

NF- κ B 信号通路在鱼类先天性免疫中的作用

杨冰贞 张民 王克坚

(厦门大学 近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361102)

摘要: NF- κ B (nuclear factor κ B) 是一种广泛存在的核转录因子。经不同刺激信号激活后, 参与多种免疫反应相关基因的表达调控, 对鱼类先天性免疫调节起着十分重要的作用。对鱼类 NF- κ B 的结构、功能及其信号传导途径进行概述, 并对 NF- κ B 信号通路在鱼类先天性免疫调节中的作用进行综述。

关键词: NF- κ B 信号通路 鱼类 先天性免疫

Role of NF- κ B Signal Pathway in the Innate Immune System of Fish

Yang Bingzhen Zhang Min Wang Kejian

(State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361102)

Abstract: NF- κ B (Nuclear factor κ B) as an ubiquitously expressed nuclear transcription factor, involves in regulating the expression of immune-related genes after activation by a variety of stimuli and thus plays a very important role in the innate immune system of fish. It reviewed the structure, function and the signal pathway of fish NF- κ B. Furthermore, we reviewed the role of NF- κ B signal pathway in the innate immune system in fish.

Key words: NF- κ B signal pathway Fish Innate immune system

核转录因子 NF- κ B 是广泛存在于真核细胞内的重要调节蛋白, 是免疫系统机制的活化剂^[1], 在 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 识别病原相关分子模式后, 通过依赖 MyD88 或 TRIF 信号传导通路, 转录因子 NF- κ B 被诱导激活, 从而启动固有免疫和适应性免疫而抵御病原的入侵。许多研究表明, 它可以被细胞因子 (如 TNF、IL-1) 细菌、病毒、免疫刺激剂等多种刺激物及紫外线所激活。

鱼类兼具先天性与获得性免疫, 但获得性免疫应答效率低且发生相对滞后, 因此先天性免疫在鱼类免疫防御反应中起着重要的作用。对鱼类先天性免疫调控机制研究逐渐成为热点。鱼类 NF- κ B 调控研究尚处于初级阶段, 其信号通路中的免疫相关基因及具体的调控机制研究尚不深入。免疫系统识别抗原并通过 NF- κ B 传递信息, 使得这个可诱导转录因子受到越来越广泛的关注。

1 NF- κ B 家族

NF- κ B 是一种从昆虫到人类, 进化上保守的核转录因子^[2]。在许多物种中都发现了 NF- κ B 活化的信号通路和 NF- κ B 介导的免疫功能。哺乳动物中已经鉴定了 NF- κ B 家族 5 个成员: RelA、RelB、c-Rel、p105/p50 (NF- κ B1) 和 p100/p52 (NF- κ B2)^[3]。非洲爪蟾也已报道有 NF- κ B1、p65、RelB 和 c-rel 基因的存在^[4-7]。在哺乳动物中已经证明 NF- κ B 对免疫和炎症反应起调节作用^[8]。而果蝇的 Dorsal, Dif 和 Relish 在调节不同类型的抗菌肽基因的表达方面也起着关键的作用^[9]。近年来, 鱼类免疫防御相关转录因子 NF- κ B 的研究越来越受关注。已从鳊鱼 (Siniperca chuatsi), 河豚 (Takifugu rubripes), 淡水青鳉鱼 (Oryzias latipes), 牙鲆 (Paralichthys olivaceus) 以及金眼门齿鲷 (Stenotomus chrysops) 等鱼类中被分离出 NF- κ B 家族成员。斑马鱼 (Danio

收稿日期: 2013-09-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41276102), 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队 (IRT0941)

作者简介: 杨冰贞, 女, 硕士研究生, 研究方向: 海洋分子生物学与免疫毒理学; E-mail: bingzhenyang2009@126.com

通讯作者: 王克坚, 男, 博士, 教授, 研究方向: 海洋分子生物学与免疫毒理学; E-mail: wkjian@xmu.edu.cn

erio) 中鉴别出 p65, p100/p52, RelB, c-Rel 和 p50 五个家族成员。且斑马鱼 NF- κ B/I κ B 蛋白序列分析表明与哺乳动物具有高度相似性, 体现了 NF- κ B 家族在进化上的保守性^[10]。

