

TLR7 在呼吸道合胞病毒感染 A549 细胞诱导 I 型干扰素中的作用

何汉文¹, 王 葱², 杜博易², 吴 璇¹, 于 莉¹, 汪旻旻¹, 黄升海¹

摘要 目的 探讨 Toll 样受体 7 (TLR7) 在呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染 A549 细胞诱导产生 I 型干扰素 (IFN) 抗病毒免疫反应中的作用。方法 实验分正常对照组、RSV 感染组、TLR7 siRNA 沉默组, 分别于感染的 4、8、12、24 h 后收集各组细胞以及培养上清液。TLR7 siRNA 通过瞬时转染 A549 细胞, 半定量 RT-PCR 法检测 TLR7 基因沉默效果; TRIzol 试剂提取细胞总 RNA, 检测 TLR7、干扰素调节因子 7 (IRF7)、IFN- α 、IFN- β 的 mRNA 表达量变化; 通过 Western blot 法检测 TLR7 蛋白表达量; ELISA 法检测感染不同时间点 A549 细胞培养上清液中 IFN α/β 含量的变化。结果 ① 转染 24 h 后 TLR7 siRNA-2 有效抑制 TLR7 mRNA 表达; ② RSV 感染 A549 细胞后, TLR7、IRF7、IFN- α/β 的 mRNA 以及 TLR7 蛋白的表达量均升高, 并与 RSV 感染之间存在时间依赖性关系; 沉默 TLR7 后, TLR7、IRF7、IFN- α/β 的 mRNA 以及 TLR7 蛋白的表达量较感染组均有明显下降; ③ RSV 感染 A549 细胞后, 明显上调细胞培养上清液中 IFN- α/β 的水平, TLR7 siRNA 沉默组 IFN- α/β 的表达水平较 RSV 感染组均下降, 差异有统计学意义, 且 IFN- α 的表达量下调更为显著。结论 RSV 感染 A549 细胞后, TLR7 被活化能够诱导产生 I 型 IFN, 发挥抗病毒作用, 且 TLR7 诱导产生的 I 型 IFN 以 IFN- α 为主。

关键词 呼吸道合胞病毒; A549 细胞; Toll 样受体 7; siRNA; I 型干扰素

中图分类号 R 373.14

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)11-1560-06

呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 是一种有包膜单负链的 RNA 病毒, 属于副黏病毒科肺炎病毒属^[1], 是世界范围内婴幼儿严重下呼吸道感染 (包括肺炎和细支气管炎) 的最常见病原体^[2-3]。目前 RSV 感染的病理机制尚不明确, 迄今仍无理想的治疗药物和疫苗。Toll 样受体 7 (Toll-

like receptor 7, TLR7) 可通过识别病毒的单股 RNA 而活化细胞^[4-5], 诱导 I 型干扰素 (interferon, IFN) 产生, 活化核转录因子 κ B (nuclear factor of κ B, NF- κ B) 的表达, 从而介导免疫炎症反应。本实验通过 RNAi 沉默 TLR7 表达, 研究 RSV 感染 A549 细胞后 TLR7 的活化, 探讨其活化所介导的 I 型 IFN 产生机制及其抗病毒作用, 为临床 RSV 感染的预防与治疗提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和病毒 人肺泡 II 型上皮细胞 A549、人喉癌上皮细胞 (Hep-2) 和 RSV-Long 株 (国际标准株) 均由安徽医科大学微生物学教研室保存。

1.1.2 主要试剂 DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (杭州四季清公司); TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司); TLR7 siRNA (上海百奥迈生物科技有限公司); 逆转录试剂盒 (美国 Fermentas 公司); IFN- α/β 酶联检测试剂盒 (深圳欣博盛生物科技有限公司); 抗 TLR7 抗体、抗 β -actin (美国 Santa Cruz 公司); HRP-羊抗兔 IgG (碧云天生物技术有限公司); 其他试剂为市售分析纯。

1.2 方法

1.2.1 病毒感染量测定 将冻存的 RSV-Long 株与 37 °C 水浴复苏后经 Hep-2 细胞增殖, 病变达 80% ~ 90% 时收获病毒, -80 °C 保存备用。空斑形式试验 (plaque forming unit, PFU) 检测病毒增殖滴度为 1.55×10^8 /ml。

