毒药物, 抑制病毒与宿主膜融合并且能激活宿主 OAS 生成, 抑制病毒 DNA 和 RNA 合成^[51]。有研究表明, IFN- α 2b 联合阿比多尔治疗可显著减少新冠患者上呼吸道病毒感染时间, 并且能降低了血液中炎症因子升高的持续时间。此外, 单独使用阿比多尔、IFN- α 2b 或联合使用阿比多尔和 IFN- α 2b 治疗的患者到病毒清除的平均时间分别为 27.9、21.1 和 20.3 d^[49]。因此, IFN- α 2b 和阿比多尔联合用药是减少病毒载量及其病理后遗症的潜在治疗选择。Zhou 等对 COVID-19 病例的支气管肺泡灌洗液中发现大量 ISGs 表达^[52], 表明患者体内触发了强烈的 IFNs 反应, ISGs 的这种保护潜力可能是 COVID-19 重症比例与致死率较低的原因。然而, 很多患者在症状出现后很早就发现了较高的 SARS-CoV-2 载量^[53], 这表明该病毒可能已经开发出了针对 IFNs 系统的对策。许多研究表明 SARS-CoV-2 多种病毒蛋白已经进化出不同的免疫逃逸机制, 包含非结构蛋白、辅助蛋白和结构蛋白, 如 NSP3、NSP5、ORF6、ORF9b、M 和 N 等, 设计靶向这些病毒蛋白的药物, 对于增强 IFNs 抵抗 SARS-CoV-2 感染可能是一个有效途径。

IFNs 诱导产生多种 ISGs 共同发挥抗病毒作用, 数量种类繁多, 各司其职, 单一 ISG 可能达不到理想的抗病毒效果, SARS-CoV-2 免疫逃逸带来的问题, 可通过组合几种靶向重要复制阶段的 ISG 来解决, 因而对 ISGs 功能更深层次的

研究, 将有助于开发新型更有效抗病毒的靶标药物, 为小分子抑制剂的研发开拓新的领域。

病毒基因组监测数据不断更新揭示 SARS-CoV-2 基因组自然发生的突变, 病毒不断进化也引起了人们对当前疫苗效力的担忧。了解病毒进化如何影响病毒入侵、复制、传播, 以及逃避宿主免疫应答的机制至关重要。近几年内, 关于 SARS-CoV-2 与 ISGs 之间的相互作用的研究取得了重大的进展, 但我们对这些复杂的细节仍处于初步了解阶段, 需要更好地了解 SARS-CoV-2 与 ISGs 之间的相互作用, 来实现基于天然免疫调节对 COVID-19 进行安全有效的预防和治疗。

参考文献

- [1] SCHNEIDER WM, CHEVILLOTTE MD, RICE CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses[J]. *Annual Review of Immunology*, 2014, 32: 513-545.
- [2] YAN RH, ZHANG YY, LI YN, XIA L, GUO YY, ZHOU Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2[J]. *Science*, 2020, 367(6485): 1444-1448.
- [3] OU XY, LIU Y, LEI XB, LI P, MI D, REN LL, GUO L, GUO RX, CHEN T, HU JX, XIANG ZC, MU ZX, CHEN X, CHEN JY, HU KP, JIN Q, WANG JW, QIAN ZH. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 1620.
- [4] CLAUSEN TM, SANDOVAL DR, SPLIID CB, PIHL J, PERRETT HR, PAINTER CD, NARAYANAN A, MAJOWICZ SA, KWONG EM, MCVICAR RN, THACKER BE, GLASS CA, YANG Z, TORRES JL, GOLDEN GJ, BARTELS PL, PORELL RN, GARRETSON AF, LAUBACH L, FELDMAN J, YIN X, et al. SARS-CoV-2 infection depends on cellular heparan sulfate and ACE2[J]. *Cell*, 2020, 183(4): 1043-1057.e15.