NF- κ B 家族蛋白 N 端都含一个高度保守 RHD 结构域 (Rel-homology domain), 与蛋白的二聚化、DNA 结合以及与抑制蛋白 I κ B 相作用等功能有关。RelA、RelB 和 c-Rel 则在 C 端有转录激活域 (Transactivation domain, TAD), 而 NF- κ B1 和 NF- κ B2 没有^[11]。鳕鱼 p65/I κ B α 序列比对发现它们与其他脊椎动物具有相似的结构域和功能位点, 蛋白模型分析也发现与人类的相应蛋白有相同的折叠结构^[12]。NF- κ B 通过二聚化形成同源或异源二聚体来对不同刺激进行特异性应答, 可诱导的形式是异源二聚体。其中 p50/p65 异源二聚体具有最普遍的 NF- κ B 结合活性^[13]。

2 鱼类中受 NF- κ B 调控的靶基因

NF- κ B 调控着病原应答网络中许多位点上诱导物和效应物的表达。许多基因的启动子序列或增强子序列上都能识别到 NF- κ B 响应的位点 (κ B 结合位点) (表 1), 表明 NF- κ B 是一种多效性的转录因子。这些基因包括免疫和炎症密切相关的细胞因子、急性响应蛋白、细胞黏附蛋白^[14, 15]和诱导性一氧化氮合酶等效应分子。近年来在鱼类研究中发现抗菌肽 hepcidin 和 β -defensin 也受到 NF- κ B 的调控影响。且研究发现, NF- κ B 的诱导激活能够增强免疫应答。从表 1 所列的 κ B 位点发现在不同物种和基因中 NF- κ B 结合位点有所差别, 这种差别导致了与 NF- κ B 结合时有不同的亲和力, 从而特异性调控基因表达。

在目前报道的鱼类研究中, 受到 NF- κ B 调控的靶基因主要包括以下几个方面:

(1) 细胞因子、促炎症因子。NF- κ B 通路是先天免疫系统中细胞信号通路激活的核心^[16]。在先天性免疫应答中, 宿主首先释放细胞因子和其他调节因子防御病原体的入侵。鱼类 NF- κ B 通过对 IL-6、IL1 β ^[17]、IL-12^[18]和 TNF α 等基因的表达调节, 在免疫应答中发挥功能。(2) 急性反应蛋白。如血清淀粉样蛋白 A (Serum amyloid A, SAA)^[19]、

表 1 启动子区含 NF- κ B 结合序列的免疫相关基因

免疫相关基因	物种 (基因序列号)	NF- κ B 结合序列
IL-8	虹鳟, FM206384	TCGGGGACTTGGC
SAA	虹鳟, AM422447	TTAGGGAATTCCA
iNOS	虹鳟, AJ295231	-3200/-2140
IL-6	牙鲈, DQ267937	GGGAAATCCC
G-lysozyme	鳕鱼, AY738131	GTGAAATGTC
	牙鲈, AB050590	GTGAAATCAC
Hepcidin	非洲石斑鱼, HQ541867	-439/-168
	斑马鱼, AY363452	-773
Mx1	斜带石斑鱼, AY574372	GGGAAAAACA
	斑点叉尾鲷鱼, EU100455	AGTTTCGGTTCC
I κ B	鳕鱼, EF407571	GGAAATCCCC
IL1 β	虹鳟, AJ295947	GGGAAATTCC
		GGAAATGTCC
β -defensin	青鳉, AY129305	GGGAAGACTACT
IFN α 1	鲑鱼, DQ354152	GGGAAATTCTC
IFN α 2	鲑鱼, NM001123570	

Mx1^[20, 21]、C9、抗菌肽 hepcidin、防御素 β -defensin 等。NF- κ B 对急性蛋白表达的调节是应激的一种重要变化, 具有广泛的免疫防御意义。(3) 细胞表面受体: Toll 样受体如 TLR5 等^[22, 23]。

特定基因的转录调节往往是需要多个转录因子协同作用的。NF- κ B 并不是调节靶基因的唯一转录因子, 它还能与其他的转录因子如活化蛋白-1 (AP-1) 共同起着调节作用^[24]。许多转录因子启动子序列中也发现了 NF- κ B 结合位点, 由此 NF- κ B 可活化其他转录因子进一步调节基因的表达。

