

唐子瑞,周旭,江欣欣,等. 黄颡鱼感染鲧爱德华氏菌后 IL-17 受体基因的分子特征及表达分析[J]. 华中农业大学学报, 2026, 45(1): 266-277.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2026.01.024

黄颡鱼感染鲧爱德华氏菌后 IL-17 受体基因的 分子特征及表达分析

唐子瑞¹,周旭²,江欣欣¹,李张萍¹,张桂蓉¹,马徐发¹,姬伟¹,魏开建¹

1. 华中农业大学水产学院/农业农村部淡水生物繁育重点实验室,武汉 430070;
2. 浙江海洋大学海洋科学与技术学院,舟山 316022

摘要 在哺乳动物中,白细胞介素-17受体(interleukin-17 receptor, IL-17R)家族通过介导 IL-17 细胞因子的信号来调控炎症反应。为探究 IL-17R 基因在鱼类对病原体感染的免疫应答中的潜在功能,从黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*, Pf)中克隆了5个 Pf_IL-17R 基因(Pf_IL-17RA 至 Pf_IL-17RE)的部分 cDNA 序列,并对5个基因的序列分子特征、组织表达谱以及鲧爱德华氏菌感染和免疫刺激物刺激后的表达变化进行分析。结果显示,5个 Pf_IL-17R 基因的开放阅读框长度依次为 2 430(Pf_IL-17RA)、1 590(Pf_IL-17RB)、2 106(Pf_IL-17RC)、2 235(Pf_IL-17RD)和 2 307 bp(Pf_IL-17RE),分别编码 809、529、701、744 和 768 个氨基酸。氨基酸序列分析显示,黄颡鱼5个 Pf_IL-17R 基因与其他硬骨鱼类的同源基因序列相似性较高,其中与斑点叉尾鲷同源基因序列相似性最高。实时荧光定量 PCR 结果显示,5个 Pf_IL-17R 基因在健康黄颡鱼组织中呈现不同的 mRNA 表达谱,但它们在血液、性腺和鳃中的表达量较高。黄颡鱼感染鲧爱德华氏菌后,鳃、皮肤和头肾中5个 Pf_IL-17R 基因 mRNA 表达水平显著上调,而脾脏中 Pf_IL-17RB、Pf_IL-17RC、Pf_IL-17RD 和 Pf_IL-17RE 基因 mRNA 表达量显著下调。此外,脂多糖、植物血凝素和聚肌胞苷酸刺激可诱导黄颡鱼外周血白细胞中4个 Pf_IL-17R 基因(Pf_IL-17RC 除外)mRNA 的表达。研究表明,5个 Pf_IL-17R 基因可能在黄颡鱼对病原体感染的免疫应答中发挥重要作用。

关键词 黄颡鱼; 白细胞介素-17受体; 基因克隆; 表达模式; 免疫应答

中图分类号 Q959.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2026)01-0266-12

白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)家族是一类重要的细胞因子亚群,与多种炎症性疾病有关。在哺乳动物中,IL-17A 是 IL-17 家族的基本成员,是辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)释放的标志性细胞因子,在炎症、宿主防御和肿瘤发生中具有重要作用^[1]。除 IL-17A 外,IL-17 家族还包括 IL-17B 至 IL-17F 等5个成员。IL-17 细胞因子通过与不同 IL-17 受体(IL-17 receptor, IL-17R)结合,启动下游信号通路^[2]。IL-17R 家族包含 IL-17RA 至 IL-17RE 等5个成员,它们通常以异源二聚体的形式发挥作用。其中 IL-17RA 被认为是该家族信号转导所普遍需要的受体,而其他受体被认为是介导不同配体信号的特异性受体^[1]。如 IL-17RA 与 IL-17RC 形成的受体复合物可以与 IL-17A 或 IL-17F 结合进行信号

转导,IL-17RA 与 IL-17RE 形成的受体复合物能够介导 IL-17C 的信号,IL-17RB 则是 IL-17E 的特异性受体。近年来,IL-17RD 的功能也在哺乳动物中得到验证,其与 IL-17RA 形成的二聚体能调控 IL-17A 信号通路并诱导下游基因的表达^[3]。IL-17RA 胞外区含有2个纤连蛋白Ⅲ型(fibronectin type Ⅲ, FNⅢ)结构域(FN1 和 FN2),这2个结构域对其与 IL-17 配体的动态结合至关重要;而 IL-17RC 胞外区则具有1个 IL-17 受体 N 端(IL-17 receptor N-terminal, IL-17_R_N)结构域,该结构域同样参与受体与配体的结合过程^[4-5]。所有 IL-17R 的胞内区都含有 SEFIR 结构域[SEF (similar expression of fibroblast growth factor genes) and IL-17R, SEFIR],负责招募衔接蛋白 Act1(NF-κB activator 1, Act1)^[6]。SEFIR 结构域

收稿日期: 2025-06-01

基金项目:国家自然科学基金项目(31772851);湖北省农业农村厅渔业资源监测项目(CJ2023155-10)

唐子瑞, E-mail: tzt@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 魏开建, E-mail: kjwei@mail.hzau.edu.cn

与 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 和 IL-1 受体 (IL-1 receptors, IL-1Rs) 中的 Toll/IL-1 受体 (Toll/IL-1 receptor, TIR) 结构域非常相似, 共同组成一个 STIR (SEFIR/TIR) 超家族^[7]。SEFIR 和 TIR 结构域都具有 Box1 和 Box2 保守序列, 提示 IL-17R 的信号机制与 TIR 类似^[8]。与 IL-17 配体复合物结合后, IL-17R 通过 SEFIR 结构域间的相互作用招募 Act^[1], 进而激活核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 信号通路, 上调各种细胞因子、趋化因子及抗菌肽^[9-10]。在鱼类中, IL-17R 家族成员已在斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 及大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 等少数鱼类中被克隆鉴定^[11-13]。鱼类 IL-17R 结构的预测结果显示, 大黄鱼及大菱鲆的 IL-17R 均具有保守的 SEFIR 结构域, 且大黄鱼 IL-17RA、IL-17RB、IL-17RD 和大菱鲆 IL-17RA 的胞外结构中发现了与哺乳动物相似的 FN III 结构域^[12-13]。然而, 目前关于鱼类 IL-17R 与配体结合的相关研究仅在青鳉中有报道, 尽管青鳉 IL-17A/F2 可与 IL-17RC 结合, 但其他受体成员的配体识别模式尚不清楚^[14]。此外, 鱼类 IL-17R 的基因表达可受细菌及其类似物的调控, 提示 IL-17R 可能在鱼类抗细菌感染中起着重要作用^[11-13]。

黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 是我国广泛养殖的淡水经济鱼类, 近年来高密度养殖快速发展, 细菌性疾病频发, 对黄颡鱼养殖造成了较大经济损失。IL-17 信号通路可通过诱导强烈炎症反应而清除病原体, 但目前尚未见黄颡鱼 IL-17R 基因的研究报道。因此, 本研究克隆了黄颡鱼 *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RC*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* 基因的部分 cDNA 序列, 分析其分子特征及进化关系, 检测分析 5 个基因在健康黄颡鱼组织、感染鲇爱德华氏菌 (*Edwardsiella ictaluri*) 后 4 种组织以及 3 种免疫刺激物刺激后的外周血白细胞 (peripheral blood leukocytes, PBLs) 中的表达模式, 旨在为探究 *Pf_IL-17R* 基因在黄颡鱼对病原体感染的免疫应答中的潜在功能提供基础信息。

1 材料与方 法

1.1 实验鱼和样本采集

健康的黄颡鱼成鱼 (3 龄, ~70 g) 和幼鱼 (1 龄, ~14 g) 取自华中农业大学鱼类养殖基地。试验前将黄

颡鱼置于循环水水箱中暂养, 水温 (26 ± 1) °C, 每天 2 次投喂商品饲料 (09:00 和 16:00)。随机取 15 尾健康黄颡鱼成鱼, 设置 3 个生物学重复, 每个重复包含 5 尾鱼。用甲基磺酸三卡因 (MS-222, 300 mg/L) 麻醉后, 采集肌肉、性腺、鳃、后肠、脑、脾、体肾、皮肤、头肾、肝、心脏、鳃、鳍条和血液 14 种组织, 用液氮冷冻后在 -80 °C 保存, 用于提取 RNA, 进行 IL-17R 基因克隆及不同组织中 IL-17R 基因表达谱的检测。