1.2.2 细胞培养与实验分组 将冻存的 A549 细胞复苏后接种于细胞瓶中, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 待细胞长至 80% ~ 90% 用于实验。实验分正常对照组 (同等条件下培养的未感染病毒细胞)、RSV 感染组、TLR7 siRNA 沉默组 (TLR7 siRNA + RSV 组)。

1.2.3 细胞转染条件的优化与转染 取对数生长期的 A549 细胞, 用胰蛋白酶消化, 制备成单细胞悬液接种于 96 孔板, 用不含抗生素的含血清的 DMEM 培养。待细胞长至 80% 时, 弃去含血清的细胞培养液, 用预冷的 PBS 洗涤 3 次, 用无血清无抗生素的

2015-06-20 接收

基金项目: 安徽高校省级自然科学研究重点项目 (编号: KJ2012A152); 安徽省自然科学基金 (编号: 1308085MH129); 安徽省级大学生创新创业训练计划项目 (编号: AH201410366135)

作者单位: 安徽医科大学¹ 基础医学院生物学教研室、² 生命科学学院 2012 级生物技术专业, 合肥 230032

作者简介: 何汉文, 男, 硕士研究生;

黄升海, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: huang-shh68@aliyun.com

DMEM 培养液进行转染, Lipofectamine 2000 与带有 FAM 标记的 siRNA 分别用 opti-MEM 进行稀释, 孵育 20 min 后, 形成 Lipofectamine2000-siRNA 复合物, 均匀加入培养基, 放入 CO₂ 孵箱中培养, 6 h 后更换完全培养基。转染 24 h 后, 将细胞置于荧光显微镜下观察转染效率, 用于优化细胞的转染条件。

以 TLR7 为靶向沉默基因, 设计并合成 3 条 TLR7 siRNA 干扰序列以及 1 条 siRNA 空白对照序列, 取转染 24 h 后细胞, 提取细胞总 RNA, 利用 RT-PCR 法检测 TLR7 mRNA 的表达, 筛选出能有效抑制 TLR7 基因的干扰序列, 以期达到阻断 TLR7 信号通路的目的。

1.2.4 TLR7、IRF7、IFN- α 、IFN- β 的 mRNA 水平检测 收集细胞, 按 TRIzol 试剂盒说明书提取细胞总 RNA, 分光光度计法检测 RNA 的纯度与浓度, 取 1 μ g 总 RNA 按逆转试剂盒说明书程序进行: 42 $^{\circ}$ C 45 min, 95 $^{\circ}$ C 5 min, 4 $^{\circ}$ C 5 min 合成 cDNA。反应结束后, 将逆转录结果体系按 1:5 稀释, 进行 PCR 扩增, 以人 β -actin 的 mRNA 表达作为内参。PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分析, 经凝胶成像分析仪扫描拍照后, 用 Labworks 软件分析测定条带的灰度值, 以目的基因与 β -actin 的比值对 mRNA 表达水平进行半定量分析。各基因的引物序列和扩增片段长度见表 1, 各基因的 PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 退火时间为 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环, TLR7、IRF7、IFN- α 、IFN- β 、 β -actin 退火温度为: 55 $^{\circ}$ C、55 $^{\circ}$ C、57.7 $^{\circ}$ C、57 $^{\circ}$ C、49.4 $^{\circ}$ C。

表 1 人各基因的引物序列和扩增片段大小

基因	引物序列(5'-3')	片段长度 (bp)
TLR7	F: TTTACCTGGATGGAAACCAGCTA	149
	R: TCAAGGCCTGAGAAGCTGTAAGCTA	
IRF7	F: CCCCCATCTTCGACTTCAGA	146
	R: CAGGACCAGGCTCTTCTCCTT	
IFN- α	F: GCAAGCCCAGAAAGTATCTGC	241
	R: ACTGGTTGCCATCAAACCTCC	
IFN- β	F: CAGCAATTTTCAGTGTGAGAAGCT	370
	R: TCATCCTGTCTTGTAGGCCAGT	
β -actin	F: GCCTTTGAGTAATGAGAATTTTCCA	520
	R: ATCAGTTGC AATCAAGAAGTGTTC	

1.2.5 不同感染条件下各组细胞不同时间点 TLR7 蛋白的表达 分别收集正常对照组和不同感染条件各组不同时间点的 A549 细胞并进行裂解, 冰上孵育 30 min 后, 离心收集上清液, 煮沸 5 min, 进行

SDS-PAGE 电泳; 然后将蛋白转移至 PVDF 膜, 转膜后用 5% 的脱脂奶粉, 室温下封闭 1 h, 分别加入 TLR7 (1:500)、 β -actin (1:500) 一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。洗膜后, ECL 显影后曝光并显影, 用 Labworks 软件分析测定灰度值, 进行分析。

