

甲壳动物 JAK/STAT 信号通路在免疫应答中的功能与调控机制

赵付荣^{1,2}, 王蔚^{1,2}, 张艳阁^{1,2}, 郑秦^{1,2}, 陈建明^{1,2*}

(1. 闽江学院地理与海洋学院、福建省海洋生物多样性保护与永续利用重点实验室, 福建 福州 350108;

2. 福州海洋研究院, 福建 福州 350108)

摘要: 先天免疫是宿主抵抗病原感染的第一道防线, 在病原的传播和疾病的发展过程中发挥重要的作用。甲壳动物属于无脊椎动物, 仅具有先天免疫, 而不具备适应性免疫, 其主要依靠细胞免疫和体液免疫来实现免疫防御功能, 抑制病原体增殖。JAK/STAT 途径是调节无脊椎动物免疫反应的主要途径之一, 本文主要从细胞因子受体(Dome)、JAK 酪氨酸激酶(JAK)、信号传导及转录激活因子(STAT)、调节因子的结构、在宿主体内的表达及发挥的功能等来综述在养殖甲壳动物中 JAK/STAT 信号通路的研究现状。目前已在对虾、螯虾和蟹等近十种甲壳动物中报道了此通路的元件, 而且各元件均具有保守的典型结构域, 同类元件在不同种类甲壳生物中的结构有所差异, 但是功能基本相似。这些元件均被证实通过调节 JAK/STAT 通路的信号转导来影响抗病能力。目前仅在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)中鉴定出 JAK/STAT 信号通路的所有元件, 对其他甲壳动物中剩余元件的鉴定仍有必要, 并且甲壳动物 JAK/STAT 信号通路对其他信号通路的影响还有待深入研究。通过本文希望能为该通路在甲壳动物中调控机制研究提供理论基础和参考。

关键词: 海洋生物学; 甲壳动物; 先天免疫; JAK/STAT 信号通路; 调控机制

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.20220609002

中图分类号: P735

文献标识码: A

文章编号: 2095-4972(2023)04-0739-11

甲壳动物属于无脊椎动物, 是重要的经济类养殖动物, 目前在水产品中的比重逐渐加大。作为代表性养殖甲壳动物的虾类和蟹类, 其需求量随着人们生活水平的不断提高而持续增加, 虾蟹类养殖业也得到了快速发展。但是饲养技术的不足与相关疾病的发生仍是虾蟹养殖业的重大威胁, 目前已知能感染虾蟹的病原有病毒、细菌、真菌、立克次氏体和寄生虫等, 如白斑综合征(WSD)、急性肝胰腺坏死综合征(AHPND)等是影响养虾业的最具侵略性的疾病^[1]。在充满病原微生物的复杂环境里, 脊椎动物依靠先天性免疫和获得性免疫两种形式抵御病原微生物的侵害, 而甲壳动物仅具有先天性免疫, 主要存在细胞免疫与体液免疫两种形式, 其中体液免疫中的免疫信号通路发挥着关键的作用^[2]。在无脊

椎动物中, 主要存在着 3 条免疫功能调控的信号通路: Toll、IMD 和 JAK/STAT。Toll 和 IMD 信号通路主要参与抗细菌和真菌的免疫反应, 少部分具有抗病毒免疫效应^[3-4], 而 JAK/STAT 信号通路主要参与抗细菌和抗病毒免疫反应, 但相关的分子机制尚未完全清楚^[5]。

JAK/STAT 信号通路, 即 Janus 激酶(JAK)-信号传导及转录激活因子(signal transduction and activators of transcription, STAT), 这一信号通路于 1994 年, 被 Darnell 等在研究干扰素诱导细胞内信号传导时发现^[6]。JAK/STAT 信号通路是一种多种细胞因子共用的主要信号传导机制, 参与细胞的增殖、分化、凋亡以及免疫调节等, 已在多种模式生物中被广泛研究。随着研究的深入, 现已确定与虾蟹同为无

收稿日期: 2022-06-21

资助项目: 福州市科技创新创业人才培育计划(2022-R-004); 福建省自然科学基金(2021J011044); 闽江学院校长基金(103952022154); 福建省家畜传染病防治与生物技术重点实验室开放基金(ZDSYS2020002)