鲇爱德华氏菌来源于华中农业大学鱼类免疫学实验室^[15-16]。将冻存的鲇爱德华氏菌接种至 BHI 液体培养基中, 在 28 °C 下培养 48 h, 并用 PBS (pH 7.2) 稀释至浓度为 2×10^7 CFU/mL 的鲇爱德华氏菌悬液。将试验用黄颡鱼幼鱼 (1 龄, ~14 g) 分为实验组和对照组。对照组每尾幼鱼经腹腔注射 50 μ L PBS, 随后从中随机取 15 尾幼鱼。实验组每尾幼鱼经腹腔注射 50 μ L 浓度为 2×10^7 CFU/mL 的菌液, 在注射后 3、6、12、24、48、72 和 120 h, 每个时间点从实验组中随机取 15 尾幼鱼。每个实验处理组和对照组均设置 3 个生物学重复, 每个重复包含 5 尾鱼。采集的实验鱼经 300 mg/L MS-222 麻醉后, 采集鳃、皮肤、头肾、脾脏 4 种组织, 用液氮冷冻后在 -80 °C 保存, 用于提取 RNA, 检测鲇爱德华氏菌感染后组织中 IL-17R 基因表达的变化。

1.2 PAMPs 刺激黄颡鱼 PBLs

基于文献 [15] 中的步骤, 利用密度梯度离心法从黄颡鱼成鱼的血液样品中分离 PBLs。将分离的 PBLs 用 RPMI 1640 完全培养基稀释, 按照 1.5×10^6 个/mL 浓度接种于 24 孔细胞培养板内。28 °C 过夜培养后, 用 LPS (15 μ g/mL)、PHA (30 μ g/mL) 和 Poly I:C (15 μ g/mL) 分别对 PBLs 进行孵育处理, 并用等量 PBS (pH 7.2) 处理 PBLs 作为对照, 每个处理设置 3 个重复。在处理 3、6、12、24 h 后, 800 r/min 离心 5 min 后收集细胞, 用液氮冷冻后在 -80 °C 保存, 用于提取 RNA, 检测 3 种病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 刺激后 IL-17R 基因表达的变化。

1.3 总 RNA 提取及反转录

采用 TRIzol 试剂 (Invitrogen 公司, 美国) 并按照使用说明书从不同组织和细胞样品中提取总 RNA。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 质量, 使用 Nanodrop ND-2000 分光光度计 (Thermo Electron 公司, 美国) 测定总 RNA 浓度。用 Revert Aid™ M-MLV 反转录试剂盒 (Promega, 美国) 将提取的 RNA

反转录成cDNA,保存于-20℃冰箱备用。

1.4 *Pf_IL-17R*基因cDNA序列克隆

基于已测定的黄颡鱼转录组数据,利用NCBI ORF Finder 软件 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>)找到黄颡鱼 *IL-17R* 基因开放阅读框(open reading frame, ORF)的预测序列并设计5对特异性PCR引物(表1)。以黄颡鱼尾鳍的cDNA为模板扩增5个 *Pf_IL-17R* 的基因序列。PCR扩增条件为95℃预变性5 min;95℃变性30 s,60~64℃退火

30 s,72℃延伸1 min,35个循环;最后72℃延伸10 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后,用Gel/PCR Purification Mini Kit 试剂盒(Axygen,美国)纯化回收。将纯化PCR产物连接到pMD18-T载体(TaKaRa,中国大连)上并转化至大肠杆菌DH5 α 感受态细胞(TaKaRa,中国大连)中。取100 μ L菌液涂布到含氨苄的LB固体培养基上,过夜培养后挑选5个阳性克隆送至武汉擎科生物技术有限公司测序。

表1 本研究中所用引物

Table 1 Primers used in the study

基因 Gene	引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence (5'→3')	退火温度/℃ Annealing temperature	用途 Application
<i>IL-17RA</i>	IL-17RA-F1	GGATGGTTTATTCTACCTGTGC	60	PCR
	IL-17RA-R1	GGAGATTAGATTTTCAGTTGGC		
	IL-17RA-QF	AAAGCCCATCAGGCAAAAG	58	qRT-PCR
	IL-17RA-QR	TCTGGTCCGCACGGTGTA		
<i>IL-17RB</i>	IL-17RB-F1	ATGGAGCTGTTAGTCACCATCAGA	60	PCR
	IL-17RB-R1	CTACGATCTAGACTTTGACTCAGCAT		
	IL-17RB-QF	AAGAAAAACGAAACTCCCATC	62	qRT-PCR
	IL-17RB-QR	CTGCCTCTCTGCCACACAT		
<i>IL-17RC</i>	IL-17RC-F1	TTATCCCGATGACAGAGTTTTT	60	PCR
	IL-17RC-R1	GGAAGCAGGATACAAGTTAACG		
	IL-17RC-F2	ATGATGCTGTCCACACTGCA	60	PCR
	IL-17RC-R2	ACAAAACTCTGTTCATCGGG		
	IL-17RC-F3	GGGAAGCAGGATACAAGTTA	60	PCR
	IL-17RC-R3	TCAATTGACAGTGCTGTTGT		
	IL-17RC-QF	GGATAGCACCAGCAGT	58	qRT-PCR
IL-17RC-QR	GGTAGTCGGCAAGAAT			
<i>IL-17RD</i>	IL-17RD-F1	ATGGCTCTGCGACTCACACTGC	64	PCR
	IL-17RD-R1	CTACGGAGAGGCTGACGCTAGG		
	IL-17RD-QF	GTCTGCCTTTGCCACTCTC	62	qRT-PCR
	IL-17RD-QR	AACCACGACATCTGACCTTC		
<i>IL-17RE</i>	IL-17RE-F1	ATGCTCGCACAAGGCGTGTTC	62	PCR
	IL-17RE-R1	TTACCCAGTAGCACTTCTGT		
	IL-17RE-QF	AACGCTCGTCCATCAACAAA	62	qRT-PCR
	IL-17RE-QR	TTCATTCTGCGGCATAAATT		
β -actin	β -actin-QF	TCCCTGTATGCCTCTGGTCGT	60	qRT-PCR
	β -actin-QR	AAGCTGTAGCCTCTCTCGGTC		

1.5 *Pf_IL-17R*氨基酸序列和进化分析

采用ORF Finder软件找到5个 *Pf_IL-17R* 基因cDNA的完整ORF序列,通过ExPASy (http://web.expasy.org/compute_pi/)、DNAMAN 和 NetNGlyc 1.0 Server (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetNGlyc-1.0/>)预测5个基因氨基酸序列及其编码蛋白的理论等电点、分子质量和N-糖基化位点。

利用SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)预测5个 *IL-17R* 的蛋白结构。利用BLAST程序在GenBank中搜索5个基因的同源序列,采用Sequence Manipulation Suite (<http://www.bio-soft.net/sms/index.htm>)计算黄颡鱼与其他脊椎动物之间 *IL-17R* 氨基酸序列的相似性和同一性。基于 *IL-17R* 基因氨基酸序列,采用MEGA 6.0构建黄颡鱼5个 *IL-17R* 基

因与其他脊椎动物同源基因的邻接(NJ)系统发育树,自展检验1 000次。

1.6 实时荧光定量 PCR

采用实时荧光定量 PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测黄颡鱼各组织和细胞中 *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RC*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* 基因的 mRNA 表达水平。根据克隆得到的 5 个 *Pf_IL-17R* 基因 cDNA 序列,设计基因特异的 qRT-PCR 引物,以 β -actin 基因作为内参基因(表 1)。qRT-PCR 实验步骤参照文献[15]中的描述。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算各目的基因的相对表达量。

1.7 数据分析

qRT-PCR 获得的所有数据以平均数±标准误差表示($n=3$)。采用 STATISTICA 12.0 软件中的单因素方差分析和 Duncan's 检验比较不同组织间 mRNA 表达水平的差异,采用 *t* 检验比较对照组与实验组之间 mRNA 表达水平的差异。如果 $P<0.05$ 或 0.01 ,则差异显著或极显著。采用 GraphPad Prism 10.0 软件绘制数据的条形图。