1.2.6 不同条件下细胞培养上清液中 IFN- α / β 的表达 收集各实验组细胞培养上清液, 离心后去除沉淀, 分装 EP 管, -80 $^{\circ}$ C 保存, 应避免反复冻融。严格按照 ELSIA 试剂盒说明书进行操作, 酶标仪读取吸光度值, 计算出 IFN- α / β 的表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多个样本均数比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 SNK- q 检验。

2 结果

2.1 转染效率的检测 利用荧光显微镜观察 FAM 标记的 siRNA 转染 A549 细胞, 转染 24 h 后细胞中出现明显的 FAM 标记的绿色荧光, 普通光源下的 A549 细胞对比荧光明场下的绿色荧光细胞, siRNA 的转染效率为 90% (图 1), 初步认为设计合成的 FAM-siRNA 已成功转入细胞内。

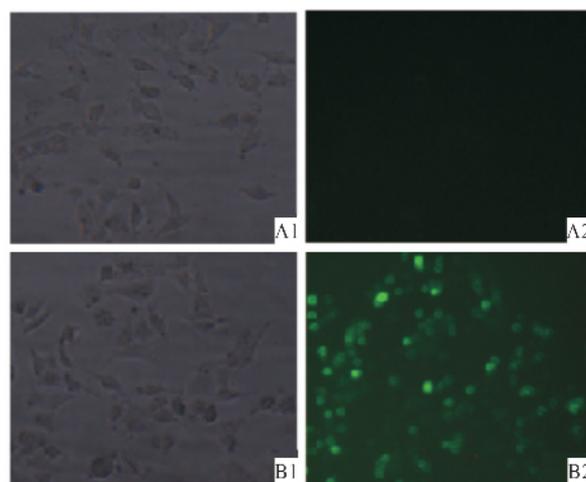


图 1 荧光显微镜观察 FAM-siRNA 转染 A549 细胞 $\times 200$

A: 未转染的 A549 细胞; B: 转染 FAM-siRNA 的 A549 细胞; 1: 普通光源; 2: 荧光明场

2.2 TLR7 siRNA 转染 A549 细胞后 TLR7 mRNA 表达情况 TLR7 siRNA-1、TLR7 siRNA-2、TLR7 siRNA-3 和 siRNA 空白对照分别转染 A549 细胞, 24 h 后对 TLR7 基因进行 RT-PCR 检测结果显示, TLR7 siRNA-2 组较其他组抑制作用最强, 可以更有效地抑制 TLR7 mRNA 的表达, 后续转染实验选择 TLR7 siRNA-2 为最佳的转染序列 (图 2)。

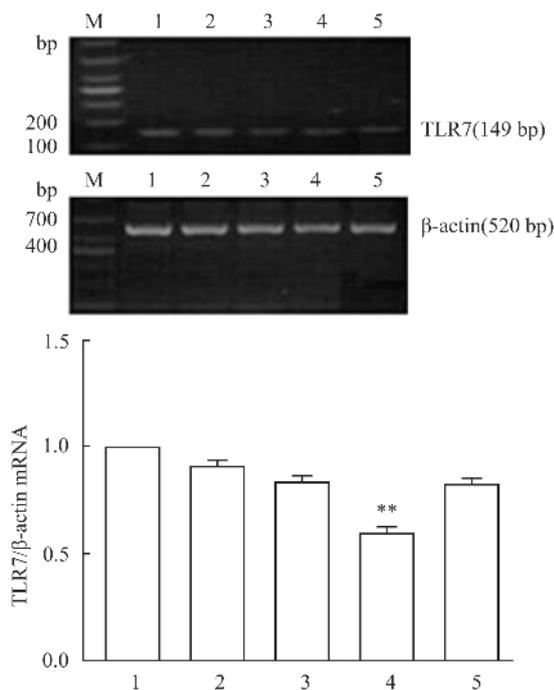


图2 RT-PCR检测转染siRNAs后TLR7 mRNA表达情况

M: Marker; 1: 正常对照组; 2: siRNA 空白对照; 3: TLR7 siRNA-1; 4: TLR7 siRNA-2; 5: TLR7 siRNA-3; 与正常对照组比较: ** $P < 0.01$