3 NF- κ B 信号转导通路

3.1 NF- κ B 的激活机制

已发现 NF- κ B 信号通路存在于各物种中, 且非常保守^[25]。其激活机制主要依赖于 I κ B 蛋白磷酸化所诱导的泛素化蛋白的水解作用。胞质中 NF- κ B 与 I κ B 蛋白相结合而处于非活性状态。当胞外刺激通过细胞膜上的模式识别受体激活蛋白激酶, 引起 I κ B 发生磷酸化而与 NF- κ B 解离。游离 I κ B 在泛素化蛋白的作用下被降解, NF- κ B 二聚体因其 NLS 的暴露被迅速介导进入细胞核, 与免疫调节基因的特异序列结合介导各种细胞因子和共刺激因子的表达。

3.2 NF- κ B 的抑制蛋白 I κ B

I κ B 家族蛋白包括 I κ B α , I κ B β , κ B γ , I κ B ϵ 和

Bcl-3。I κ B 蛋白的特征是含有 5-7 个锚定蛋白重复结构 ANKS。这些锚定蛋白重复序列和 NF- κ B 的 Rel 同源结构域相互作用,覆盖了 NF- κ B 上的核定位序列 (Nuclear localization sequence, NLS),使 NF- κ B 滞留于细胞质中。其中对 I κ B α 的研究最多,认为其在抑制 NF- κ B 中起主要作用。

与高等脊椎动物和果蝇相比,对鱼类 I κ B α 蛋白的研究报道为数甚少^[26-28]。尽管在一些鱼类中已鉴定出了 I κ B α 样基因序列,但是也仅限于对虹鳟 (Oncorhynchus mykiss)、斑马鱼、牙鲆和鳊鱼的研究,且大多止于转录水平的研究,少有功能研究^[10,27-29]。在免疫信号通路中,NF- κ B 的转录活性往往受到严格调控,因为过度的激活会对宿主造成损伤,因而需要负调节方式来保证信号传导的平衡。而细胞核和细胞质中蛋白 I κ B 的调节是阻止 NF- κ B 激活的机制之一^[30]。已报道斑马鱼 NF- κ B 能与哺乳动物 I κ B α 发生结合作用,且在 LPS 的刺激下,显性抑制蛋白 I κ B 的过表达阻断了 NF- κ B 活性。Zhang 等^[31]研究表明在舌鳎 (Cynoglossus semilaevis) 中存在受 I κ B α 负反馈调节的 NF- κ B-I κ B α 途径。而 Wang 等^[28]则采用免疫共沉淀法研究了鳊鱼 p65 与 I κ B α 的结合作用,同时发现 I κ B α 基因上游调控区包含 NF- κ B 结合位点。这表明 NF- κ B 可使 I κ B α 基因表达上调,新合成的 I κ B α 又抑制了 NF- κ B 活性。从而,I κ B α 通过一个自身的负反馈调节机制保证了 NF- κ B 活性的关闭,以维持细胞的稳定性。

3.3 Toll样受体介导的NF- κ B激活

Toll-NF- κ B 途径是机体免疫反应调节的关键信号通路。Toll 样受体是位于细胞表面的模式识别受体,其介导激活的转录因子 NF- κ B 信号途径可特异性对各种病原体作出应答。不同病原体激活 NF- κ B 信号通路往往涉及不同的支架蛋白和信号蛋白。许多脊椎动物有不止一种 TLR 的报道^[32],目前在鱼类中已经发现了 19 种 TLR^[33]。其中鱼类特有的 TLR 基因(如 TLR21、TLR22 和 TLR23)是在进化过程中保留下来的重要基因,具有重要研究价值。在哺乳动物中,膜结合的 TLR5 识别细菌的鞭毛蛋白成分,并通过 MyD88 途径激活鞭毛介导的 NF- κ B。然而,与哺乳类仅存在单一受体系统不同,虹鳟的细菌鞭