2 结果与分析

2.1 *Pf_IL-17R* 基因 cDNA 序列特征与进化分析

本研究从黄颡鱼中克隆了 *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RC*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* 共 5 个基因的部分 cDNA 序列。结果显示, *Pf_IL-17RA*~*Pf_IL-17RE* 5 个基因的 ORF 序列的长度依次为 2 430、1 590、2 160、2 235 和 2 307 bp,分别编码 809、529、701、744 和 768 个氨基酸。 *Pf_IL-17RA*~*Pf_IL-17RE* 5 个蛋白的预测 N-糖基化位点数分别为 6、5、9、5 和 13,理论等电点分别为 5.16、6.80、6.00、7.35 和 9.41,分子质量分别为 90.84、59.76、77.28、83.29 和 86.96 ku。

氨基酸序列多重比对分析表明,黄颡鱼 *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RC*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* 与其他脊椎动物的 *IL-17R* 同源基因序列有许多一致或保守的区域,这 5 个 *IL-17R* 的氨基酸序列分别含有 20、10、19、17 和 19 个保守的半胱氨酸残基。氨基酸序列同源性分析显示,黄颡鱼 *Pf_IL-17RA*~*Pf_IL-17RE* 5 个基因与其他硬骨鱼类相应同源基因的序列相似性分别为 45.2%~85.0%、27.0%~72.1%、34.5%~81.7%、65.4%~94.1% 和 32.1%~76.5%(表 2),其中,黄颡鱼 5 个 *Pf_IL-17R*

基因与斑点叉尾鲷 *IL-17R* 同源基因的序列相似性最高。

表 2 黄颡鱼 *IL-17R* 基因与其他脊椎动物 *IL-17R* 基因的氨基酸序列同源性

Table 2 Amino acid sequence homology of the *IL-17R* genes of *Pelteobagrus fulvidraco* with those of other vertebrates %

基因 Gene	物种 Species	黄颡鱼 <i>IL-17R</i> 基因的同源性 Homology of <i>Pf_IL-17R</i> genes	
		相似性 Similarity	同一性 Identity
<i>IL-17RA</i>	斑点叉尾鲷 Channel catfish	85.0	80.5
	斑马鱼 Zebrafish	59.7	49.6
	青鳉 Medaka	45.2	34.8
	虹鳟 Rainbow trout	45.3	34.9
	鸡 Chicken	35.8	24.8
<i>IL-17RB</i>	人 Human	37.1	25.6
	斑点叉尾鲷 Channel catfish	72.1	65.4
	斑马鱼 Zebrafish	41.9	30.5
	青鳉 Medaka	27.0	17.6
	虹鳟 Rainbow trout	33.9	24.1
<i>IL-17RC</i>	中国鹅 Chinese goose	20.8	11.8
	人 Human	29.0	15.1
	斑点叉尾鲷 Channel catfish	81.7	76.5
	斑马鱼 Zebrafish	34.5	21.0
	青鳉 Medaka	47.9	34.2
<i>IL-17RD</i>	虹鳟 Rainbow trout	51.4	38.8
	鸡 Chicken	25.5	14.7
	人 Human	27.9	16.8
	斑点叉尾鲷 Channel catfish	94.1	91.0
	斑马鱼 Zebrafish	81.6	73.4
<i>IL-17RE</i>	青鳉 Medaka	65.4	55.8
	虹鳟 Rainbow trout	75.0	67.7
	鸡 Chicken	63.6	50.0
	人 Human	63.1	49.4
	斑点叉尾鲷 Channel catfish	76.5	70.5

NJ 系统发育分析表明,鱼类和其他脊椎动物的 5 个 *IL-17R* 基因各自聚为一支,形成 *IL-17RA*、*IL-17RB*、*IL-17RC*、*IL-17RD* 和 *IL-17RE* 5 个分支。然后, *IL-17RA*、*IL-17RB* 和 *IL-17RD* 聚为一支,而 *IL-17RC* 和 *IL-17RE* 则聚为另一支(图 1A)。

SMART 软件对 5 个 *Pf_IL-17R* 蛋白结构的预

测结果显示, *Pf_IL-17RA* 蛋白包含2个纤连蛋白Ⅲ型结构域(*fnⅢ_D1*, *fnⅢ_D2*), *Pf_IL-17RB* 蛋白的胞外区域包含1个纤连蛋白Ⅲ型结构域(*fnⅢ_D1*)。 *Pf_IL-17RD* 蛋白胞外区域包含1个IL-17_R_D_N结构域, *Pf_IL-17RC* 和 *Pf_IL-17RE* 蛋白的胞外区域包含1个IL-17_R_N结构域。此外, 所有5个 *Pf_IL-17R* 蛋白的胞内区域均具有1个保守的SEFIR结构域(图1B)。

2.2 黄颡鱼成体组织中 *Pf_IL-17R* 基因的表达谱

qRT-PCR 检测结果表明, 健康黄颡鱼成鱼个体中5个 *Pf_IL-17R* mRNA 在不同组织中呈现出不同的表达谱(图2)。其中, *Pf_IL-17RA* mRNA 表达量在鳍组织中最高, 在肝脏和皮肤中较高, 在肌肉、性腺和鳔中处于中等水平, 在脑中最低(图2A)。 *Pf_IL-17RB* mRNA 在鳔中表达量最高, 在肝、脾、心脏中表达量次之, 在肌肉中表达量最低(图2B)。 *Pf_IL-17RC* mRNA 在性腺中表达量最高, 在后肠、鳍、肝、鳔和心脏中表达量较高, 在皮肤、脑和体肾中表达量为中等, 而在头肾和脾脏中的表达量较低(图2C)。 *Pf_IL-17RD* mRNA 在性腺、血液中表达量较高, 在鳔、鳍中表达量中等, 而在其他组织中表达量较低(图2D)。 *Pf_IL-17RE* mRNA 则在血液中表达量最高, 在鳔中表达量次之, 而在肌肉中表达量最低(图2E)。

2.3 鲇爱德华氏菌感染后 *Pf_IL-17R* 基因的表达

鲇爱德华氏菌感染后, 黄颡鱼5个 *Pf_IL-17R* 基因 mRNA 在鳔、皮肤、头肾和肝脏4种组织中的表达变化见图3。在鳔中, *Pf_IL-17RA* mRNA 表达量在感染后6~120 h 显著上调, 并在48 h 达到峰值($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(图3A)。在皮肤中, 该基因 mRNA 表达量在3~120 h(除24 h 外)显著升高, 并在120 h 达到最大值($P < 0.01$)。在头肾中, *Pf_IL-17RA* mRNA 表达量在3~120 h 均显著上调, 并在24 h 达到峰值($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。在脾脏中, *Pf_IL-17RA* mRNA 表达量在除12 h 和72 h 外的其余时间点均显著高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(图3A)。

黄颡鱼感染鲇爱德华氏菌后, 鳔中 *Pf_IL-17RB* mRNA 表达量仅在3 h 和120 h 显著上调($P < 0.05$), 皮肤中该基因 mRNA 水平在12~24 h 及120 h 显著上调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 头肾中该基因 mRNA 水平在12~24 h 显著升高($P < 0.05$)。而在脾脏中, *Pf_IL-17RB* mRNA 表达量在12~120 h 显著下调($P <$

0.05 或 $P < 0.01$)(图3B)。

鲇爱德华氏菌感染后, 黄颡鱼鳔中 *Pf_IL-17RC* mRNA 表达量在3~6 h 显著下调, 而在24~120 h 显著上调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 皮肤中该基因 mRNA 水平在3~72 h(除6 h 和48 h 外)显著上调并于12 h 达到峰值。在头肾中, *Pf_IL-17RC* mRNA 表达量在3 h 显著下降($P < 0.05$), 在6~48 h 略有上升, 但在120 h 显著下调($P < 0.01$)。在脾脏中, 该基因 mRNA 表达量在3 h 显著上调($P < 0.01$), 随后在12~120 h 显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(图3C)。