- [5] LAI XY, YU YY, XIAN W, YE F, JU XH, LUO YQ, DONG HJ, ZHOU YH, TAN WJ, ZHUANG H, LI T, LIU XY, DING Q, XIANG KH. Identified human breast milk compositions effectively inhibit SARS-CoV-2 and variants infection and replication[J]. *iScience*, 2022, 25(4): 104136.
- [6] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, KRÜGER N, HERRLER T, ERICHSEN S, SCHIERGENS TS, HERRLER G, WU NH, NITSCHKE A, MÜLLER MA, DROSTEN C, PÖHLMANN S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor[J]. *Cell*, 2020, 181(2): 271-280.e8.
- [7] BESTLE D, HEINDL MR, LIMBURG H, VAN LAM VAN T, PILGRAM O, MOULTON H, STEIN DA, HARDES K, EICKMANN M, DOLNIK O, ROHDE C, KLENK HD, GARTEN W, STEINMETZER T, BÖTTCHER -FRIEBERTSHÄUSER E. TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells[J]. *Life Science Alliance*, 2020, 3(9): e202000786.
- [8] XIA S, LAN QS, SU S, WANG XL, XU W, LIU ZZ, ZHU Y, WANG Q, LU L, JIANG SB. The role of furin cleavage site in SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion in the presence or absence of trypsin[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5(1): 92.
- [9] FEHR AR, PERLMAN S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis[J]. *Methods in Molecular Biology: Clifton, N J*, 2015, 1282: 1-23.
- [10] V'KOVSKI P, KRATZEL A, STEINER S, STALDER H, THIEL V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(3): 155-170.
- [11] YONEYAMA M, KIKUCHI M, NATSUKAWA T, SHINOBU N, IMAIZUMI T, MIYAGISHI M, TAIRA K, AKIRA S, FUJITA T. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses[J]. *Nature Immunology*, 2004, 5(7): 730-737.
- [12] HUANG IC, BAILEY CC, WEYERJL, RADOSHITZKY SR, BECKER MM, CHIANG JJ, BRASS AL, AHMED AA, CHI XL, DONG L, LONGOBARDI LE, BOLTZ D, KUHN JH, ELLEDGE SJ, BAVARI S, DENISON MR, CHOE H, FARZAN M. Distinct patterns of IFITM-mediated restriction of filoviruses, SARS coronavirus, and influenza A virus[J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(1): e1001258.
- [13] WRENSCH F, WINKLER M, PÖHLMANN S. IFITM proteins inhibit entry driven by the MERS-coronavirus spike protein: evidence for cholesterol-independent mechanisms[J]. *Viruses*, 2014, 6(9): 3683-3698.
- [14] WINSTONE H, LISTA MJ, REID AC, BOUTON C, PICKERING S, GALAO RP, KERRIDGE C, DOORES KJ, SWANSON CM, NEIL SJD. The polybasic cleavage site in SARS-CoV-2 spike modulates viral sensitivity to type I interferon and IFITM2[J]. *Journal of Virology*, 2021, 95(9): e02422-e02420.
- [15] van GENT M, SPARRER KMJ, GACK MU. TRIM proteins and their roles in antiviral host defenses[J]. *Annual Review of Virology*, 2018, 5(1): 385-405.
- [16] TIAN X, DONG HJ, LAI XY, OU GM, CAO JN, SHI JH, XIANG CG, WANG L, ZHANG XC, ZHANG K, SONG J, DENG J, DENG HK, LU SC, ZHUANG H, LI T, XIANG KH. TRIM56 impairs HBV infection and replication by inhibiting HBV core promoter activity[J]. *Antiviral Research*, 2022, 207: 105406.
- [17] KHAN H, WINSTONE H, JIMENEZ-GUARDEÑO JM, GRAHAM C, DOORES KJ, GOUJON C, MATTHEWS DA, DAVIDSON AD, RIHN SJ, PALMARINI M, NEIL SJD, MALIM MH. TMPRSS2 promotes SARS-CoV-2 evasion from NCOA7-mediated restriction[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(11): e1009820.
- [18] WANG JL, LUO J, WEN ZY, WANG XX, SHUAI L, ZHONG GX, WANG C, SUN ZR, CHEN WY, GE JY, LIU RQ, WANG XJ, BU ZG. Alpha-soluble NSF attachment protein prevents the cleavage of the SARS-CoV-2 spike protein by functioning as an interferon-upregulated furin inhibitor[J]. *mBio*, 2022, 13(1): e0244321.
- [19] JAHN R, LANG T, SÜDHOF TC. Membrane fusion[J]. *Cell*, 2003, 112(4): 519-533.
- [20] ZHAO MM, ZHU Y, ZHANG L, ZHONG GX, TAI LH, LIU S, YIN GL, LU J, HE Q, LI MJ, ZHAO RX,