2.3 RSV 感染不同时间点各组 TLR7 mRNA 的表达 RT-PCR 测定结果显示,正常对照组的 A549 细胞的 TLR7 表达很低;在 RSV 感染组 TLR7 mRNA 的表达量随时间延长而逐渐增加,有时间依赖性;与正常对照组比较,感染 4 h 后 A549 细胞中的 TLR7 mRNA 转录水平逐渐升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。在 TLR7 siRNA 沉默组,TLR7 mRNA 的表达水平虽有所增加,但较 RSV 感染组同时间点表达量显著降低,差异有统计学意义 ($F = 35.08, P < 0.01$) ,见图 3。

2.4 不同时间点各组 IRF7 mRNA 的表达 正常对照组 A549 细胞中的 IRF7 mRNA 表达量较低;与正常对照组比较,RSV 感染组 IRF7 mRNA 表达量可随时间延长呈上调趋势;在 RSV 感染 A549 细胞 4 h 后,各时间点 IRF7 mRNA 表达水平升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$) ;在 TLR7 siRNA 沉默组,IRF7 mRNA 表达尽管有上升的趋势,但较 RSV 组明显降低,差异有统计学意义 ($F = 29.91, P < 0.01$) ,见图 4。

2.5 IFN-α mRNA 在各组不同时间点的表达 RT-PCR 测定结果显示,正常对照组中 IFN-α mRNA 的表达量很低;RSV 感染组与正常对照组比较,IFN-α mRNA 的表达量升高且有时间相关性,8 h 后 IFN-α mRNA 表达水平升高,差异有统计学意义

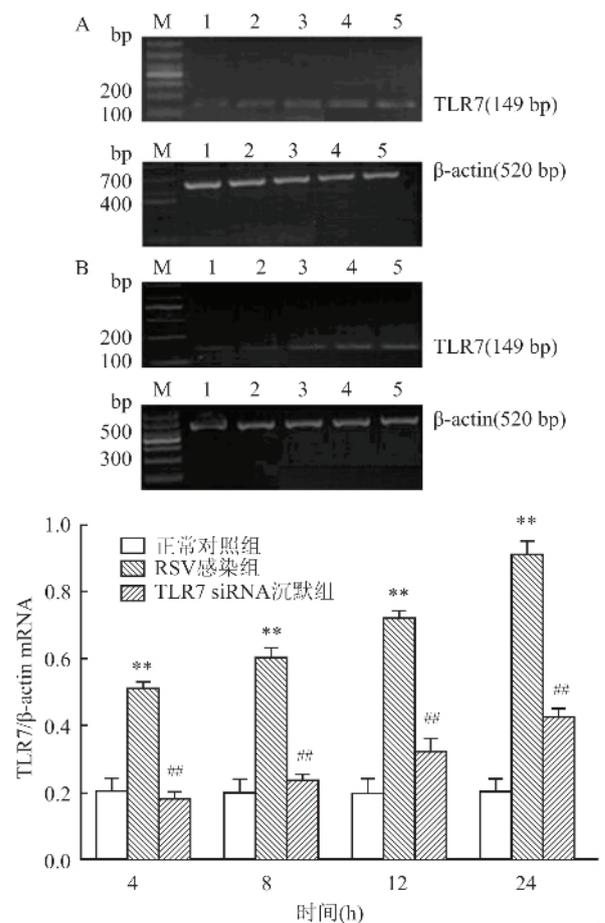


图3 RSV 感染不同时间点对 A549 细胞 TLR7 mRNA 表达的影响

A: RSV 感染组; B: TLR7 siRNA 沉默组; M: Marker; 1: 正常对照组; 2~5: 分别为感染 4、8、12、24 h; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 RSV 感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

($P < 0.01$) ;在 TLR7 siRNA 沉默组,IFN-α mRNA 的表达较 RSV 感染组的表达量显著下降,8 h 后降低,差异有统计学意义 ($F = 11.46, P < 0.05$) 。见图 5。

2.6 IFN-β mRNA 在各组不同时间点的表达 正常对照组的 A549 细胞的 IFN-β mRNA 表达基线很低;RSV 感染组 IFN-β mRNA 的表达量升高且具有时间依赖性。RSV 感染 4 h 后,IFN-β mRNA 表达水平均高于正常对照组,各时间点差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ;在 TLR7 siRNA 沉默组,经 TLR7 siRNA 转染后,细胞表达 IFN-β mRNA 的量虽较正常对照组高,但与 RSV 感染组各时间点比较明显下降,在转染 8 h 后 IFN-β mRNA 的表达量降低,差异有统计学意义 ($F = 11.72, P < 0.05$) 。见图 6。