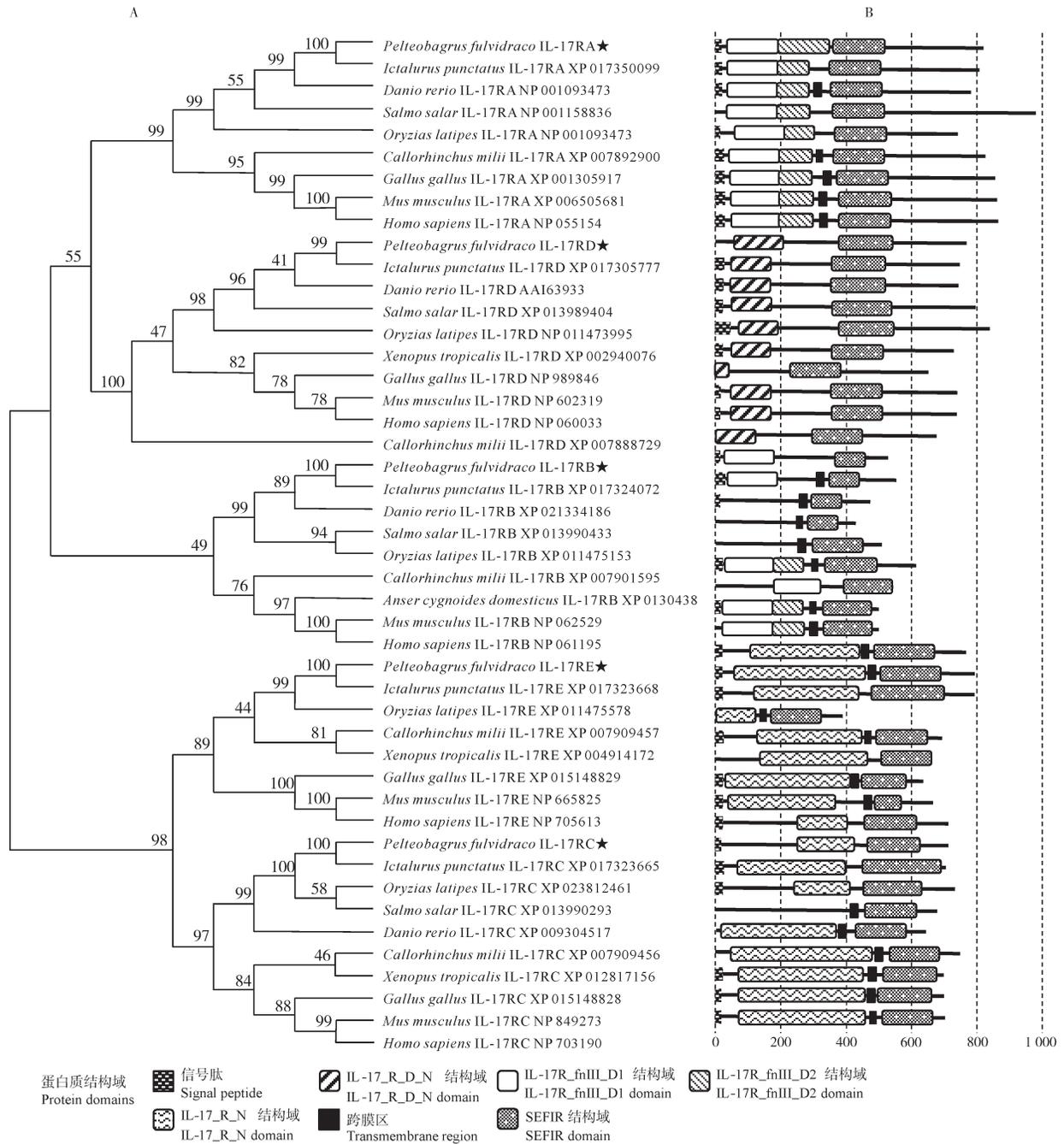
细菌感染后, 黄颡鱼鳔中 *Pf_IL-17RD* mRNA 表达量在3、48 及120 h 显著上调, 而在72 h 显著下调($P < 0.05$); 皮肤中该基因 mRNA 表达量仅在24 h 和120 h 显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 头肾中该基因表达量在6~24 h 及72 h 显著上调, 并于6 h 达到峰值($P < 0.01$)。而在脾脏中, *Pf_IL-17RD* mRNA 表达量在12 h 及72~120 h 显著下调($P < 0.05$)(图3D)。

细菌感染后, 黄颡鱼鳔中 *Pf_IL-17RE* mRNA 表达量在3 h 和120 h 显著上调($P < 0.05$), 而在24 h 显著下调($P < 0.05$); 皮肤中该基因 mRNA 表达量在12 h 和120 h 显著上调($P < 0.05$); 头肾中该基因 mRNA 表达量在24~72 h 显著上调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)并于24 h 达到最高值。在脾脏中, *Pf_IL-17RE* mRNA 表达量在24~120 h 显著下降($P < 0.01$)(图3E)。

2.4 3种 PAMPs 刺激 PBLs 后 *Pf_IL-17R* 基因的表达

采用LPS、PHA 和 Poly I:C 3种 PAMPs 分别刺激黄颡鱼 PBLs 后, *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* 基因 mRNA 呈现不同的表达变化(图4), 但在 PBLs 中未检测到 *Pf_IL-17RC* 基因 mRNA 的表达。

经LPS 刺激后, *Pf_IL-17RA* mRNA 表达量在3~12 h 显著上调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 Poly I:C 刺激则诱导其表达量在3~12 h 持续上调, 而后在24 h 又显著下调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), PHA 刺激后其表达量没有明显变化(图4A)。PHA 刺激后, *Pf_IL-17RB* mRNA 表达量在6 h 和24 h 显著下调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而LPS 和 Poly I:C 的刺激则分别诱导该基因表达量在3 h 和24 h 上调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)以及在3 h 上调($P < 0.01$)(图4B)。 *Pf_IL-17RD* mRNA 表达量在PHA 刺激后3 h 时显著下调, 而后在6 h 显著上调($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), LPS 刺激