- WANG H, HUANG WJ, FAN CF, SHUAI L, WEN ZY, WANG C, HE XJ, CHEN QL, LIU BH, XIONG XL, BU ZG, WANG YC, SUN F, YANG JK. Novel cleavage sites identified in SARS-CoV-2 spike protein reveal mechanism for cathepsin L-facilitated viral infection and treatment strategies[J]. *Cell Discovery*, 2022, 8: 53.
- [21] WELLS AI, COYNE CB. Inhibiting Ebola virus and SARS-CoV-2 entry[J]. *Science*, 2020, 370(6513): 167-168.
- [22] ZU SL, DENG YQ, ZHOU C, LI J, LI LL, CHEN Q, LI XF, ZHAO H, GOLD S, HE J, LI X, ZHANG CQ, YANG H, CHENG GH, QIN CF. 25-Hydroxycholesterol is a potent SARS-CoV-2 inhibitor[J]. *Cell Research*, 2020, 30(11): 1043-1045.
- [23] FASCHING L, KAPOPOULOU A, SACHDEVA R, PETRI R, JÖNSSON ME, MÄNNE C, TURELLI P, JERN P, CAMMAS F, TRONO D, JAKOBSSON J. TRIM28 represses transcription of endogenous retroviruses in neural progenitor cells[J]. *Cell Reports*, 2015, 10(1): 20-28.
- [24] WANG YF, FAN YZ, HUANG YT, DU T, LIU ZJ, HUANG DK, WANG Y, WANG NP, ZHANG P. TRIM28 regulates SARS-CoV-2 cell entry by targeting ACE2[J]. *Cellular Signalling*, 2021, 85: 110064.
- [25] WICKENHAGEN A, SUGRUE E, LYTRAS S, KUCHI S, NOERENBERG M, TURNBULL ML, LONEYC, HERDER V, ALLAN J, JARMSON I, CAMERON-RUIZ N, VARJAK M, PINTO RM, LEE JY, ISELIN L, PALMALUX N, STEWART DG, SWINGLER S, GREENWOOD EJD, CROZIER TWM, et al. A prenylated dsRNA sensor protects against severe COVID-19[J]. *Science*, 2021, 374(6567): eabj3624.
- [26] RATH S, PRANGLEY E, DONOVAN J, DEMAREST K, WINGREEN NS, MEIR Y, KORENNYKH A. Concerted 2-5A-mediated mRNA decay and transcription reprogram protein synthesis in the dsRNA response[J]. *Molecular Cell*, 2019, 75(6): 1218-1228.e6.
- [27] ABBAS YM, PICHLMAIR A, GÓRNA MW, SUPERTI-FURGA G, NAGAR B. Structural basis for viral 5'-PPP-RNA recognition by human IFIT proteins[J]. *Nature*, 2013, 494(7435): 60-64.
- [28] HABJAN M, HUBEL P, LACERDA L, BENDA C, HOLZE C, EBERL CH, MANN A, KINDLER E, GIL-CRUZ C, ZIEBUHR J, THIEL V, PICHLMAIR A. Sequestration by IFIT1 impairs translation of 2'O-unmethylated capped RNA[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(10): e1003663.
- [29] ZHU CH, KIM J, SHAY JW, WRIGHT WE. SGNP: An essential stress granule/nucleolar protein potentially involved in 5.8s rRNA processing/transport[J]. *PLoS One*, 2008, 3(11): e3716.
- [30] BASAVARAJU S, MISHRA S, JINDAL R, KESAVARDHANA S. Emerging role of ZBP1 in Z-RNA sensing, influenza virus-induced cell death, and pulmonary inflammation[J]. *mBio*, 2022, 13(3): e0040122.
- [31] MARTIN-SANCHO L, LEWINSKI MK, PACHE L, STONEHAM CA, YIN X, BECKER ME, PRATT D, CHURAS C, ROSENTHAL SB, LIU S, WESTON S, DE JESUS PD, O'NEILL AM, GOUNDER AP, NGUYEN C, PU Y, CURRY HM, OOM AL, MIORIN L, RODRIGUEZ-FRANSEN A, et al. Functional landscape of SARS-CoV-2 cellular restriction[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(12): 2656-2668.e8.
- [32] ZIMMER MM, KIBE A, RAND U, PEKAREK L, YE LQ, BUCK S, SMYTH RP, CICIN-SAIN L, CALISKAN N. The short isoform of the host antiviral protein ZAP acts as an inhibitor of SARS-CoV-2 programmed ribosomal frameshifting[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 7193.
- [33] NAPHTHINE S, HILL CH, NUGENT HCM, BRIERLEY I. Modulation of viral programmed ribosomal frameshifting and stop codon read-through by the host restriction factor shiftless[J]. *Viruses*, 2021, 13(7): 1230.
- [34] PEARCE MMP, WORMER DB, WILKENS S, WOJCIKIEWICZ RJH. An endoplasmic reticulum (ER) membrane complex composed of SPFH₁ and SPFH₂ mediates the ER-associated degradation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(16): 10433-10445.

