

魚類對滲透壓緊迫的感受與訊號傳遞

許晉榮

水產試驗所海水繁養殖研究中心

前言

鹽度是魚類生存的重要影響因子。在真骨魚類 (teleost)，縱使外界的水域是高滲透壓 (hyperosmotic) 的海水，或是低滲透壓 (hypoosmotic) 的淡水，其體內血漿的滲透壓總是維持恆定，約在 $300 \text{ mOsmo Kg}^{-1}$ 上下，海水魚略高於淡水魚，當遇到外界急速滲透壓變動時，上下起伏也在 $100 \text{ mOsmo Kg}^{-1}$ 以內。此恆定的維持有賴於魚類滲透壓器官 (鰓、腸、腎等) 的良好運作，該吸、排鹽與吸收水分者，各司其職。廣鹽性 (euryhaline) 的魚類，雖然可以面對較大鹽度變化的挑戰，但往往也有其極限，以莫三比克吳郭魚 (*Oreochromis mossambicus*) 為例，馴化於淡水環境下的吳郭魚，突然置於 30 psu 的海水環境下，魚體的滲透壓器官無法面對急速上升的體內滲透壓與氯離子濃度，調控機能失調，在 6 小時內就會死亡；但若先置於較緩和的 20 psu 海水環境下 24 小時，讓體內滲透壓器官先進行調適，此時再移到 30 psu 環境下，則可存活 (Hwang et al., 1989)。

真骨魚類面對滲透壓緊迫 (stress) 是如何應變，以維持生存？Kültz 等人對此提出了一個三階段的細胞感受、訊號傳遞與補償反應的機制 (Fiol and Kültz, 2007; Kültz, 2012)。他們認為當外界滲透壓或離子濃度改

變時，魚類的鰓、腸道、腎、腦等與滲透壓調節有關的組織中，感受較為靈敏的感受細胞 (osmoreceptor) 會發現周遭滲透壓變化，並開始啟動調控機制。由細胞層次來看，滲透壓變化經由膜上的滲透壓感受子 (osmosensor) 往下傳送，再藉由訊號傳遞網絡 (signal transduction network) 將所接受到的資訊加以整合、放大，依據其強度，適當地調控細胞內的各項反應機制 (effector mechanism)，產生補償反應，以便紓解滲透壓變化所產生的緊迫 (圖 1)。以往在滲透壓調控的研究多數著重在魚體感受到緊迫後，細胞所產生的各項反應機制，例如誘導富含粒線體細胞 (mitochondrion-rich cell) 分化，或是刺激細胞內的各項幫浦與運輸蛋白質基因的轉錄、合成，酵素活性增加等。以下針對 Kültz 的三階段機制中的感受機制與訊號傳遞網絡，列舉實例來加以說明。

滲透壓感受子

當細胞偵測到滲透壓緊迫所造成的細胞體積或離子含量變動時，膜上的滲透壓感受子就會啟動，往下傳遞訊息。這些滲透壓感受子包括那些會感受到膜張力或離子變動的膜蛋白質、蛋白質伴侶 (protein chaperone) (如熱休克蛋白)、DNA 或蛋白質等大分子受

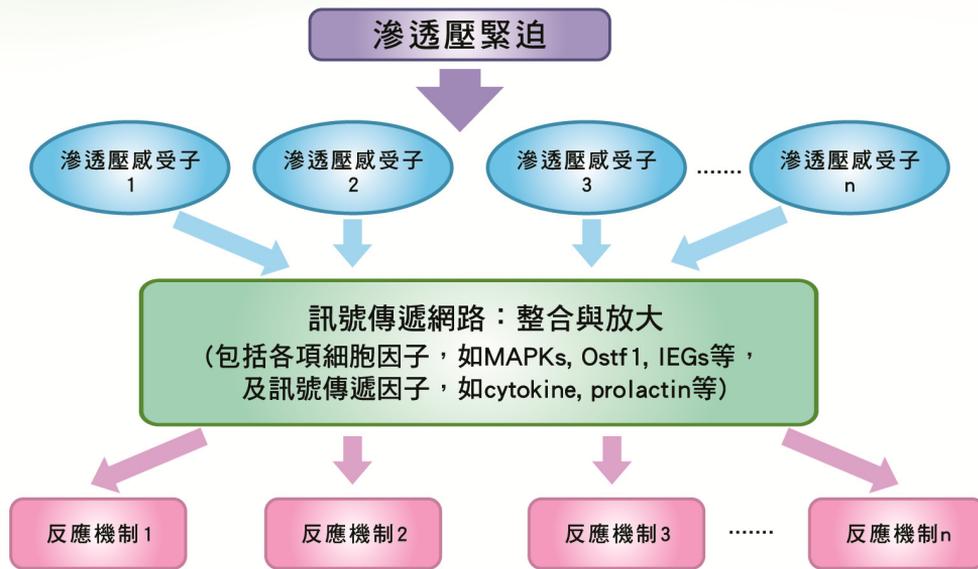


圖 1 魚類滲透壓訊號傳遞的三階段機制 (修改自 Fiol and Kültz, 2007)