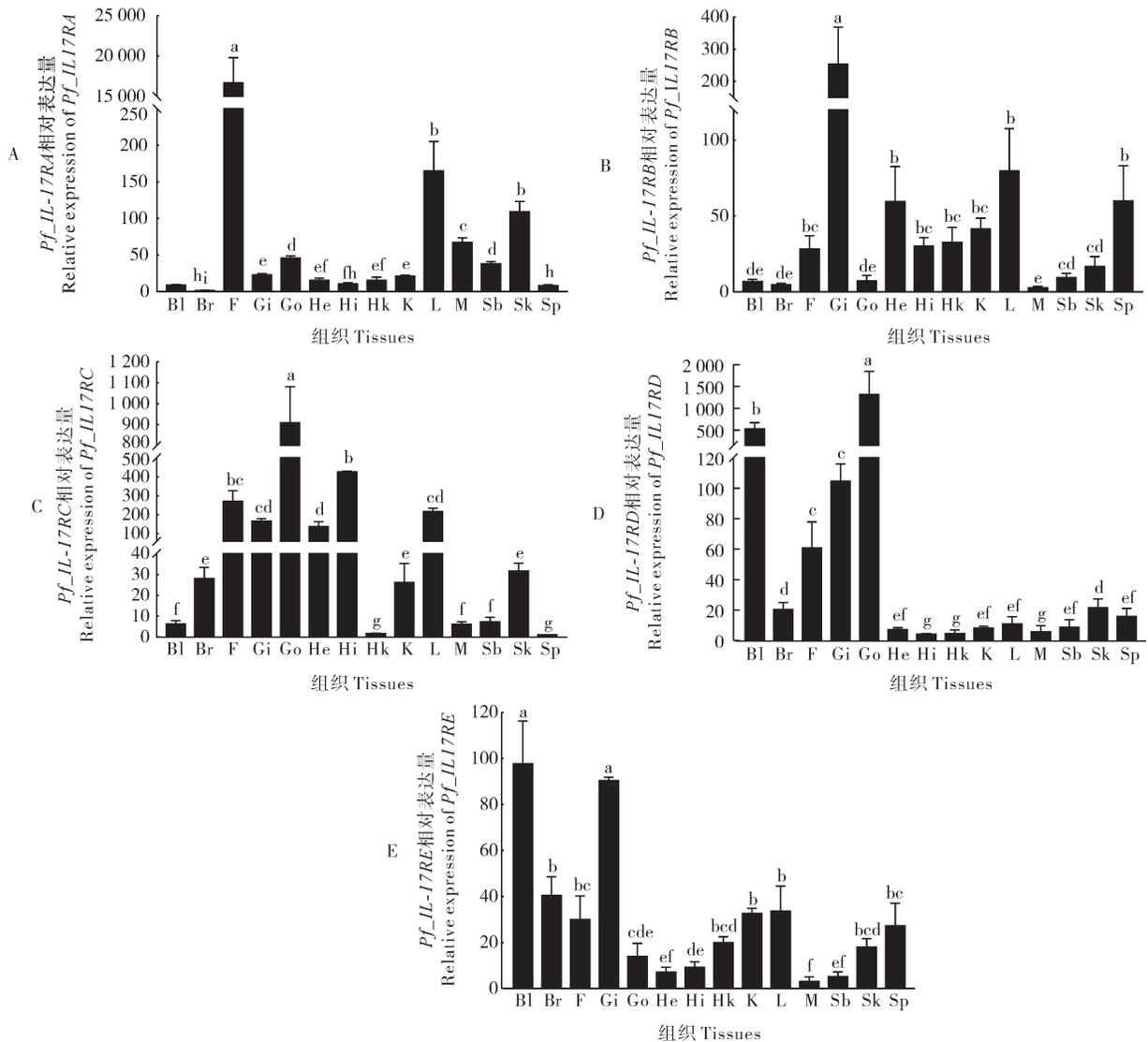


A: NJ系统树中各分支节点处的数值为 1 000 次自展重复的支持百分率, 基因序列 GenBank 登录号位于物种和基因名称后面。B: 以不同图案方块表示脊椎动物 IL-17R 蛋白的关键结构域, 两段虚线间的间隔对应 200 个氨基酸残基。A: The values at each branch node in the NJ phylogenetic tree represent the support percentage for 1 000 bootstrap replicates. The GenBank accession numbers of gene sequences are located after the species and gene names. B: The key domains of vertebrate IL-17R proteins are represented by distinct patterned boxes, with the interval between the two dotted lines corresponding to 200 amino acid residues.

图 1 脊椎动物基于 IL-17R 基因的邻接(NJ)系统树(A)及 IL-17R 蛋白质结构域分析(B)

Fig. 1 Neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree of vertebrates based on IL-17R genes (A) and protein domain analysis of vertebrate IL-17Rs (B)

后该基因表达量在 3~6 h 及 24 h 显著上调 ($P < 0.05$), 在 Poly I:C 处理后该基因表达量在 3 h 和 12 h 下调而后在 24 h 上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) (图 4C)。 *Pf* IL-17RE mRNA 表达量在 PHA 处理后 6 h 显著上调 ($P < 0.05$), LPS 刺激后该基因表达量在 3 h 上调, 但又在 24 h 显著下调 ($P < 0.05$), Poly I:C 刺激后



Bl:血液;Br:脑;F:鳍条;Gi:鳃;Go:性腺;He:心脏;Hi:后肠;Hk:头肾;K:体肾;L:肝脏;M:肌肉;Sb:鳔;Sk:皮肤;Sp:脾脏。条形上方的不同小写字母表示不同组织间存在显著差异($P < 0.05$)。Bl: Blood; Br: Brain; F: Fin; Gi: Gill; Go: Gonad; He: Heart; Hi: Hindgut; Hk: Head kidney; K: Kidney; L: Liver; M: Muscle; Sb: Swim bladder; Sk: Skin; Sp: Spleen. Different lowercase letters above the bars indicate significant differences among/between the means in various tissues ($P < 0.05$).

图2 健康黄颡鱼不同组织中*Pf_IL-17RA*(A)、*Pf_IL-17RB*(B)、*Pf_IL-17RC*(C)、*Pf_IL-17RD*(D)和*Pf_IL-17RE*(E)基因的mRNA表达

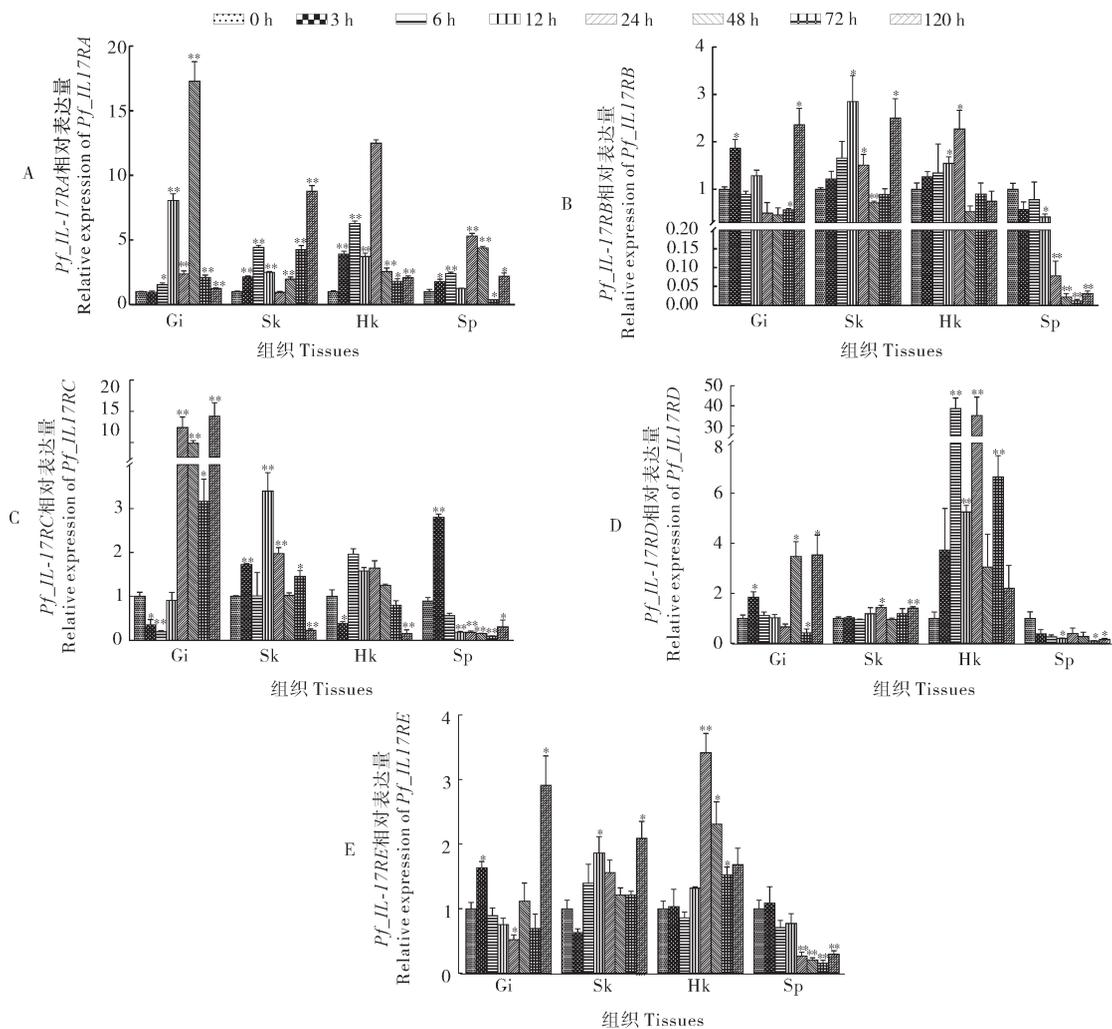
Fig. 2 The mRNA expressions of *Pf_IL-17RA* (A), *Pf_IL-17RB* (B), *Pf_IL-17RC* (C), *Pf_IL-17RD* (D) and *Pf_IL-17RE* (E) genes in various tissues of healthy yellow catfish

其表达量在6 h时显著上调($P < 0.05$),但在24 h时显著下调($P < 0.01$)(图4D)。

3 讨论

哺乳动物中已鉴定出5种IL-17R(IL-17RA、IL-17RB、IL-17RC、IL-17RD和IL-17RE),这些受体与其配体类似,均具有序列同源性。预测的5个黄颡鱼*Pf_IL-17R*蛋白都具有信号肽及保守的SEFIR结构域,这与其他脊椎动物物种中IL-17R的报道一