毛识别可通过膜型和可溶型 TLR5 两种受体。体外试验表明,TLR5S 基因能够识别鞭毛并且能辅助增强人 TLR5 所介导的 NF- κ B 活性^[34]。沟鲶 (Ictalurus punctatus) 中只发现了 TLR3 和 TLR5 的部分序列,研究显示纯系沟鲶和杂交品系沟鲶 [Back-cross hybrid Catfish、F1 male (blue \times channel) \times female channel catfish] 在感染爱德华氏菌 (Edwardsiella ictaluri) 后都具有上调表达^[35,36],暗示了它们参与细菌导致的急性感染反应。文昌鱼 (Branchiostoma belcheri) TLR3 能特异性识别病毒复制的中间产物 dsRNA,进而激活 NF- κ B 和干扰素 IFN β 前体。抗 TLR3 单克隆抗体对成纤维细胞 IFN β 的产生起到抑制作用^[37]。

哺乳动物 TLRs 下游信号涉及接头蛋白 (MyD88、SARM、MAL、TRAM 和 TRIF),NF- κ B 的激活,INK 及 IFN 信号通路^[38]。2004 年在斑马鱼基因组中发现了 MyD88、MAL、SARM 和 TICAM 接头蛋白^[39],但没有发现 TRAM 蛋白,表明鱼类 TLRs 下游可能存在有别于哺乳动物的信号通路。

MyD88 能够被除 TLR3 之外的所有 TLR 成员募集,并触发 NF- κ B 信号通路和丝裂素活化蛋白激酶 (Mitogen-activated protein kinase, MAPK)^[40,41]。研究表明,斑马鱼 TLRs 能够通过募集 MyD88 接头蛋白活化 NF- κ B 通路以及 MAPK 通路使细胞释放 TNF α 等促炎因子^[42]。迟钝爱德华菌刺激试验发现牙鲆肾脏中出现脓肿,且脓肿周围大量表达 MyD88 基因^[43],表明迟钝爱德华菌对牙鲆的炎症诱发是一条 MyD88 依赖信号通路。Skjaeveland 等^[44]将大西洋鲑 (Salmo salar) MyD88 导入哺乳动物细胞后,经 CpGODN 刺激能激活 NF- κ B 的表达。

TRIF 只能被 TLR3 和 TLR4 募集,并且活化 NF- κ B 信号通路和转录因子 IRF3。鱼类 TRIF 介导 TLR3 和 TLR22 的信号传导,激活 NF- κ B 进而产生 IFN,但有研究发现鱼类 TRIF 不激活 IRF3^[45,46]。但在红鳍东方鲀研究中,TLR22 能够激活 TRIF 依赖型信号通路而磷酸化转录因子 IRF3,使其活化入核诱导 I 型干扰素的释放^[47]。斜带石斑鱼 (Epinephelus coioides) 的研究中也表明该通路的激活^[48]。此外斑马鱼 TRIF 与 RIP1 相互作用,活化 NF- κ B,而不能通过 TRAF6^[49]。由此发现鱼类 TRIF 在这一功能上

与哺乳动物有所不同。

TIRAP/Mal 和 TICAM/TRAM 则分别作为 MyD88 和 TRIF 的辅助接头蛋白。TIRAP/Ma 辅助 MyD88 募集到细胞表面 TLR2 以及 TLR4 上^[50]。而 TICAM2/TRAM 则辅助 TRIF 募集到内质网 TLR4 上^[51]。

4 鱼类 NF- κ B 先天性免疫应答

昆虫先天性免疫应答主要通过激活 Toll 和 Imd 两条信号途径, 经由 NF- κ B 调控抗菌活性物质的表达。已有研究表明, NF- κ B 信号通路通过调控免疫相关基因的表达在鱼类先天性免疫中发挥着重要的作用。例如, 锥浆虫的感染下, 鲤鱼 (Cyprinus carpio) NF- κ B 能够诱导炎症因子 TNF α 和 IL1 β 表达而产生应答反应^[52]。创伤弧菌刺激 96 h, 口服抗菌肽 epinecidin-1 重组蛋白的鲶鱼 (Silurus asotus) 和斑马鱼增强了 TLR4, IL1 β 及 NF- κ B 等基因的表达, 从而增强了抗菌能力, 使感染死亡率下降^[53]。在另一些研究中发现, 热灭活的大肠杆菌、PGN、LAT 也可以激活 NF- κ B。这说明了 NF- κ B 对多种细菌的刺激产生了免疫应答。目前 NF- κ B 抗菌免疫的研究较少, 且集中于对炎症因子的表达调控。但如前文提及, 在鱼类的许多抗菌分子启动子区上都已发现 NF- κ B 结合位点, 从而进一步提示了 NF- κ B 一方面诱导抗菌物质的合成, 直接杀伤病原微生物; 另一方面诱导炎症因子等引发免疫反应有效抵抗病原微生物的入侵。

