

免疫反應的摩斯密碼 (I)—魚類介白素 1 beta

郭裔培、康世霖、楊順德
水產試驗所淡水養殖研究中心

本文基因和蛋白質表示方法：人類的基因以斜體大寫表示 (*IL1B*)、蛋白質以正體大寫表示 (IL1B)；魚類的基因以斜體小寫表示 (*illb*)、蛋白質以正體首字母大寫表示 (Illb)。

細胞激素簡介

細胞激素 (cytokine) 是一類細胞間訊號傳遞的小分子蛋白，可分為腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor)、介白素 (interleukin, IL)、干擾素 (interferon)、趨化因子 (chemokine) 和群落刺激因子 (colony-stimulating factor) 等五大類，參與生物體的免疫調節，包括發炎反應、免疫細胞增殖和分化、抗體製造和招集免疫細胞等。細胞激素具有多效性 (pleiotropic) 和重複性 (redundant)，多效性是指同一種細胞激素具有多種的生物活性，如 IL6 具有抗發炎和促發炎兩種信號傳導路徑；重複性則是多種細胞激素具有相似的生物活性，例如 IL4 和 IL13 對應的受器均具有 IL4RA 次單元，IL4 和 IL13 與受器結合後啟動下游的信號轉導及轉錄激活蛋白 6 (signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)，參與腸道蠕蟲感染的免疫反應。

介白素的發現

1974 年 Charles Dinarello 等發現人類血液分離的單核球體外以熱殺處理 (heat-killed) 的表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus albus*; 後稱作 *S. epidermidis*) 刺激，會在培養基中分泌一種胞外免疫調節蛋白質，對兔子注射會引起發燒反應 (Dinarello et al., 1974)，並在 1977 年完成蛋白質純化，後續將該免疫調節蛋白質命名為介白素 1 beta (IL1B) (Dinarello et al., 1977)。介白素最初被認為是白血球間的訊號分子而得名 (後續研究發現多種細胞均有分泌介白素的能力)，並依據發現順序以數字命名 (IL1、IL2、IL3……等)，目前已發現 40 餘種的介白素，介白素與其它多種細胞激素共同構成生物體複雜且交互影響的免疫系統，研究顯示，許多疾病與介白素表現量異常相關，如紅斑性狼瘡、類風濕性關節炎和異位性皮膚炎等。

介白素 1 beta 序列

不同物種的 IL1B 蛋白質演化樹如圖 1 所示，硬骨魚、軟骨魚、兩棲類/鳥類及哺乳類的 IL1B 可明顯分為不同集群，在哺乳類中，mRNA 轉譯出的 IL1B 蛋白質前體不具活性，須經由半胱天冬酶 1 (caspase 1；又稱介白素 1 beta 轉換酶 [IL1B converting enzyme, ICE]) 切割天門冬氨酸位點後才具有生理活性，人類和小鼠切割位點分別為 D116 和 D117 (圖 2)