- [35] GACK MU, KIRCHHOFER A, SHIN YC, INN KS, LIANG CY, CUI S, MYONG S, HA T, HOPFNER KP, JUNG JU. Roles of RIG-I N-terminal tandem CARD and splice variant in TRIM25-mediated antiviral signal transduction[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(43): 16743-16748.
- [36] CHEN KL, XIAO F, HU DW, GE WW, TIAN MF, WANG WB, PAN P, WU KL, WU JG. SARS-CoV-2 nucleocapsid protein interacts with RIG-I and represses RIG-mediated IFN- β production[J]. *Viruses*, 2020, 13(1): 47.
- [37] GORI SAVELLINI G, ANICHINI G, GANDOLFO C, CUSI MG. SARS-CoV-2 N protein targets TRIM25-mediated RIG-I activation to suppress innate immunity[J]. *Viruses*, 2021, 13(8): 1439.
- [38] ZHENG Y, ZHUANG MW, HAN LL, ZHANG J, NAN ML, ZHAN P, KANG DW, LIU XY, GAO CJ, WANG PH. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) membrane (M) protein inhibits type I and III interferon production by targeting RIG-I/MDA-5 signaling[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5: 299.
- [39] SHIN D, MUKHERJEE R, GREWE D, BOJKOVA D, BAEK K, BHATTACHARYA A, SCHULZ L, WIDERA M, MEHDIPOUR AR, TASCHER G, GEURINK PP, WILHELM A, van der HEDEN van NOORT GJ, OVAA H, MÜLLER S, KNOBELOCH KP, RAJALINGAM K, SCHULMAN BA, CINATL J, HUMMER G, CIESEK S, DIKIC I. Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity[J]. *Nature*, 2020, 587(7835): 657-662.
- [40] WU YX, MA L, ZHUANG Z, CAI SH, ZHAO ZY, ZHOU LL, ZHANG J, WANG PH, ZHAO JC, CUI J. Main protease of SARS-CoV-2 serves as a bifunctional molecule in restricting type I interferon antiviral signaling[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5: 221.
- [41] CHEN JY, LI Z, GUO JH, XU SG, ZHOU JW, CHEN Q, TONG X, WANG D, PENG GQ, FANG LR, XIAO SB. SARS-CoV-2 nsp5 exhibits stronger catalytic activity and interferon antagonism than its SARS-CoV ortholog[J]. *Journal of Virology*, 2022, 96(8): e0003722.
- [42] MIORIN L, KEHRER T, SANCHEZ-APARICIO MT, ZHANG K, COHEN P, PATEL RS, CUPIC A, MAKIO T, MEI MH, MORENO E, DANZIGER O, WHITE KM, RATHNASINGHE R, UCCELLINI M, GAO SY, AYDILLO T, MENA I, YIN X, MARTIN-SANCHO L, KROGAN NJ, et al. SARS-CoV-2 Orf6 hijacks Nup98 to block STAT nuclear import and antagonize interferon signaling[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(45): 28344-28354.
- [43] LEI XB, DONG XJ, MA RY, WANG WJ, XIAO X, TIAN ZQ, WANG CH, WANG Y, LI L, REN LL, GUO F, ZHAO ZD, ZHOU Z, XIANG ZC, WANG JW. Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 3810.
- [44] THORNE LG, BOUHADDOU M, REUSCHL AK, ZULIANI-ALVAREZ L, POLACCO B, PELIN A, BATRA J, WHELAN MVX, HOSMILLO M, FOSSATI A, RAGAZZINI R, JUNGREIS I, UMMADI M, ROJC A, TURNER J, BISCHOF ML, OBERNIER K, BRABERG H, SOUCHERAY M, RICHARDS A, et al. Evolution of enhanced innate immune evasion by SARS-CoV-2[J]. *Nature*, 2022, 602(7897): 487-495.
- [45] HUMPHRIES F, SHMUEL-GALIA L, JIANG ZZ, WILSON R, LANDIS P, NG SL, PARSİ KM, MAEHR R, CRUZ J, MORALES-RAMOS A, RAMANJULU JM, BERTIN J, PESIRIDIS GS, FITZGERALD KA. A diamidobenzimidazole STING agonist protects against SARS-CoV-2 infection[J]. *Science Immunology*, 2021, 6(59): eabi9002.
- [46] DOMIZIO JD, GULEN MF, SAIDOUNE F, THACKER VV, YATIM A, SHARMA K, NASS T, GUENOVA E, SCHALLER M, CONRAD C, GOEPFERT C, de LEVAL L, GARNIER CV, BEREZOWSKA S, DUBOIS A, GILLIET M, ABLASSER A. The cGAS-STING pathway drives type I IFN immunopathology in COVID-19[J]. *Nature*, 2022, 603(7899): 145-151.