2.7 TLR7 在各组不同时间点的蛋白水平变化 TLR7 蛋白在正常 A549 细胞中表达非常低,经 RSV 感染后,TLR7 蛋白的表达量随着感染时间的增加,

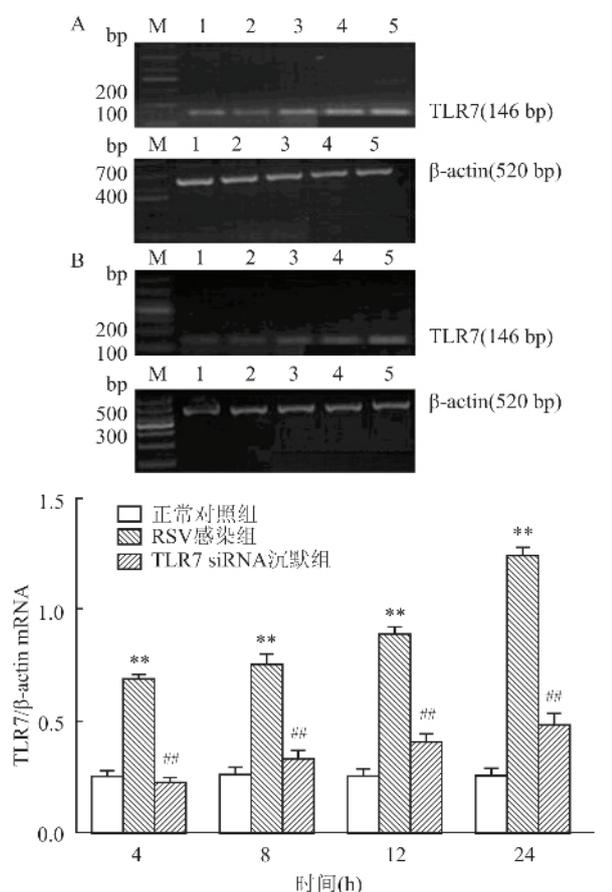


图4 RSV感染不同时间点对A549细胞IRF7 mRNA表达的影响

A: RSV感染组; B: TLR7 siRNA沉默组; M: Marker; 1: 正常对照组; 2~5: 分别为感染4、8、12、24 h; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与RSV感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

不断上调 ($P < 0.01$)。RSV感染A549细胞后,不同感染时间点TLR7蛋白表达量均高于正常对照组,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$); 在TLR7 siRNA沉默组,各时间点均检测到TLR7蛋白表达量,但较RSV感染组明显下降,差异有统计学意义 ($F = 26.90$, $P < 0.01$)。见图7。

2.8 不同条件下细胞培养上清液中IFN- α/β 水平的改变 ELISA法检测A549细胞培养上清液中IFN- α/β 的表达水平变化,RSV感染组IFN- α/β 的表达量较正常对照组逐渐升高,具有时间依赖性。RSV感染组和正常对照组比较,感染的4 h后检测到IFN- α/β 表达水平逐渐升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),12 h后升高有统计学意义 ($P < 0.01$)。在TLR7 siRNA沉默组,不同感染时间点IFN- β 的表达量均低于RSV感染组,24 h后有统计学意义 ($F = 7.845$, $P < 0.05$)。在各感染时间点TLR7 siRNA沉默组,IFN- α 的表达量均低于RSV感染组,12 h后差异有统计学意义 ($F = 6.181$, $P < 0.05$),