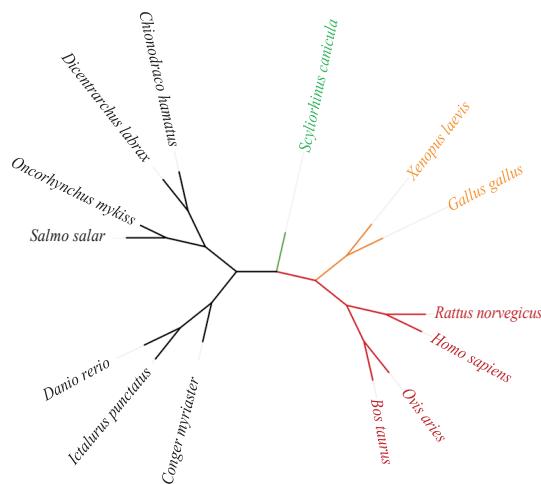


圖 1 IL1B 演化樹

黑色、綠色、橘色和紅色分別代表硬骨魚、軟骨魚、兩棲類/鳥類以及哺乳類，硬骨魚：獨角雪冰魚 (*Chionodraco hamatus*; AJ557885.1)、歐洲鱸 (*Dicentrarchus labrax*; AJ269472.1)、虹鱈 (*Oncorhynchus mykiss*; NM_001124347.2)、大西洋鱈 (*Salmo salar*; AY617117.1)、斑馬魚 (*Danio rerio*; AY340959.1)、斑真鯛 (*Ictalurus punctatus*; NM_001200220.1) 以及星康吉鰻 (*Conger myriaster*; BAF73943.1)；軟骨魚：小點貓鯊 (*Scyliorhinus canicula*; AJ295947.1)；兩棲類/鳥類：非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*; BC170521.1) 和原雞 (*Gallus gallus*; HQ329098.1)；哺乳類：褐家鼠 (*Rattus norvegicus*; NM_031512.2)、智人 (*Homo sapiens*; NM_000576.3)、綿羊 (*Ovis aries*; NM_001009465.2) 和家牛 (*Bos taurus*; NM_174093.1)。序列以 ClustalW 比對，演化樹計算方法使用鄰近連接法 (neighbor joining)

(Krumm et al., 2014; Reis et al., 2012; Secombes et al., 2011)。魚類、兩棲類和鳥類雖然缺乏哺乳類保守性的半胱天冬酶切割位點，但斑馬魚 (*Danio rerio*) 和歐洲鱸 (*Dicentrarchus labrax*) 的 IL1b 已被證實仍然會被進一步切割，斑馬魚的切割位點為 D88、D104 和 D122 (Vojtech et al., 2012)；歐洲鱸的切割位點為 D100，且歐洲鱸的半胱天冬酶-1 還能作用於人類的 pro-IL1B (Reis et al., 2012)，但目前魚類的半胱天冬酶及其 IL1b 切割位點相關研究

較為缺乏，其它魚類的 IL1b 是否也具有半胱天冬酶切割機制有待後續研究探討。

哺乳類的 *IL1B* 基因由 7 個外顯子組成，其中 6 個外顯子為蛋白編碼區，但魚類的 *IL1b* 基因結構則具有多樣性，依據蛋白編碼外顯子數量分為 I 型和 II 型。I 型與哺乳類相同，由 6 個蛋白編碼外顯子組成，如鯉魚 (*Cyprinus carpio*)、斑馬魚；II 型由 5 或 4 個蛋白編碼外顯子組成，如虹鱈 (*Oncorhynchus mykiss*) 和大西洋鱈 (*Gadus morhua*) 有 5 個蛋白編碼外顯子，庸鰈 (*Hippoglossus hippoglossus*) 和歐洲鱸則有 4 個蛋白編碼外顯子 (圖 3)。

IL1B 訊號傳遞路徑

IL1B 訊號傳遞路徑如圖 4a 所示，成熟的 IL1B 與細胞表面上的介白素 1 受體 (interleukin 1 receptor) I 型 (IL1R1) 結合後，和 IL1R3 輔助受體形成三聚體複合物，導致 IL1R1 和 IL1R3 兩者胞內的 toll-IL-1 receptor (TIR) 蛋白質結構域二聚化，透過 MyD88 接合啟動下游的 NF-κB 和 MAPK 免疫路徑。IL1B 的抑制路徑包含 IL1R2 和 IL1 受體拮抗因子 (interleukin 1 receptor antagonist, IL1Ra)，IL1R2 為誘餌受體 (decoy receptor)，缺乏胞內的 TIR 蛋白質結構域，因此與 IL1R1 和 IL1B 形成的三聚體複合物無法進一步與 MYD88 結合 (圖 4b)；IL1Ra 與 IL1R1 結合的二聚體複合物，無法正常與 IL1R3 輔助受體形成三聚體，因此無法啟動胞內免疫路徑 (Dinarello, 2018; Krumm et al., 2014; Mantovani et al., 2019)。