Wang 等^[28, 54]发现在 ISKNV 病毒或鲤春病毒血症病毒感染下, NF- κ B 抑制剂 I κ B α mRNA 表达量显著下降, 表明 NF- κ B/I κ B 信号通路参与了病毒感染过程。且传染性胰脏坏死病毒 (IPNV) 感染斑马鱼胚胎细胞时, TNF α 、Mx、IL1 β 及 mmp 等免疫相关基因与转录因子 NF- κ B 表达量均发生上调, 而利用 NF- κ B 特异性抑制剂阻断 NF- κ B 激活通路后, 免疫相关基因转录水平被抑制下调, 感染期间, TNF α 依赖的 NF- κ B 信号通路参与细胞因子和金属蛋白酶基因转录调节^[55]。del Castillo 等^[56]在红鳍东方鲀中鉴别出了两个 dsRNA 依赖的 PKR 亚基 (蛋白激酶 R), 在病毒感染过程中表达均上调, 揭示其具有抗病毒功能。而 PKR 的上调由 IFN- γ 激活引起, 通过荧光素酶试验也表明 PKR 能够激活 NF- κ B 而发挥

抗病毒作用。

在抵抗 RNA 病毒感染的先天免疫中, 主要的两类 PRRs 分别是 TLRs、RLRs。TLR 依赖的信号通路主要通过激活了 NF- κ B 转录因子, 从而诱导抗病毒干扰素的产生。而 RLR 介导的抗病毒免疫信号中, 重要接头 MAVS/IPS-1 也能激活转录因子 NF- κ B, 最终诱导干扰素的产生。I 型干扰素的产生是抗病毒免疫反应中最重要一个方面。大西洋鲑中发现的与哺乳动物 IFN β 相似的 IFN α 1 和 IFN α 2, 经启动子序列分析表明病毒对干扰素激活依赖于 IRF-3 和 NF- κ B, 且 NF- κ B 特异性抑制剂 PDTC 对 Poly I C 诱导的 IFN α 启动子活性的抑制达 90%^[57, 58]。以上的研究发现, NF- κ B 主要通过调控干扰素反应系统或直接诱导抗病毒活性相关蛋白的表达而发挥抗病毒感染作用。因而目前鱼类中 NF- κ B 的激活更多认为是对宿主抵抗病毒病原体的一种保护性反应。但研究发现 IPNV 感染诱导 NF- κ B 的激活, 最终导致宿主细胞死亡^[59]。且哺乳动物研究中发现病毒能够直接激活 NF- κ B 而抑制凋亡, 通过提高宿主细胞的存活能力以延长病毒复制、繁衍后代的时间。可见, NF- κ B 与病毒之间可能存在复杂和紧密关系, 因而有必要进一步研究鱼类 NF- κ B 信号通路对宿主细胞或病毒所发挥的作用。

5 结语

综上所述, TLR-NF- κ B 信号通路保守, 在鱼类先天性免疫应答中同样也能发挥重要的调控作用。作为经典信号转导通路, NF- κ B 在哺乳动物中调控作用研究的比较清楚。目前虽已在鱼类许多免疫基因启动子序列中识别出 NF- κ B 的结合位点, 但对鱼类 NF- κ B 调控作用及机制的研究仍较少。因而, 深入研究 NF- κ B 调控网络, 阐明其在鱼类中的信号转导, 将有利于进一步阐明鱼类对病原刺激的免疫应答机制, 可以为深入了解鱼类的先天性免疫机制奠定重要的基础, 实现有目的地调控 NF- κ B 信号通路, 将为有效增强鱼类抗病能力提供重要的理论指导。

参考文献

- [1] Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF- κ B and the immune response [J]. *Oncogene*, 2006, 25 (51) : 6758-6780.