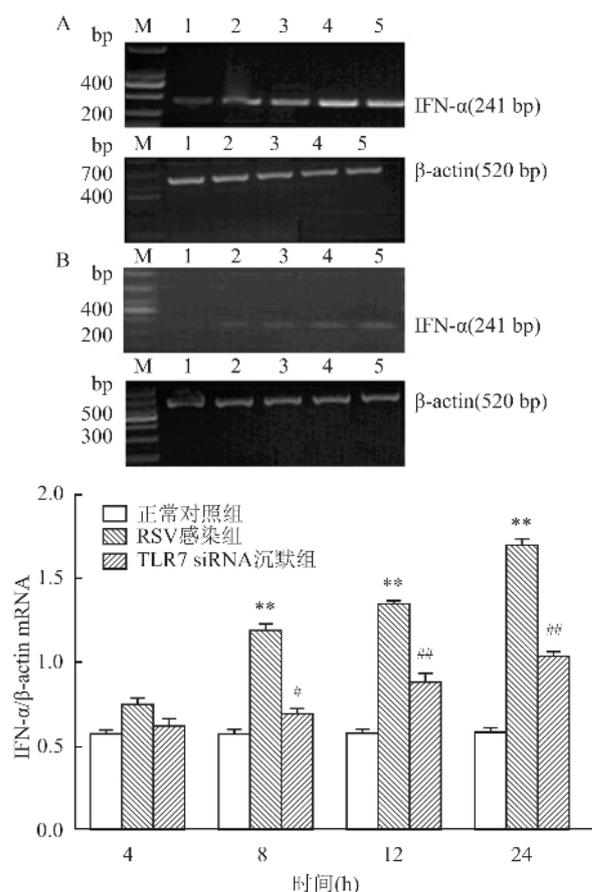


图5 RSV感染不同时间点对A549细胞IFN- α mRNA表达的影响

A: RSV感染组; B: TLR7 siRNA沉默组; M: Marker; 1: 正常对照组; 2~5: 分别为感染4、8、12、24 h; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与RSV感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

且IFN- α 下降的更为明显。见图8。

3 讨论

RSV是引起世界范围内婴幼儿下呼吸道感染最主要病原体之一,感染后可诱导宿主表达大量的细胞因子等生物活性介质,导致严重的细支气管炎、肺炎、哮喘等疾病^[6]。Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)是一类进化保守的模式识别受体,能识别和启动不同病原体的相关模式分子,随后诱导TLRs依赖的基因表达,通过级联反应,进而引起I型IFN和促炎症细胞因子的表达,介导先天性免疫和调节适应性免疫应答来防御病毒的感染^[7]。I型IFN中IFN- α 和IFN- β 是发挥早期抗病毒和调节免疫活性的主要效应分子,IRF7调控干扰素基因的转录表达,其中IRF7活化IFN- α 启动子,导致I型IFN和其他细胞因子的表达和分泌,介导抗病毒免疫应答。但目前对RSV感染诱导干扰素产生及其在RSV致病中的作用仍不明确。已有研究^[8-10]表

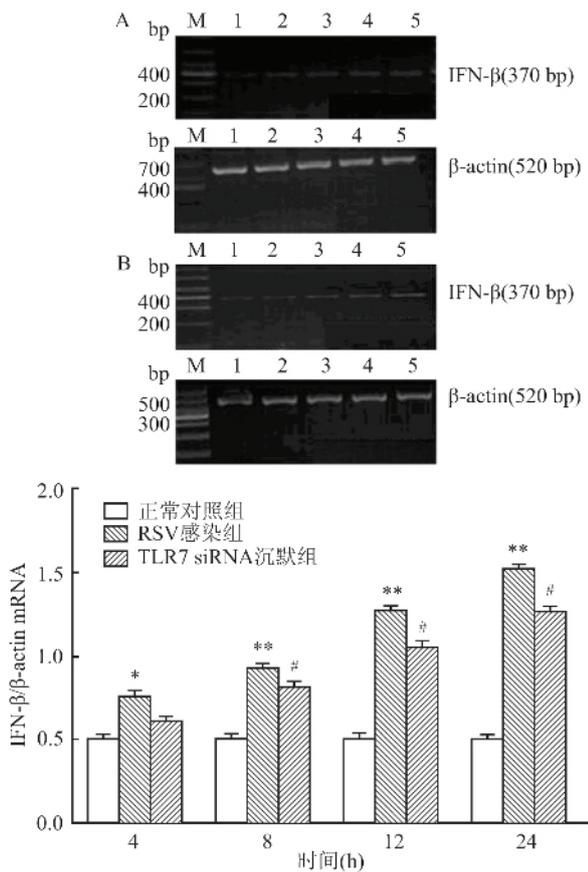


图6 RSV感染不同时间点对A549细胞IFN-β mRNA表达的影响
A: RSV感染组; B: TLR7 siRNA沉默组; M: Marker; 1: 正常对照组; 2~5: 分别为感染4、8、12、24 h; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与RSV感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