損的感受蛋白質、離子及水進出細胞膜有關的通道、與胞內電解質濃度有關的酵素等。目前已知之滲透壓感受子有鈣離子感知受體 (calcium sensing receptor, CaSR)、腺苷酸環化酶 (adenyl cyclase, AC)、瞬應受體電位通道 (transient receptor potential channel, TRPC)、水分子通道 (aquaporin, AQP)、mRNA 穩定蛋白質 HuR、肌醇合成酵素 (myo-inositol biosynthesis enzymes) 等分子 (Kültz, 2012; Gardell et al., 2013)。

我們以 CaSR 為例來說明滲透壓感受子的作用。它屬於 G 蛋白偶聯受體 (G protein-coupled receptors) 家族，具有 7 個跨膜的 α 螺旋，這類蛋白質在與胞外的化學物質結合後，構型會產生變化，激活偶聯的 G 蛋白質，進而誘發胞內一系列的訊號通路。CaSR 在很多魚類的滲透壓調節組織都有表現，例如軟骨魚類的直腸腺和真硬骨魚類的鰓與鰓蓋膜。環境中鈣離子濃度的變動就算

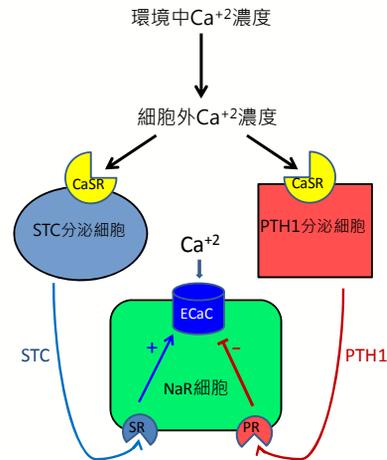
僅在 mM 濃度，CaSR 仍可感受，它會與胞外的鈣離子結合，誘發細胞內一連串的后續反應 (Fiol and Kültz, 2007)。以莫桑比克吳郭魚為例，Loretz et al. (2004) 發現，CaSR mRNA 大量表現在鰓、腎、腦等組織，也見於腦下腺、消化道、心臟、膀胱等組織，此顯示其與內分泌細胞、興奮性組織及血腦屏障的功能有關。馴化在淡水中的吳郭魚，鰓與腎臟的 CaSR mRNA 表現高於海水者，但在腸道的表現卻相反。經由人類細胞的離體實驗 (*in vitro*) 發現，CaSR 可藉由與 G 蛋白質作用，激活磷脂酶 C (phospholipase C) 與有絲分裂原活化肌酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 活性，往下誘發後續的訊號傳遞網絡。

泌乳激素 (prolactin) 在魚類主要是由腦下腺的前外側部 (rostral pars distalis, RPD) 及中間部 (pars intermedia, PI) 組織所分泌，是廣鹽性魚類適應於淡水中一個很重

要的激素，它有助於防止魚體內離子的流失與外界水分進入 (張等, 2013)。在吳郭魚由海水轉移到淡水時，分泌泌乳激素的 RPD，不論是在活體 (*in vivo*) 或離體的狀態下，都會刺激該激素的分泌。但當吳郭魚被由淡水移置到 15 psu 的半淡鹹水時，腦下腺細胞內的 CaSR 與泌乳激素及鰓上的泌乳激素受體的 mRNA 表現量都會下降 (Velan et al., 2011)。最近的研究顯示，泌乳激素的分泌，並不單由 CaSR 所誘發的訊號傳遞網絡，例如 cAMP 與 MAPK 所調控，細胞膜上其他滲透壓感受子，如 TRPC、AQP、AC 等所激發的訊號傳遞，如鈣離子、水分子也會與 CaSR 所誘導的訊號進行對話 (cross-talking)，共同調控該激素的分泌 (Kültz, 2012; Seale et al., 2012)。

另一個與 CaSR 有關的激素調控例子是副甲狀腺素 (parathyroid hormone, PTH) 與史坦尼氏激素 (stannocalcin, STC)。在兩生類以上的四足動物體內，副甲狀腺 (parathyroid gland) 是調控鈣離子吸收的主要器官之一，它會分泌 PTH 刺激骨骼中的鈣離子釋放及腎臟的鈣離子再吸收 (Norris, 1996)，因此在腎臟的表皮細胞上，可以發現 CaSR 的存在。在魚類體內找不到副甲狀腺這種器官，卻可以找到兩種 PTH 激素，Okabe and Graham (2004) 在軟、硬骨魚類的鰓發現 PTH 的基因表現，認為鰓與副甲狀腺在演化上可能同源。STC 則是一種低鈣 (hypocalcemic) 因子，由史坦尼氏體 (corpuscles of Stannius) 所分泌，它是硬骨魚類特有的內分泌器官，位於腎臟的背部或裡面 (Wendelaar Bonga, 1993)。最近，Lin et al. (2014) 在斑馬魚