- [2] Gonzalez-Crespo S, Levine M. Related target enhancers for dorsal and NF-kappa B signaling pathway [J] . Science, 1994, 264 (5156) : 255-258.
- [3] Ghosh S, Hayden MS. New regulators of NF-kappa B in inflammation [J] . Nature Reviews Immunology, 2008, 8 (11) : 837-848.
- [4] Suzuki K, Yamamoto T, Inoue JI. Molecular cloning of cDNA encoding the Xenopus homolog of mammalian RelB [J] . Nucleic Acids Research, 1995, 23 (22) : 4664-4669.
- [5] Kao KR, Hopwood ND. Expression of a mRNA related to c-rel and dorsal in early Xenopus laevis embryos [J] . Proceedings of the National Academy of Sciences, 1991, 88 (7) : 2697-2701.
- [6] Suzuki K, Tsuchida J, Yamamoto T, et al. Identification and expression of the Xenopus homolog of mammalian p100-NF-kappa B2 [J] . Gene, 1998, 206 (1) : 1-9.
- [7] Tannahill D, Wardle FC. Control of axis formation in Xenopus by the NF-kappa B/I kappa B system [J] . The International Journal of Developmental Biology, 1995, 39 (4) : 549.
- [8] Naugler WE, Karin M. NF-kappa B and cancer-identifying targets and mechanisms [J] . Current Opinion in Genetics & Development, 2008, 18 (1) : 19-26.
- [9] Rutschmann S, Jung AC, Hetru C, et al. The Rel protein DIF mediates the antifungal but not the antibacterial host defense in Drosophila [J] . Immunity, 2000, 12 (5) : 569-580.
- [10] Correa RG, Tergaonkar V, Ng JK, et al. Characterization of NF-kappa B/I kappa B proteins in zebrafish and their involvement in notochord development [J] . Molecular and Cellular Biology, 2004, 24 (12) : 5257-5268.
- [11] Huxford T, Ghosh G. A structural guide to proteins of the NF-kappa B signaling module [J] . Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2009, 1 (3) : a000075.
- [12] Huxford T, Huang DB, Malek S, et al. The crystal structure of the I kappa B alpha / NF-kappa B complex reveals mechanisms of NF-kappa B inactivation [J] . Cell, 1998, 95 : 759-770.
- [13] Caamano J, Hunter CA. NF-kappa B family of transcription factors : central regulators of innate and adaptive immune functions [J] . Clinical Microbiology Reviews, 2002, 15 (3) : 414-429.
- [14] Grilli M, Chiu JJS, Lenardo M. NF-kappa B and Rel : participants in a multiform transcriptional regulatory system [J] . International Review of Cytology, 1993, 143 : 1-62.
- [15] Elizabeth B. NF-kappa B and Rel proteins in innate immunity [J] . Advances in Immunology, 1995, 58 : 1.
- [16] Hatada EN, Krappmann D, Scheidereit C. NF-kappa B and the innate immune response [J] . Current Opinion in Immunology, 2000, 12 : 52-58.
- [17] Wang T, Zou J, Cunningham C, et al. Cloning and functional characterisation of the interleukin-1beta promoter of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J] . Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Gene Structure and Expression, 2002, 1575 (1) : 108-116.
- [18] Nascimento DS, Vale A, Tomás AM, et al. Cloning, promoter analysis and expression in response to bacterial exposure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) interleukin-12 p40 and p35 subunits [J] . Molecular Immunology, 2007, 44 (9) : 2277-2291.
- [19] Lin B, Chen S, Cao Z, et al. Acute phase response in zebrafish upon *Aeromonas salmonicida* and *Staphylococcus aureus* infection : Striking similarities and obvious differences with mammals [J] . Molecular Immunology, 2007, 44 (4) : 295-301.
- [20] Collet B, Boudinot P, Benmansour A, et al. An Mx1 promoter reporter system to study interferon pathways in rainbow trout [J] . Developmental & Comparative Immunology, 2004, 28 (7) : 793-801.
- [21] Chen YM, Su YL, Lin JHY, et al. Cloning of an orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) Mx cDNA and characterisation of its expression in response to nodavirus [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2006, 20 (1) : 58-71.
- [22] Moon JY, Nam BH, Kong HJ, et al. Maximal transcriptional activation of piscine soluble Toll-like receptor 5 by the NF-kappa B subunit p65 and flagellin [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2011, 31 (6) : 881-886.
- [23] Su J, Jang S, Yang C, et al. Genomic organization and expression analysis of Toll-like receptor 3 in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2009, 27 (3) : 433-439.
- [24] Dann SG, Ted Allison W, Veldhoen K, et al. Chromatin immunoprecipitation assay on the rainbow trout opsin proximal promoters illustrates binding of NF-kappa B and c-jun to the SWS1 promoter in the retina [J] . Experimental eye research, 2004, 78 (5) : 1015-1024.
- [25] Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins :