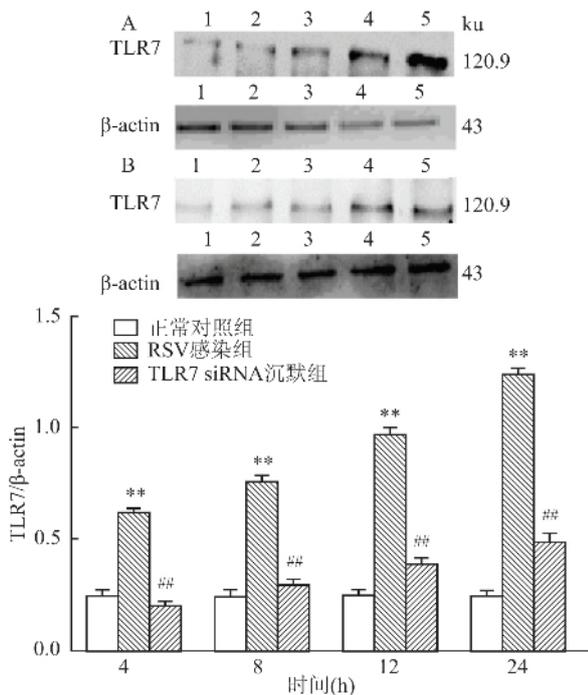


图7 RSV感染不同时间对TLR7蛋白表达的影响
A: RSV感染组; B: TLR7 siRNA沉默组; 1: 正常对照组; 2~5: 分别为感染4、8、12、24 h; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与RSV感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

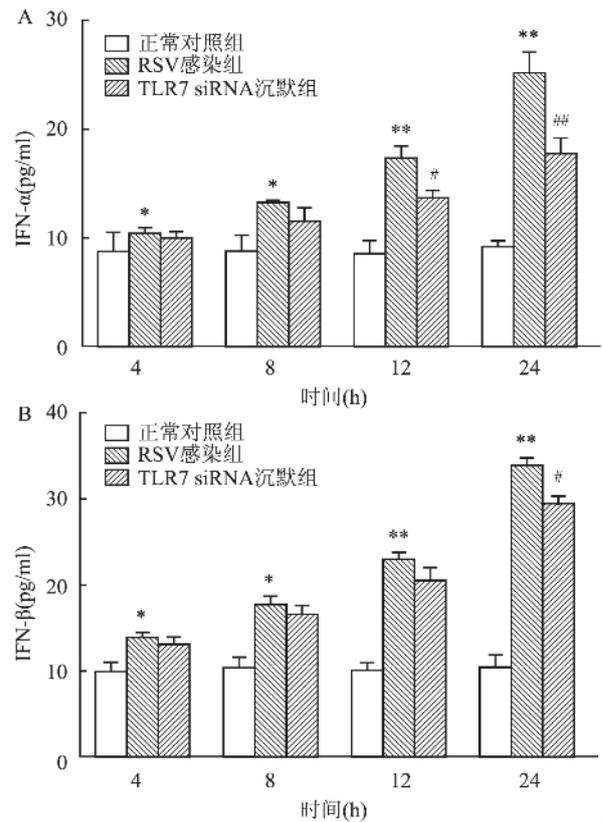


图8 各组不同时间点细胞培养上清液中IFN-α和IFN-β水平变化
A: IFN-α; B: IFN-β; 与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与RSV感染组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

明在RSV感染婴幼儿的鼻咽洗液中检测到I型IFN表达,IFN甚至可以引起免疫病理反应。因此,探讨TLR7活化在介导的I型IFN的产生机制及其在RSV致病中的作用,具有非常重要的意义。

本实验研究表明,RSV感染A549细胞时可活化上调TLR7、IRF7、IFN-α/β的mRNA和TLR7的蛋白表达以及和培养上清液中IFN-α/β;在加入TLR7 siRNA后,TLR7、IRF7、IFN-α/β的表达较RSV感染组明显下调,说明沉默TLR7后,下调了IRF7的表达,进而导致IFN的产生减少,起到的抗病毒作用降低。当A549细胞受到RSV感染时,TLR7识别病毒的ssRNA,主要通过级联反应将信号传递给IRF7,导致I型IFN的表达分泌,介导抗病毒作用。这与Davidson et al^[11]在小鼠肺炎病毒感染BALB/c小鼠诱导急性肺炎的研究结果中TLR7的作用相一致。本课题组用TLR7 siRNA特异性沉默了TLR7的表达,研究其在RSV感染A549细胞中诱导I型IFN的抗病毒作用,更进一步说明了TLR7的作用。