(*Danio rerio*) 的實驗發現，CaSR 可藉由調控高鈣性 PTH1 與低鈣性 STC-1 基因表現的拮抗作用，影響滲透壓調節細胞上鈣離子通道 (Ca²⁺ channel, ECaC) 對鈣離子的吸收 (圖 2)，進而維持體液的鈣離子平衡。



NaR細胞：Na⁺-K⁺-ATPase-rich cell；SR, PR：STC, PTH受體
圖 2 CaSR 維持斑馬魚鈣離子平衡機制 (資料取自 Lin et al., 2014)

訊號傳遞網絡

接受到滲透壓緊迫的滲透壓感受子會將訊息往下傳遞，這些訊息會被訊號傳遞網絡接收，再加以整合、放大，並視其強度，量化地傳遞給細胞內負責調控滲透壓的反應機制，使其產生適當的應變，藉以維持個體生存。簡單地說，訊號傳遞網絡擔任的就是承先啟後的工作。目前已知在訊號傳遞網絡中佔有主要角色者，包括鈣離子激活的訊號傳遞路徑 (calcium-dependent pathway)、MAPK、14-3-3 蛋白質、特殊的轉錄因子、激素及旁分泌訊號因子 (paracrine factors)

等 (Fiol and Kültz, 2007)。

由上述訊號傳遞者 (transducer) 中，舉滲透壓緊迫轉錄因子 1 (osmotic stress transcriptional factor 1, Ostf1) 為例說明訊號傳遞者的角色。Ostf1 最先是在莫桑比克吳郭魚鰓上發現的，Fiol and Kültz (2005) 發現當吳郭魚由淡水轉移到海水時，可以在鰓上發現兩個轉錄因子的 mRNA 表現很快就被誘導，一個是 Ostf1，另一個是轉錄因子 IIB (transcriptional factor IIB, TFIIIB)。兩個基因 mRNA 表現在 2 小時後就到達高峰；蛋白質的表現略緩，高峰在 4 小時後才出現，之後逐漸回復至起始值。這兩個基因的表現會隨鹽度升高而增強，但卻不會像熱休克蛋白一樣，被氧化或高溫的緊迫所誘導，顯示它們是滲透壓緊迫專一性的蛋白質。Fiol et al. (2006) 在離體的吳郭魚鰓細胞上，同樣發現高滲透壓的環境會誘導 Ostf1 基因表現。由於 Ostf1 的基因結構與哺乳類的 TSC-22 蛋白質相似，而此蛋白質是受糖皮質醇 (glucocorticoid) 所調控，而且在魚類適應於海水環境時，體內的腎上腺皮質醇 (cortisol) 濃度通常也會上升。因此 Fiol et al. (2006) 在離體鰓細胞實驗中，添加合成的糖皮質醇類似物 dexamethasone (DEX)，觀察其對 Ostf1 表現的影響，但卻未發現 Ostf1 表現有被誘導的情況發生。不過，日後 McGuire et al. (2010) 卻發現，經由皮下注射腎上腺皮質醇到馴化在淡水中的吳郭魚體內，不僅會激活 Ostf1 的基因表現，也使得牠們在直接移置到海水時的存活率升高了，顯示 Ostf1 的確受到另一個訊號傳遞網絡-激素的調控。

最近，Yan et al. (2012) 在尼羅吳郭魚

(*O. niloticus*) 的研究顯示，在 Ostf1 的上游有一個調控分子-miR429 的存在。miR429 是一個小分子的 RNA (miRNA)，miRNA 屬於非編碼性質，無法轉譯成蛋白質，但卻能選擇性地與轉錄後的 mRNA 結合，作為基因表現的轉錄調控者 (Yan et al., 2013)。miR429 能直接調控 Ostf1 的表現，當 miR429 的表現被抑制時，Ostf1 的表現就會提高。除了在吳郭魚外，後來陸續也在鰻魚、斑馬魚、稻田魚、黑鯛等魚類身上找到 Ostf1，也各自發現其調控機制。在黑鯛，它甚至是負責由海水到淡水的適應分子 (Tse, 2014)。上述的研究也顯示，基本上，Ostf1 除了承接來自上游滲透壓感受子的訊號，也必須整合其它訊號傳遞網絡，再下達命令給下游各種反應機制，例如離子通道或幫浦，以調節細胞的滲透壓平衡 (Tse, 2014)。

結語

魚類面對滲透壓緊迫的調控是一個繁複的過程，有多種分子參與了這個機制，它們的角色為何？彼此間的互動又是如何？細胞如何量化緊迫的強度，並下達適當的指令？各細胞、組織間又如何系統性的整合，完成調節的任務，最終維持了個體的生存？Fiol and Kültz (2007) 所提出的三階段論只是將滲透壓調控的接受與傳遞機制作了一個初步的分類，並利用目前已知的資訊畫出一個草圖，若要將調控機制問題進一步釐清，顯然還待學者更多的研究。