致^[6,12,17]。黄颡鱼*Pf_IL-17RA*蛋白包含2个FNⅢ结构域,*Pf_IL-17RD*蛋白包含1个IL-17_R_D_N结构域,*Pf_IL-17RE*蛋白包含1个IL-17_R_N结构域,这些结构域对配体-受体的结合至关重要^[3-5]。与人IL-17RB蛋白包含2个FNⅢ结构域不同,黄颡鱼*Pf_IL-17RB*蛋白仅包含1个FNⅢ结构域。此外,黄颡鱼*Pf_IL-17RC*蛋白的IL-17_R_N结构域长度短于人IL-17RC蛋白。这些结果表明,硬骨鱼类中的IL-17信号传导可能与人类中的相似,但在某些方面



Gi:鳃;Sk:皮肤;Hk:头肾;Sp:脾脏。与对照组(0 h)相比,感染鲇爱德华氏菌后不同时间点(3、6、12、24、48、72和120 h)的显著差异用星号表示(*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$)。Gi: Gill; Sk: Skin; Hk: Head kidney; Sp: Spleen. Significant differences at different timepoints (3, 6, 12, 24, 48, 72 and 120 h) post-infection with *E. ictaluri* compared to the control (0 h) are indicated by asterisks (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$).

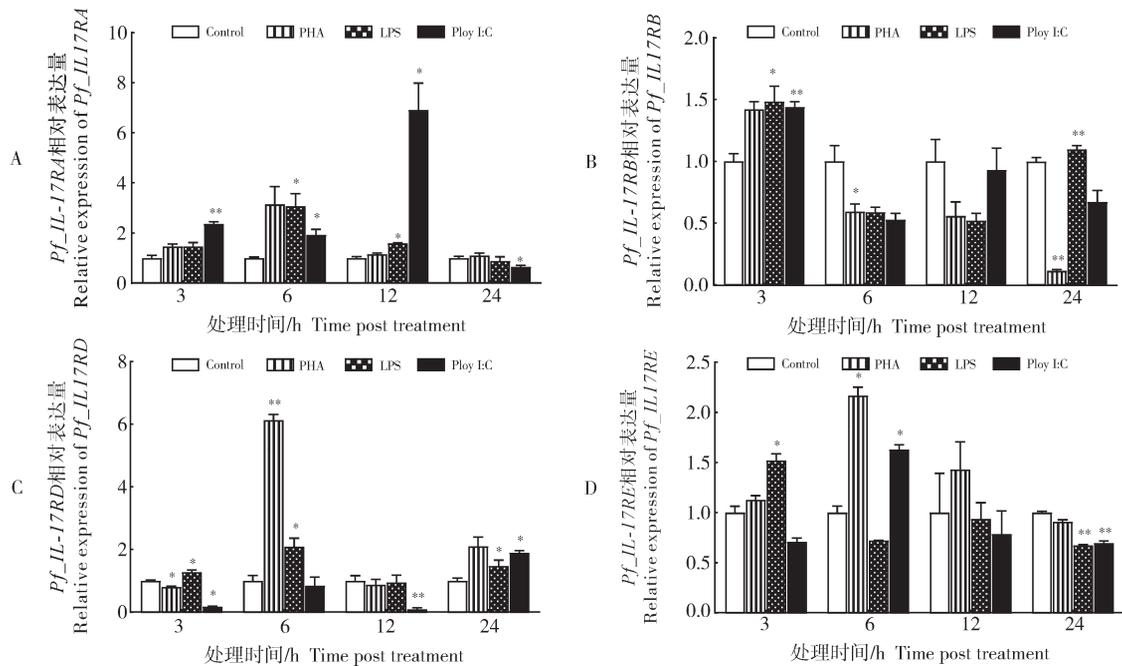
图3 黄颡鱼感染鲇爱德华氏菌后 *Pf_IL-17RA*(A)、*Pf_IL-17RB*(B)、*Pf_IL-17RC*(C)、*Pf_IL-17RD*(D)和 *Pf_IL-17RE*(E)基因 mRNA 的时空表达

Fig. 3 The temporal and spatial expressions of *Pf_IL-17RA* (A), *Pf_IL-17RB* (B), *Pf_IL-17RC* (C), *Pf_IL-17RD* (D) and *Pf_IL-17RE* (E) gene mRNAs in yellow catfish following *Edwardsiella ictaluri* infection

存在差异。黄颡鱼 5 个 *Pf_IL-17R* 的氨基酸序列与斑点叉尾鲷同源物的相似性最高。脊椎动物 IL-17R 氨基酸序列的系统发育分析显示, IL-17RA、IL-17RB 和 IL-17RD 3 个分支聚为一支, 而 IL-17RC 和 IL-17RE 2 个分支聚为另一支, 这表明 IL-17RA、IL-17RB 和 IL-17RD 的胞外结构域相似, 但与 IL-17RC 和 IL-17RE 不同^[12]。对脊椎动物 5 个 *IL-17R* 基因组织结构的比较显示, 黄颡鱼 *Pf_ILP17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RC*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* 的基因组织结构与其他硬骨鱼类或人类中的同源物相似, 但黄颡鱼 *Pf_IL-17RB* 和 *Pf_IL-17RC* 的基因组织结构与人类中的同源物差异最大。这些结果表明,

IL-17R 在鱼类和哺乳动物中具有高度的保守性。

IL-17 基因及其受体 *IL-17R* 基因参与炎症反应及宿主对微生物的免疫, 在特异性免疫和非特异性免疫中均发挥着重要作用。尽管 *IL-17R* 基因序列在脊椎动物中高度保守, 但 *IL-17R* mRNA 的组织分布呈现一定的物种差异。哺乳动物 *IL-17RA* 基因在胸腺和脾脏等淋巴组织中高度表达^[18]。在硬骨鱼类中, *IL-17RA* 基因在黏膜组织中呈现出较高的表达量, 斑点叉尾鲷 *IL-17RA* mRNA 在所有被检测组织中均有表达, 其中在皮肤和卵巢中的表达量最高^[11]。大黄鱼 *IL-17RA* mRNA 在卵巢、鳃和肝脏中有较高的表达水平^[12]。在大菱鲆中, *IL-17RA* 具有 *IL-*



与对照组(PBS)相比,LPS、PHA、Poly I:C刺激后不同时间点(3,6,12和24 h)的显著差异用星号表示(*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$)。Significant differences at different timepoints (3,6,12, and 24 h) post-stimulation with LPS,PHA and Poly I:C compared to the control treatment (PBS) are indicated by asterisks (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$)。

图4 黄颡鱼外周血白细胞经LPS、PHA和Poly I:C刺激后 *Pf_IL-17RA*(A)、*Pf_IL-17RB*(B)、*Pf_IL-17RD*(C)及 *Pf_IL-17RE*(D)基因的mRNA表达

Fig. 4 The mRNA expressions of *Pf_IL-17RA* (A), *Pf_IL-17RB* (B), *Pf_IL-17RD* (C) and *Pf_IL-17RE* (D) genes in peripheral blood leukocytes of yellow catfish after stimulation with LPS, PHA and Poly I:C

17RA1和IL-17RA2两种异构体,这2种异构体在鳃、脑、皮肤和肾脏中均有高表达^[13]。在本研究中,黄颡鱼*Pf_IL-17RA* mRNA在鳍中表达量最高,在肝脏中的表达量也很高,这与大黄鱼肝脏中*IL-17RA* mRNA的高表达相似^[12]。在人类中,*IL-17RB* mRNA在睾丸和小肠中高表达,而*IL-17RC*和*IL-17RE* mRNA则在结肠、小肠和肺等黏膜组织以及角质细胞和结肠上皮细胞中大量表达^[5,19]。在黄颡鱼中,*Pf_IL-17RB* mRNA在鳃中表达水平最高,而*Pf_IL-17RC* mRNA在性腺、后肠、鳍、鳃和皮肤中的表达水平较高;此外,*Pf_IL-17RD* mRNA在性腺、血液、鳃和鳍中表达水平较高,*Pf_IL-17RE* mRNA在血液和鳃中表达水平较高。黄颡鱼上述*Pf_IL-17R*基因的组织表达模式与大黄鱼和大菱鲆*IL-17R*基因的表达模式相似^[12-13]。后肠、鳃和皮肤是鱼类重要的黏膜免疫组织,在鱼类抵御病原体入侵方面发挥着重要作用。笔者所在课题组之前的研究显示,黄颡鱼*IL-17A/FS*、*IL-17B*、*IL-17C*基因同样在鳃、皮肤等组织中有较高的表达水平^[15-16]。这表明作为IL-17的潜在受体,硬骨鱼类IL-17RB、IL-17RC和IL-