通过研究显示,用TLR7 siRNA抑制了TLR7

mRNA 表达后, IFN- α/β 的表达虽然均有下调, 但 IFN- α 表达较 IFN- β 更显著下调, 表明由 TLR7 诱导产生的最主要 I 型 IFN 可能是 IFN- α , 且 I 型 IFN 的表达至少是部分依赖 TLR7 活化, TLR7 可能为诱导产生 IFN 抗病毒作用中的一个关键因素。进一步研究 TLR7 在机体抗病毒感染中的作用, 可为临床治疗 RSV 感染及研发抗 RSV 新药提供重要思路。

参考文献

- [1] Wong T M, Boyapalle S, Sampayo V, et al. Respiratory syncytial virus (RSV) infection in elderly mice results in altered antiviral gene expression and enhanced pathology[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88764.
- [2] Nair H, Nokes D J, Gessner B D, et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet*, 2010, 375(9725): 1545–55.
- [3] Hall C B. Respiratory syncytial virus in young children[J]. *Lancet*, 2010, 375(9725): 1500–2.
- [4] Lund J M, Alexopoulou L, Sato A, et al. Recognition of single-stranded RNA viruses by Toll-like receptor 7[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(15): 5598–603.
- [5] Crozat K, Beutler B. TLR7: A new sensor of viral infection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(18): 6835–6.
- [6] 黄升海, 刘伟, 史晓娟, 等. 呼吸道合胞病毒感染巨噬细胞诱导炎症基因表达的部分机制研究[J]. *中国人兽共患病学报*, 2009, 25(10): 948–52.
- [7] Meylan E, Tschopp J. Toll-like receptors and RNA helicases: two parallel ways to trigger antiviral responses[J]. *Mol Cell*, 2006, 22(5): 561–9.
- [8] Scagnolari C, Midulla F, Trombetti S, et al. Upregulation of interferon-induced genes in infants with virus-associated acute bronchiolitis[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2007, 232(10): 1355–9.
- [9] Scagnolari C, Midulla F, Pierangeli A, et al. Gene expression of nucleic acid-sensing pattern recognition receptors in children hospitalized for respiratory syncytial virus-associated acute bronchiolitis[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2009, 16(6): 816–23.
- [10] Welliver R C Sr. The immune response to respiratory syncytial virus infection: friend or foe? [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2008, 34(2): 163–73.
- [11] Davidson S, Kaiko G, Loh Z, et al. Plasmacytoid dendritic cells promote host defense against acute pneumovirus infection via the TLR7-MyD88-dependent signaling pathway [J]. *J Immunol*, 2011, 186(10): 5938–48.

The role of TLR7 in A549 cells with the respiratory syncytial virus infection induced type I interferon

He Hanwen¹, Wang Cong², Du Boyi², et al

(¹Dept of Microbiology, ²School of Life Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective This experiment was designed to explore the antiviral effect of TLR7 when A549 cells were infected by respiratory syncytial virus (RSV) to induce the production of type I interferon (IFN). **Methods** This experiment was divided into normal control group, RSV infection group and TLR7 silence group. In each group cell and culture supernatant were collected after having been infected for 4, 8, 12 and 24 h. TLR7 siRNA was transfected in A549 cells by transient transfection. With the use of the RT-PCR assay, TLR7 gene silencing effect could be detected; with the use of Trizol reagent, the total RNA could be extracted and the expression dynamics of mRNA in TLR7, IRF7, IFN- α and IFN- β could be detected; with the use of Western blot, protein expression could be tested; with the use of ELISA, the variation of IFN α/β in the culture supernatant of A549 cells infected in the different points of time could be detected. **Results** ① 24 h after transfection, TLR7 siRNA-2 could restrain the expression of TLR7 mRNA effectively with statistical significance. ② The expression of mRNA in TLR7, IRF7 and IFN- α/β , together with TLR7 protein, which existed time dependent relation with RSV infection, had increased after A549 cells had been infected by RSV. Meanwhile, compared with RSV infection group, the expression of mRNA in TLR7, IRF7 and IFN- α/β , together with TLR7 protein had decreased obviously in TLR7 silence group. ③ Compared with RSV infection group, the expression of IFN- α/β in cell culture supernatant and in TLR7 silent group had decreased, and the expression of IFN- α decreased obviously. It went without saying that the difference of decrease in two groups had statistical significance. **Conclusion** After cell A549 have been infected by RSV, TLR7 could be activated and then induce type I interferon after having been infected by RSV, which play the role in anti-virus. Noticeably, IFN- α accounts for the most of e type I interferon.

Key words respiratory syncytial virus, A549 cells; Toll-like receptors 7; siRNA; Type I interferon