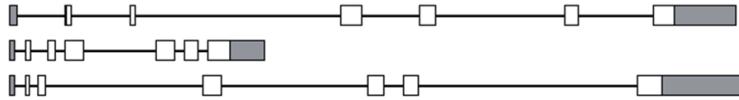
Oncorhynchus mykiss	-----	*	20	*	40	*	60	*	80	*	100	
Salmo salar	-----											53
Chionodraco hamatus	-----											53
Dicentrarchus labrax	-----											47
Danio rerio	-----											47
Ictalurus punctatus	-----											84
Conger myriaster	-----											72
Scyliorhinus canicula	MRTEETGPVITIAVEHEPRTFSVKTDRSLRTSPTTCQIKVPESSPNLTETDAGACCRERGSGYK											100
Xenopus laevis	-----											100
Gallus gallus	-----											80
Bos taurus	-----											71
Ovis aries	-----											76
Rattus norvegicus	-----											76
Homo sapiens	-----											76
		*	120	*	140	*	160	*	180	*	200	
Oncorhynchus mykiss	-EGEGVTMGT-----											144
Salmo salar	-EGEGVTMGT-----											144
Chionodraco hamatus	-EGEGVTMGT-----											132
Dicentrarchus labrax	-----											134
Danio rerio	-----											168
Ictalurus punctatus	-HIK-PQST-----											159
Conger myriaster	-HSYTPRGT-----											135
Scyliorhinus canicula	KLKRPLGQDWYVYDGPRLST-----											192
Xenopus laevis	-----											167
Gallus gallus	R--PSSRD-----											154
Bos taurus	S--AYAHV-----											158
Ovis aries	R--AYEHV-----											158
Rattus norvegicus	LPMSCPFW-----											161
Homo sapiens	MLVPCPQT-----											161
		*	220	*	240	*	260	*	280	*	300	
Oncorhynchus mykiss	-----											233
Salmo salar	-----											233
Chionodraco hamatus	-----											219
Dicentrarchus labrax	-----											221
Danio rerio	-----											258
Ictalurus punctatus	TYASP-SA-FATSAVY-----											249
Conger myriaster	TYMPNPCT-----											224
Scyliorhinus canicula	TYLDRPT-----											279
Xenopus laevis	TYMRNFT-----											258
Gallus gallus	YKTPQF-----											243
Bos taurus	YKTPQF-----											240
Ovis aries	YKVOGE-----											240
Rattus norvegicus	YKVOGE-----											243
Homo sapiens	YKVOGE-----											243
		*	320	*	340							
Oncorhynchus mykiss	-----											260
Salmo salar	-----											260
Chionodraco hamatus	-----											250
Dicentrarchus labrax	-----											261
Danio rerio	-----											284
Ictalurus punctatus	-----											280
Conger myriaster	-----											248
Scyliorhinus canicula	-----											283
Xenopus laevis	-----											267
Gallus gallus	-----											266
Bos taurus	-----											266
Ovis aries	-----											266
Rattus norvegicus	-----											268
Homo sapiens	-----											269

圖 2 不同物種的 IL1B 序列比對

序列以 ClustalW 比對，黑框為 IL1 家族標籤序列，三角形 (▲) 為哺乳類的天門冬氨酸切割位點，序列比對所使用的基因編號與圖 1 相同

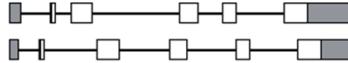
(a)

Homo sapiens (NM_000576.3)



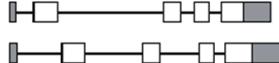
(b)

Oncorhynchus mykiss (NM_001124347.2)



(c)

Hippoglossus hippoglossus (FJ769830)



(d)

Dicentrarchus labrax (AJ269472.1)

圖 3 不同物種的 *il1b* 基因結構，依據分為含有 6 個外顯子蛋白編碼區的 I型(a)、5 個外顯子蛋白編碼區的 II 型(b)以及 4 個外顯子蛋白編碼區的 II 型(c)

非蛋白編碼和蛋白編碼外顯子分別以灰色和白色方框表示，直線代表內顯子。6 個外顯子蛋白編碼區的物種包含智人 (*Homo sapiens*)、鯉魚 (*Cyprinus carpio*)、斑馬魚 (*Danio rerio*)；5 個外顯子蛋白編碼區的物種包含虹鱈 (*Oncorhynchus mykiss*) 和大西洋鱈 (*Gadus morhua*)；4 個外顯子蛋白編碼區的物種包含庸鱈 (*Hippoglossus hippoglossus*) 和歐洲鱈 (*Dicentrarchus labrax*)