17RE可能类似于哺乳动物3个同源基因在黏膜免疫中发挥潜在作用。

在哺乳动物中,IL-17R信号传导能协调释放粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor,G-CSF)和趋化因子,这对中性粒细胞募集和宿主抵御细菌感染至关重要^[20]。在硬骨鱼类中,IL-17R能够在黏膜组织和免疫组织中快速响应病原的入侵。大菱鲆感染鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)后,其皮肤组织中*IL-17R*基因(除*IL-17RA*外)mRNA表达量在不同时间点均显著上调^[13]。斑点叉尾鲷感染鳃爱德华氏菌后,其肠道组织中*IL-17RC* mRNA表达量在4 h时显著上调,肠道和皮肤中*IL-17RA*和*IL-17RC* mRNA在168 h显著上调^[11]。类似地,大黄鱼注射感染嗜水气单胞菌后,除*IL-17RB*外,*IL-17R*基因mRNA在鳃、头肾和脾脏中均显著上调^[12]。本研究中黄颡鱼感染鳃爱德华氏菌后,*Pf_IL-17RA* mRNA表达量在鳃、皮肤、头肾和脾脏中显著上调,*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RD*和*Pf_IL-17RE* mRNA表达量在头肾中显著上调,进一步印证这些基因可能在宿主抵御细菌感染过程中发挥着重要作用。然

而,在鲑爱德华氏菌感染后的黄颡鱼中,除 *Pf_IL-17RA* 外,其他4个 *Pf_IL-17R* 基因 mRNA 在鳃和皮肤中呈现波动性表达,且在脾脏中显著下调。不受控的炎症可能会导致组织损伤,因此, *IL-17R* 一方面通过持续高表达来驱动炎症反应,另一方面 *IL-17R* 可能通过负反馈调控来防止炎症过度活化^[11,21]。

为了进一步验证 *Pf_IL-17R* 基因在免疫应答中的作用,本研究检测了 PHA、LPS 和 Poly I:C 刺激黄颡鱼 PBLs 后 *Pf_IL-17R* 基因在 PBLs 中的表达变化。在哺乳动物中, *IL-17RA* mRNA 在 PBLs 中表达量较高, *IL-17RD* 和 *IL-17RE* mRNA 在 PBLs 中表达量较低,而 *IL-17RB* 和 *IL-17RC* mRNA 在 PBLs 中不存在^[5,22-24]。在虹鳟中,PHA 作为一种强效 T 细胞激活剂刺激 PBLs,可显著增强 *IL-17RA* mRNA 在所有检测时间点的表达量^[25]。类似地,黄颡鱼 PBLs 受到 PAMPs 刺激后, PBLs 中可检测到 *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* mRNA 的表达,而未检测到 *Pf_IL-17RC* mRNA 的表达,这一现象与哺乳动物中的研究结果一致。在哺乳动物中, *IL-17RC* 虽与 *IL-17RA* 共同形成受体复合体介导 *IL-17A* 和 *IL-17F* 的信号传导,但 *IL-17RA* 在 PBLs 中有较高的表达量,而 *IL-17RC* 在 PBLs 中则几乎不表达^[26-27]。此外,哺乳动物 *IL-17RC* 对 *IL-17F* 的亲合力显著高于对 *IL-17A* 的亲合力,而 *IL-17RA* 则对 *IL-17F* 几乎无响应^[2]。因此,高表达 *IL-17RC* 的细胞可能对 *IL-17F* 的刺激更加敏感,而低表达 *IL-17RC* 的细胞可能更易响应 *IL-17A*,在 *IL-17RC* 表达水平极低的哺乳动物 PBLs 中,可能是 *IL-17A* 介导了 PBLs 中的炎症信号,而不是 *IL-17F*^[2]。因此, *Pf_IL-17RC* 基因在黄颡鱼 PBLs 中几乎不表达,提示 *Pf_IL-17RC* 可能不参与 PBLs 的炎症调控或免疫应答,黄颡鱼 PBLs 可能依赖于其他 *Pf_IL-17R* 来介导炎症反应或抵御细菌感染。本研究中 PHA 刺激黄颡鱼 PBLs 3 h 和 6 h 后,能显著诱导 *Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* mRNA 的表达,提示这2个基因可能是由 T 细胞产生。LPS 可引发动物强烈的免疫反应,而 Poly I:C 常用于模拟病毒感染^[28-29]。在虹鳟中, Poly I:C 的诱导能力较弱,仅在刺激 24 h 后上调 *IL-17RA* 转录水平,而 LPS 刺激后未观察到任何变化^[25]。本研究中 LPS 刺激黄颡鱼 PBLs 后, *Pf_IL-17RA*、*Pf_IL-17RB*、*Pf_IL-17RD* 和 *Pf_IL-17RE* mRNA 表达量均显著上调。此外, Poly I:C 刺

激黄颡鱼 PBLs 显著诱导了 *Pf_IL-17RA* 和 *Pf_IL-17RE* mRNA 的表达,而 *Pf_IL-17RB* 和 *Pf_IL-17RD* mRNA 表达则在受到 Poly I:C 刺激后出现波动。这些结果表明, *Pf_IL-17R* 基因可能在抗革兰氏阴性菌和病毒感染的免疫应答中发挥重要作用,但其调控机制仍有待进一步研究。

综上,黄颡鱼 5 个 *Pf_IL-17R* 基因具有与其他脊椎动物相似的分子特征和保守的进化关系,在 14 种被检测的健康黄颡鱼组织中均有表达且在不同组织中呈现差异化的 mRNA 表达模式。鲑爱德华氏菌感染黄颡鱼后, 5 个 *Pf_IL-17R* 基因 mRNA 在黄颡鱼鳃、皮肤和头肾中的表达量在特定时间点显著上调。3 种 PAMPs 刺激黄颡鱼 PBLs 后, 4 个 *Pf_IL-17R* 基因 mRNA 的表达量显著上调,推测 *Pf_IL-17R* 基因可能参与黄颡鱼对病原体感染的免疫应答。

参考文献 References

- [1] SONG X Y, QIAN Y C. IL-17 family cytokines mediated signaling in the pathogenesis of inflammatory diseases [J]. Cellular signalling, 2013, 25(12): 2335-2347.
- [2] GAFFEN S L. Structure and signalling in the IL-17 receptor family [J]. Nature reviews immunology, 2009, 9(8): 556-567.
- [3] SU Y, HUANG J L, ZHAO X H, et al. Interleukin-17 receptor D constitutes an alternative receptor for interleukin-17A important in psoriasis-like skin inflammation [J/OL]. Science immunology, 2019, 4(36): eaau9657 [2025-06-01]. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aau9657>.
- [4] KRAMER J M, HANEL W, SHEN F, et al. Cutting edge: identification of a pre-ligand assembly domain (PLAD) and ligand binding site in the IL-17 receptor [J]. The journal of immunology, 2007, 179(10): 6379-6383.
- [5] HAUDENSCHILD D, MOSELEY T, ROSE L, et al. Soluble and transmembrane isoforms of novel interleukin-17 receptor-like protein by RNA splicing and expression in prostate cancer [J]. Journal of biological chemistry, 2002, 277(6): 4309-4316.
- [6] WU B J, GONG J, LIU L L, et al. Evolution of prokaryotic homologues of the eukaryotic SEFIR protein domain [J]. Gene, 2012, 492(1): 160-166.
- [7] NOVATCHKOVA M, LEIBBRANDT A, WERZOWA J, et al. The STIR-domain superfamily in signal transduction, development and immunity [J]. Trends in biochemical sciences, 2003, 28(5): 226-229.
- [8] WRIGHT J F, BENNETT F, LI B L, et al. The human IL-17F/IL-17A heterodimeric cytokine signals through the IL-17RA/IL-17RC receptor complex [J]. The journal of immunology, 2008, 181(4): 2799-2805.