- [47] PRELLIBOZZO C, NCHIOUA R, VOLCIC M, KOEPKE L, KRÜGER J, SCHÜTZ D, HELLER S, STÜRZEL CM, KMIEC D, CONZELMANN C, MÜLLER J, ZECH F, BRAUN E, GROß R, WETTSTEIN L, WEIL T, WEIß J, DIOFANO F, RODRÍGUEZ ALFONSO AA, WIESE S, et al. IFITM proteins promote SARS-CoV-2 infection and are targets for virus inhibition *in vitro*[J]. Nature Communications, 2021, 12: 4584.
- [48] SHI GL, KENNEY AD, KUDRYASHOVA E, ZANI A, ZHANG LZ, LAI KK, HALL-STOODLEY L, ROBINSON RT, KUDRYASHOV DS, COMPTON AA, YOUNT JS. Opposing activities of IFITM proteins in SARS-CoV-2 infection[J]. The EMBO Journal, 2021, 40(3): e106501.
- [49] ZHOU Q, CHEN V, SHANNON CP, WEI XS, XIANG X, WANG X, WANG ZH, TEBBUTT SJ, KOLLMANN TR, FISH EN. Interferon- α 2b treatment for COVID-19[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 1061.
- [50] LIAN N, XIE H, LIN S, HUANG J, ZHAO J, LIN Q. Umifenovir treatment is not associated with improved outcomes in patients with coronavirus disease 2019: a retrospective study[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2020, 26(7): 917-921.
- [51] SHI L, XIONG H, HE J, DENG H, LI Q, ZHONG Q, HOU W, CHENG L, XIAO H, YANG Z. Antiviral activity of arbidol against influenza A virus, respiratory syncytial virus, rhinovirus, Coxsackie virus and adenovirus *in vitro* and *in vivo*[J]. Archives of Virology, 2007, 152(8): 1447-1455.
- [52] ZHOU Z, REN LL, ZHANG L, ZHONG JX, XIAO Y, JIA ZL, GUO L, YANG J, WANG C, JIANG S, YANG DH, ZHANG GL, LI HR, CHEN FH, XU Y, CHEN MW, GAO ZC, YANG J, DONG J, LIU B, et al. Heightened innate immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients[J]. Cell Host & Microbe, 2020, 27(6): 883-890.e2.
- [53] ZOU LR, RUAN F, HUANG MX, LIANG LJ, HUANG HT, HONG ZS, YU JX, KANG M, SONG YC, XIA JY, GUO QF, SONG T, HE JF, YEN HL, PEIRIS M, WU J. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients[J]. The New England Journal of Medicine, 2020, 382(12): 1177-1179.