作者简介: 赵付荣(1983—), 女, 博士, 副教授; E-mail: furong0812@163.com

* 通讯作者: 陈建明(1971—), 男, 博士, 教授; E-mail: chenjm@mju.edu.cn

脊椎动物的果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 的 JAK/STAT 信号通路的核心成分,分别是配体(UPD)、酪氨酸激酶(JAK)、膜受体(Dome)与信号转导和转录激活因子(STAT)^[7-8]。细胞因子与相应的受体结合后引起受体分子的二聚化,这使得与受体偶联的 JAK 激酶相互接近并通过交互的酪氨酸磷酸化作用而活化。JAK 激活后催化受体上的酪氨酸残基发生磷酸化修饰。受体磷酸化为细胞质 STAT 创建对接位点,STAT 通过酪氨酸磷酸结合 SH2 结构域被招募到受体复合物中,并自身磷酸化。活化的磷酸化 STAT(pSTAT)通过分子间 SH2-磷酸酪氨酸相互作用形成同源或异源二聚化,易位到细胞核,结合 DNA 调控元件,改变染色质可及性,诱导基因转录^[9]。该信号通路为细胞因子信号传导的重要途径,在进化上相对保守,广泛参与细胞增殖、分化、凋亡、免疫调节、血管生成、氧化应激、炎症反应以及肿

瘤生成等重要的生物学过程^[9-10]。目前 JAK/STAT 信号通路的研究在信号识别、信号调控以及基因的调控表达方面成果非常丰富。但在甲壳动物中,关于 JAK/STAT 信号通路的关键元件及功能的报道有限,至今还没有形成一个完整的体系^[11]。

在先天免疫系统的研究中,果蝇等经典的无脊椎动物模式生物^[12],为虾蟹等甲壳动物的 JAK/STAT 信号通路的研究提供了有效参考。研究人员发现虾免疫系统的基本框架与昆虫高度相似^[11, 13],在虾中发现了 JAK/STAT 信号通路的相关元件,并通过系统发育分析证明对虾 STAT 与昆虫 STAT 具有较高的同源性。本文从 Dome、JAK、STAT、信号调节因子这 4 个方面来讨论养殖甲壳动物 JAK/STAT 信号通路的研究进展。该信号通路上各组分的作用见表 1。

表 1 甲壳动物各元件在 JAK/STAT 通路中的作用
Tab. 1 Role of each element in the JAK/STAT pathway in crustaceans

英文名称	中文名称	种类	作用	参考文献
Dome (Domeless)	细胞因子受体	Dome	激活 JAK,抑制 STAT 磷酸化	[14-18]
JAK (Janus kinase)	双面神激酶	JAK	激活 JAK/STAT 信号通路	[14,19-21]
STAT (signal transduction and activators of transcription)	信号转导与转录 激活因子	STAT	介导细胞通讯、诱导生物反应	[14,22-26]
SOCS (suppressor of cytokine signaling)	细胞因子信号通路 抑制因子	SOCS2、 SOCS6	负反馈调节 JAK/STAT 信号通路	[27-31]
PIAS (protein inhibitor of activated STAT)	活化 STAT 蛋白 抑制因子	PIAS	JAK/STAT 通路的信号转导抑制剂和转录激活剂	[32-34]
βarrs (β-arrestins)	多功能支架蛋白	βarr1、 βarr2	招募 TC45 加速 STAT 去磷酸化	[35-36]
PTPs (protein tyrosine phosphatase)	蛋白酪氨酸 磷酸酶	TC45、 PTPN6	与 β-Arrestin 1 相互作用的 TC45 能使 STAT 去磷酸化、PTPN6 促进 STAT 的二聚化	[35,37]

1 细胞因子受体(Dome)的结构及其在虾蟹中的表达和作用

果蝇细胞因子受体 Dome(*DoDome*)是首次在无脊椎动物中被发现的细胞因子受体,有研究表明 Dome 蛋白的缺失会导致胚胎死亡。目前已在多种甲壳动物中鉴定到类似 Dome 的存在,包括中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[14]、红螯螯虾(*Cherax quad-*

ricarinatus)^[15]、斑节对虾(*Penaeus monodon*)^[16]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[17]和日本囊对虾(*Marspenaeus japonicus*)^[18]。