- [9] LIANG S C, TAN X-Y, LUXENBERG D P, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides [J]. The journal of experimental medicine, 2006, 203(10): 2271-2279.
- [10] SHEN F, RUDDY M J, PLAMONDON P, et al. Cytokines link osteoblasts and inflammation: microarray analysis of interleukin-17- and *TNF- α* -induced genes in bone cells [J]. Journal of leukocyte biology, 2004, 77(3): 388-399.
- [11] WANG X Q, LI C, THONGDA W, et al. Characterization and mucosal responses of interleukin 17 family ligand and receptor genes in channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. Fish & shellfish immunology, 2014, 38(1): 47-55.
- [12] DING Y, AI C X, MU Y N, et al. Molecular characterization and evolution analysis of five interleukin-17 receptor genes in large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. Fish & shellfish immunology, 2016, 58: 332-339.
- [13] XUE T, LIU Y P, CAO M, et al. Genome-wide identification of interleukin-17 (IL-17)/interleukin-17 receptor (IL-17R) in turbot (*Scophthalmus maximus*) and expression pattern analysis after *Vibrio anguillarum* infection [J/OL]. Developmental & comparative immunology, 2021, 121: 104070 [2025-06-01]. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104070>.
- [14] HARADA N, OKAMURA Y, KONO T, et al. Identification of two interleukin 17 receptor C (IL-17RC) genes and their binding activities to three IL-17A/F ligands in the Japanese medaka, *Oryzias latipes* [J/OL]. Developmental & comparative immunology, 2021, 124: 104179 [2025-06-01]. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104179>.
- [15] ZHOU X, ZHANG G R, JI W, et al. Expression and function analysis of interleukin-17A/F1, 2, and 3 genes in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*): distinct bioactivity of recombinant IL-17A/F1, 2, and 3 [J/OL]. Frontiers in immunology, 2021, 12: 626895 [2025-06-01]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.626895>.
- [16] ZHOU X, JIANG X X, ZHANG G R, et al. Molecular characterization, expression and function analysis of interleukin-17B, C and D genes in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J/OL]. Aquaculture, 2022, 552: 737962 [2025-06-01]. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737962>.
- [17] MAO X B, TIAN Y, WEN H S, et al. Effects of *Vibrio harveyi* infection on serum biochemical parameters and expression profiles of interleukin-17 (IL-17)/interleukin-17 receptor (IL-17R) genes in spotted sea bass [J/OL]. Developmental & comparative immunology, 2020, 110: 103731 [2025-06-01]. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103731>.
- [18] ISHIGAME H, KAKUTA S, NAGAI T, et al. Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucosal epithelial bacterial infection and allergic responses [J]. Immunity, 2009, 30(1): 108-119.
- [19] SONG X Y, ZHU S, SHIPQ, et al. IL-17RE is the functional receptor for IL-17C and mediates mucosal immunity to infection with intestinal pathogens [J]. Nature immunology, 2011, 12(12): 1151-1158.
- [20] MCALLISTER F, HENRY A, KREINDLER J L, et al. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene- α and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis [J]. The journal of immunology, 2005, 175(1): 404-412.
- [21] IWAKURA Y, ISHIGAME H, SAIJO S, et al. Functional specialization of interleukin-17 family members [J]. Immunity, 2011, 34(2): 149-162.
- [22] SHI Y G, ULLRICH S J, ZHANG J, et al. A novel cytokine receptor-ligand pair [J]. Journal of biological chemistry, 2000, 275(25): 19167-19176.
- [23] YANG R B, NG C K D, WASSERMAN S M, et al. A novel interleukin-17 receptor-like protein identified in human umbilical vein endothelial cells antagonizes basic fibroblast growth factor-induced signaling [J]. Journal of biological chemistry, 2003, 278(35): 33232-33238.
- [24] KOLLS J K, LINDÉN A. Interleukin-17 family members and inflammation [J]. Immunity, 2004, 21(4): 467-476.
- [25] MONTE M M, WANG T H, HOLLAND J W, et al. Cloning and characterization of rainbow trout interleukin-17A/F2 (IL-17A/F2) and IL-17 receptor A: expression during infection and bioactivity of recombinant IL-17A/F2 [J]. Infection and immunity, 2013, 81(1): 340-353.
- [26] RICKEL E A, SIEGEL L A, YOON B P, et al. Identification of functional roles for both IL-17RB and IL-17RA in mediating IL-25-induced activities [J]. The journal of immunology, 2008, 181(6): 4299-4310.
- [27] KUESTNER R E, TAFT D W, HARAN A, et al. Identification of the IL-17 receptor related molecule IL-17RC as the receptor for IL-17F [J]. The journal of immunology, 2007, 179(8): 5462-5473.
- [28] FORTIER M E, KENT S, ASHDOWN H, et al. The viral mimic, polyinosinic:polycytidylic acid, induces fever in rats via an interleukin-1-dependent mechanism [J]. American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology, 2004, 287(4): R759-R766.
- [29] LU Y C, YE H W C, OHASHI P S. LPS/TLR4 signal transduction pathway [J]. Cytokine, 2008, 42(2): 145-151.

Molecular characterization and expression profile of interleukin-17 receptor genes in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) infected with *Edwardsiella ictaluri*

TANG Zirui¹, ZHOU Xu², JIANG Xinxin¹, LI Zhangping¹,
ZHANG Guirong¹, MA Xufa¹, JI Wei¹, WEI Kaijian¹

1. Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Lab of Freshwater Animal Breeding/
College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. School of Marine Science and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China

Abstract The interleukin-17 receptor (IL-17R) family in mammals regulates inflammatory responses by mediating the signaling of the IL-17 cytokine. Partial cDNA sequences of five *Pf_IL-17R* genes (*Pf_IL-17RA* to *Pf_IL-17RE*) were cloned from yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*, *Pf*) to study the potential role of *IL-17R* gene in the immune response to pathogenic infection in fish. The molecular characteristics of the sequence, expression profiles of tissue, and changes in expression of five genes in yellow catfish infected with *Edwardsiella ictaluri* and stimulated with immunostimulants were analyzed. The results showed that the open reading frame (ORF) of the five *Pf_IL-17R* genes including *Pf_IL-17RA*, *Pf_IL-17RB*, *Pf_IL-17RC*, *Pf_IL-17RD*, *Pf_IL-17RE* was 2 430 bp, 1 590 bp, 2 106 bp, 2 235 bp, and 2 307 bp, encoding 809 amino acids (aa), 529 aa, 701 aa, 744 aa, and 768 aa, respectively. The results of analyzing the sequence of aa showed that the five *Pf_IL-17R* genes in yellow catfish had high sequence similarity with homologous genes of other teleosts, among which the sequence similarity with homologous genes of channel catfish was the highest. The results of analyses with Real time fluorescence quantitative PCR showed that the five *Pf_IL-17R* genes exhibited different profiles of mRNA in healthy yellow catfish, but the levels of their expression were higher in the blood, gonads, and gills. The levels of mRNA expression of five *Pf_IL-17R* genes were significantly upregulated in the gills, skin, and head kidney of yellow catfish infected with *Edwardsiella ictaluri*, while the expression levels of *Pf_IL-17RB*, *Pf_IL-17RC*, *Pf_IL-17RD* and *Pf_IL-17RE* mRNAs were significantly down-regulated in the spleen ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Moreover, the levels of mRNA expression of four *Pf_IL-17R* genes (with the exception of *Pf_IL-17RC*) were induced in the isolated peripheral blood leukocytes (PBLs) of yellow catfish stimulated with lipopolysaccharide (LPS), phytohemagglutinin (PHA) and polyinosinic-polycytidylic acid (Poly I: C). It is indicated that the five *Pf_IL-17R* genes may play important roles in the immune response of yellow catfish to pathogen infection.

Keywords yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*, *Pf*); interleukin-17 receptor (IL-17R); gene cloning; expression profile; immune response

(责任编辑:边书京)