- evolutionarily conserved mediators of immune responses [J] .
Science Signaling, 1998, 16 (1) : 225.
- [26] Kong HJ, Moon JH, Moon JY, et al. Cloning and functional characterization of the p65 subunit of NF- κ B from olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J] . Fish and Shellfish Immunology, 2011, 30 : 406-411.
- [27] Yazawa R, Kondo H, Hirano I, et al. Cloning and characterization of the I κ B α gene from Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J] s. Fish and Shellfish Immunology, 2007, 23 : 808 -814.
- [28] Wang L, Zhou ZH, Guo CJ, et al. The alpha inhibitor of NF- κ B (I κ B α) from the mandarin fish binds with p65 NF- κ B. Fish and Shellfish Immunology, 2009, 26 : 473-482.
- [29] Sangrador-Vegas A, Smith TJ, Cairns, MT. Cloning and characterization of a homologue of the alpha inhibitor of NF-kappaB in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J] . Veterinary Immunology and Immunopathology, 2005, 13 : (1-2) : 1-7.
- [30] Yamamoto M, Takeda K. Role of nuclear I κ B proteins in the regulation of host immune responses [J] . Journal of Infection and Chemotherapy, 2008, 14 (4) : 265-269.
- [31] Zhang M, Xiao Z, Sun L. Overexpression of NF- κ B inhibitor alpha in *Cynoglossus semilaevis* impairs pathogen-induced immune response [J] . Developmental & Comparative Immunology, 2012, 36 (1) : 253-257.
- [32] Roach JC, Glusman G, Rowen L, et al. The evolution of vertebrate Toll-like receptors [J] . Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102 (27) : 9577-9582.
- [33] Jault C, Pichon L, Chluba J. Toll-like receptor gene family and TIR-domain adapters in *Danio rerio* [J] . Molecular Immunology, 2004, 40 (11) : 759-771.
- [34] Tsujita T, Ishii A, Tsukada H, et al. Fish soluble Toll-like receptor (TLR) 5 amplifies human TLR5 response via physical binding to flagellin [J] . Vaccine, 2006, 24 (12) : 2193-2199.
- [35] Bilodeau AL, Peterson BC, Bosworth BG. Response of toll-like receptors, lysozyme, and IGF-I in back-cross hybrid (F1 male (blue \times hannel) \times emale channel) catfish challenged with virulent *Edwardsiella ictaluri* [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2006, 20 (1) : 29-39.
- [36] Peterson BC, Bosworth BG, Bilodeau AL. Differential gene expression of IGF-I, IGF-II, and toll-like receptors 3 and 5 during embryogenesis in hybrid (channel \times lue) and channel catfish [J] . Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Molecular & Integrative Physiology, 2005, 141 (1) : 42-47.
- [37] Doyle SE, Oconnell R, Vaidayasa SA, et al. Toll-like receptor 3 mediates a more potent antiviral response than toll-like receptor 4 [J] . Journal of Immunology, 2003, 170 (7) : 3565-3571.
- [38] Kawai T, Akira S. TLR signaling [J] . Cell Death & Differentiation, 2006, 13 (5) : 816-825.
- [39] Jault C, Pichon L, Chluba J. Toll-like receptor gene family, TIR-domain adapters in *Danio rerio* [J] . Molecular Immunology, 2004, 40 : 759-771.
- [40] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity : update on Toll-like receptors [J] . Nature Immunology, 2010, 11 (5) : 373-384.
- [41] O' Neill LAJ, Bowie AG. The family of five : TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling [J] . Nature Reviews Immunology, 2007, 7 (5) : 353-364.
- [42] Dong C, Davis RJ, Flavell RA. MAP kinases in the immune response [J] . Annual Review of Immunology, 2002, 20 : 55-72.
- [43] Takano T, Kondo H, Hirano I, et al. Identification and characterization of a myeloid differentiation factor 88 (MyD88) cDNA and gene in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J] . Developmental and Comparative Immunology, 2006, 30 : 807-816.
- [44] Skjaveland I, Iliev DB, Strandskog G, et al. Identification and characterization of TLR8 and MyD88 homologs in Atlantic salmon (*Salmon salar*) [J] . Development and Comparative Immunology, 2009, 33 : 1011-1017.
- [45] Oshiumi H, Matsuo A, Matsumoto M, et al. Pan-vertebrate toll-like receptors during evolution [J] . Current Genomics, 2008, 9 : 488-493.
- [46] Fan S, Chen S, Liu Y, et al. Zebrafish TRIF, a Golgi-localized protein, participates in IFN induction and NF-kappaB activation [J] . Journal of Immunology, 2008, 180 : 5373-5383.
- [47] Matsuo A, Oshiumi H, Tsujita T, et al. Teleost TLR22 recognizes RNA duplex to induce IFN and protect cells from birnaviruses [J] . Journal of Immunology, 2008, 181 (5) : 3474-3485.
- [48] 丁旭. 斜带石斑鱼 Toll 样受体 22 基因的 cDNA 克隆, 模式分析及其信号通路的初步探讨 [D] . 海口 : 海南大学, 2012.
- [49] Engeszer RE, Barbiano D, Alberici L, et al. Timing and plasticity of shoaling behavior in the zebrafish, *Danio rerio* [J] . Animal