Dome 属于跨膜蛋白,含有胞外区、跨膜区和胞内区 3 个部分。胞外区含有与细胞因子专一性结合的位点,与特异性配体结合启动细胞信号转导。胞内区结构变化较小,具有与酪氨酸激酶结合的结构域,与酪氨酸激酶结合后从而具备信号转导功能,介

导 JAK/STAT 通路信号转导,参与上游 JAK/STAT 反应。细胞因子受体因胞外区与配体结合的特异性位点的不同,被分为不同的类型。不同种类生物的 Dome 在结构上也有所差异,但是功能基本相似。

MjDome (Dome in *Marsipenaes japonicus*) 是首个在甲壳动物 JAK/STAT 通路中被报道的细胞因子受体,被发现于日本囊对虾。*MjDome* 与脊椎动物 I 型细胞因子受体家族中白细胞介素 6 (IL-6) 受体的胞外区具有相似的结构:细胞因子结合 (cytokine binding modules, CBM) 结构域与细胞外 III 型纤连蛋白 (fibronectin-type-III, FN III) 结构域。研究表明,CBM 结构域参与 Dome 受体的激活而使下游信号顺利传导^[38]。IL-6 受体的 CBM 结构域由 CBM I 和 CBM II 2 个结构域组成,CBM I 包含 4 个保守的半胱氨酸残基,CBM II 包含 1 个五氨基酸 WSXWS (Trp-Ser-Xaa-Trp-Ser) 基序,该保守基序广泛存在于脊椎动物 I 型细胞因子受体中,它作为一个分子开关控制受体的激活^[39]。

研究者通过序列分析发现 *MjDome* 的结构含有 1 个信号肽,1 个 CBM 结构域,5 个 FN III 结构域和 1 个跨膜结构域^[19]。Yan 等通过分析 *LvDome* (Dome in *Litopenaeus vannamei*) 的氨基酸序列,发现其具有 1 个信号肽、2 个 CBM 结构域、3 个 FN III 结构域和 1 个细胞质结构域^[17]。有研究报道了中华绒螯蟹的 Dome 包含 1 个信号肽、5 个 FN III 结构域、1 个跨膜区和 1 个低复杂性区。通过多序列比对,*EsDome* (Dome in *Eriocheir sinensis*) 的氨基酸序列与 IL-6 受体和昆虫的 Dome 具有较大差异,但系统发育分析显示 *EsDome* 属于甲壳动物类^[14]。研究人员在红螯螯虾的 *CqDome* (Dome in *Cherax quadricarinatus*) 鉴定出 1 个 N 端信号肽、2 个 CBM 结构域、3 个 FN III 结构域和 1 个跨膜结构域。*CqDome* 的 CBM 结构域中,CBM I 包含 4 个保守半胱氨酸残基,但 CBM II 有一个不完整的 WSXWS 基序^[15]。Laohawutthichai 等发现斑节对虾的 Dome (*PmDome*) 包含 1 个信号肽、1 个 CBM 结构域、4 个 FN III 结构域和 1 个跨膜结构域^[16]。以上甲壳类动物 Dome 经氨基酸序列比对与系统发育分析后,均被归为同一组,它们的结构与 IL-6 受体相比,均没有完整的 WSXWS 基序,并且 FN III 结构域的数量也有差异,但共同包含 4 个保守的半胱氨酸残基及 FN III 结构域,所以推测甲壳动物与哺乳动物的 Dome 具有相似的功能。值得注意的是,不同生物的 Dome 中 FN III 的数量可能不一致,FN III 结构域广泛存在于细胞因子受体中,参与蛋白质的折叠、稳定与功能调控^[40],但 FN III 的数量