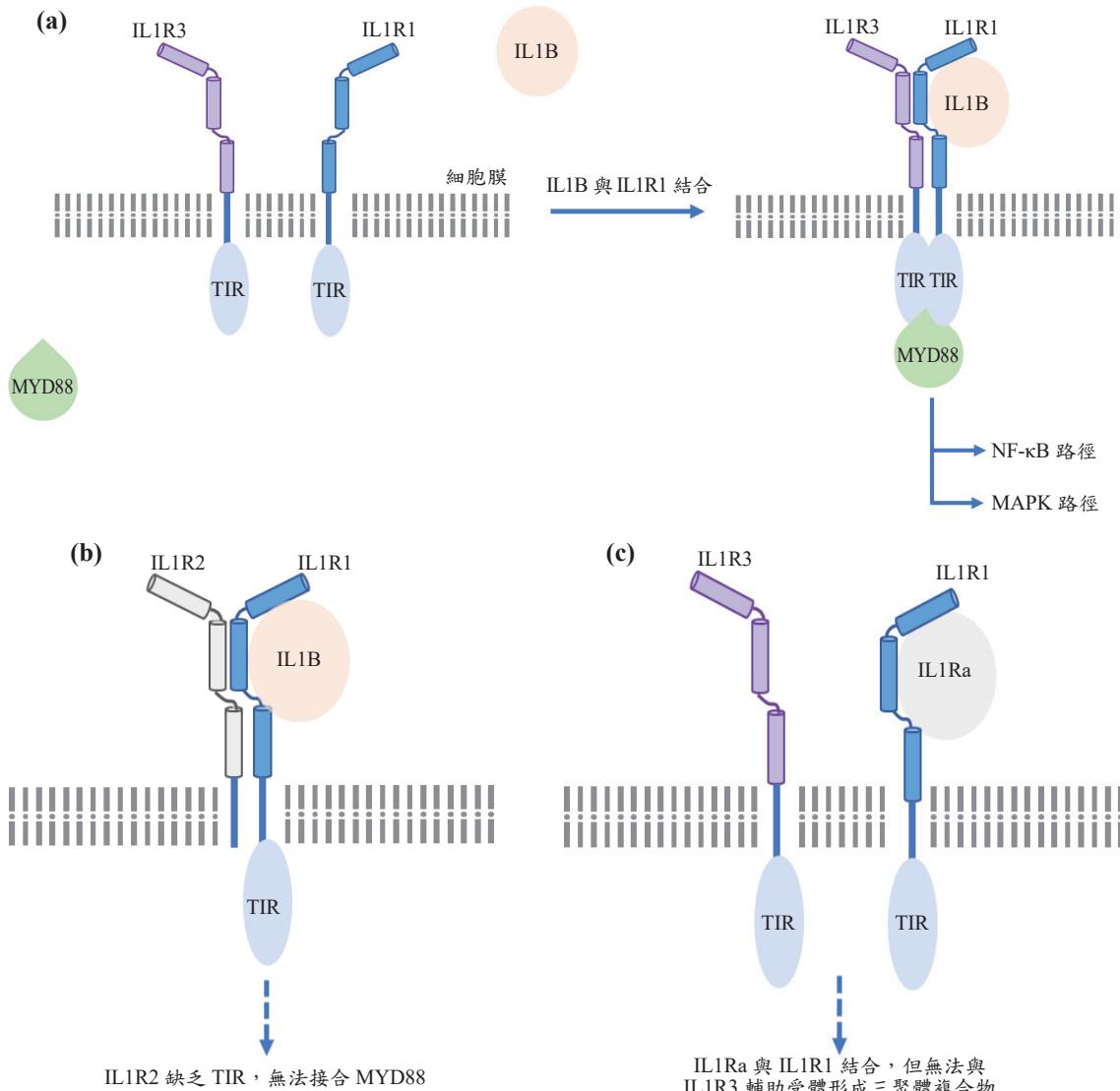


圖 4 IL1B 免疫啟動路徑 (a)、IL1R2 誘餌受體 (b) 和受體拮抗因子 (c) (圖片繪製參考 Krumm et al., 2014)

結語

IL1B 是重要的促發炎細胞激素，已廣泛藉由基因/蛋白質表現分析技術作為生物的免疫狀態評估指標，一般來說，疾病感染、發炎反應或給予免疫刺激物會伴隨 IL1B 表現量提升，反之免疫力不佳時 IL1B 表現量降低。Hong 等 (2003) 以重組 *Il1b* 腹腔注射

虹鱒，能顯著提高鮭魚氣單胞菌 (*Aeromonas salmonicida*) 攻毒的活存率，證實 *Il1b* 參與魚類對抗細菌性疾病感染的免疫反應，具有開發抗生素替代藥物的發展潛力。此外，部分魚種還發現有多種 *il1b* 旁系同源基因，如大西洋鮭具有 *il1b1*、*il1b2*、*il1b3* 和 *il1b4*，但在免疫系統上的調控機制，甚至是否分化出全新的生理功能，尚需要更多的研究探討。