- Behavior, 2007, 74 (5) :1269-1275.
- [50] Kagan JC, Medzhitov R. Phosphoinositide-mediated adaptor recruitment controls Toll-like receptor signaling [J] . Cell, 2006, 125 (5) :943-955.
- [51] Kagan JC, Su T, Horng T, et al. TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon- β [J] . Nature Immunology, 2008, 9 (4) :361-368.
- [52] Saeij JPJ, Vries BJ, Wiegertjes GF. The immune response of carp to *Trypanoplasma borreli* : kinetics of immune gene expression and polyclonal lymphocyte activation [J] . Developmental & Comparative Immunology, 2003, 27 (10) :859-874.
- [53] Pan CY, Huang TC, Wang YD, et al. Oral administration of recombinant epinecidin-1 protected grouper (*Epinephelus coioides*) and zebrafish (*Danio rerio*) from *Vibrio vulnificus* infection and enhanced immune-related gene expressions [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32 (6) :947-957.
- [54] Levraud JP, Boudinot P, Colin I, et al. Identification of the zebrafish IFN receptor : implications for the origin of the vertebrate IFN system [J] . Journal of Immunology, 2007, 178 (7) :4385-4394.
- [55] Wang WL, Liu W, Gong HY, et al. Activation of cytokine expression occurs through the TNF α /NF- κ B-mediated pathway in birnavirus-infected cells [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2011, 31 :10-21.
- [56] del Castillo CS, Hikima J, Ohtani M, et al. Characterization and functional analysis of two PKR genes in fugu (*Takifugu rubripes*) [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32 :79-88.
- [57] Bergan V, Steinsvik S, Xu H, et al. Promoters of type I interferon genes from Atlantic salmon contain two main regulatory regions [J] . FEBS Journal, 2006, 273 (17) :3893-3906.
- [58] Robertsen B. Expression of interferon and interferon-induced genes in salmonids in response to virus infection, interferon-inducing compounds and vaccination [J] . Fish & Shellfish Immunology, 2008, 25 (4) :351-357.
- [59] Hong JR, Guan BJ, Her GM, et al. Aquatic birnavirus infection activates the transcription factor NF- κ B via tyrosine kinase signalling leading to cell death [J] . Journal of Fish Diseases, 2008, 31 :451-460.

(责任编辑 狄艳红)