对 Dome 功能的影响还暂未报道,需进一步研究。

在甲壳动物中,Dome 广泛分布于血细胞、心脏、肝胰腺、鳃、肠等通常与机体的免疫功能相关的组织或器官中,但不同物种的 Dome 在不同器官或组织内的表达量具有差异。研究人员对 Dome 在虾蟹不同组织中进行表达研究发现,Dome 在日本囊对虾的心脏中表达水平较高,在血细胞和肝胰腺中表达水平较低^[18]。相反的是,红螯螯虾的 *CqDome* 在血细胞中表达水平最高^[15],血细胞在甲壳动物的免疫系统中发挥着至关重要的作用,Dome 在血细胞中的高表达量可能有利于红螯螯虾对抗病原的免疫反应。凡纳滨对虾 Dome 在血细胞、心脏、肝胰腺、鳃、肠中均有表达外,在肌肉和眼柄中表达水平较高^[17],据报道,IL-6 受体也在人类的肌肉中广泛表达。中华绒螯蟹的 Dome 在鳃、血细胞、肌肉、心脏、肠、肝胰腺和胃中均有表达,且表达量依次降低^[14]。在斑节对虾中,研究人员发现 *PmDome* 在淋巴组织中表达量最高,在肝胰腺中表达量最低,淋巴组织是病原入侵对虾后免疫功能发挥作用的主要组织。了解甲壳动物体内 Dome 的分布有助于我们更好的了解其在先天免疫中的作用,这些组织或器官都与甲壳动物的免疫功能相关,并且 Dome 分布广泛,可能在病原入侵时能更快地将细胞外信号传入细胞核。

Dome 已被证实参与 JAK/STAT 信号通路的激活,并且与病毒的复制有关,但是抗菌机制还有待研究。研究者发现 *LvDome* 可以作为一种受体激活 JAK/STAT 通路,WSSV 可能诱导 *LvDome* 的表达,增强对虾 JAK/STAT 通路的激活。*LvDome* 过表达会显著增强 WSSV 启动子的转录,而敲降 *LvDome* 后 WSSV 在虾中的增殖得到了抑制,降低了虾的累积死亡率,表明 *LvDome* 可能被 WSSV 影响以利于病毒复制^[17]。前人研究也发现红螯螯虾的 *CqDome* 基因沉默显著抑制了 WSSV 的复制,这意味着 WSSV 可以利用 *CqDome* 进行复制,并且 *CqDome* 参与了红螯螯虾 JAK/STAT 通路的信号转导^[15],这一研究结果与凡纳滨对虾的 *LvDome* 研究结果一致。在斑节对虾的血细胞中,WSSV 感染使 *PmDome* 表达上调,沉默 *PmDome* 会对对虾体内免疫相关基因的表达有显著影响,而且降低了 WSSV 的拷贝数,延缓了由 WSSV 引起的累积死亡率。在对日本囊对虾的研究中发现 *MjDome* 可以与 C 型凝集素 (MjCC-CL) 卷曲结构域结合,直接激活日本囊对虾 JAK/STAT 信号通路从而对细菌入侵做出免疫应答^[18]。研究还发现在细菌入侵时,敲低中华绒螯蟹血细胞中 *EsDome* 后会影晌部分抗菌肽的表达,它提示 *Es-*

Dome 激活了 JAK/STAT 信号通路以及参与了调控抗菌肽的表达。但是细菌是以直接方式还是间接方式激活 *EsDome* 还不清楚^[14]。

虽然虾蟹的种类远远不止这些,但是上述研究结果为 Dome 介导并激活 JAK/STAT 通路的信号转导的激活提供了强有力的证据,也为其他甲壳动物中 Dome 的研究提供了参考。

2 JAK 酪氨酸激酶的结构及其在虾蟹中的表达和作用

JAK 是一种细胞内的非受体酪氨酸激酶,是细胞因子受体胞内结构衔接的信号分子家族。JAK 家族是不同信号转导通路的关键组成部分,在细胞的生存、增殖、分化、发育、稳态和抵抗病原方面起着重要作用^[41]。目前在哺乳动物中报道 JAK 有 4 个亚型,分别是 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2 (tyrosine kinase 2)。此外 JAK 有 7 个同源结构域,分别是 JH1—JH7^[42]。据报道在果蝇中也发现了一种类似 JAK 功能的酪氨酸激酶 Hopscotch (Hop),与哺乳动物的 JAK2 亚型同源性最高^[43]。

在甲壳动物中,已在卤虫 (*Artemia franciscana*)、拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*)、凡纳滨对虾和中华绒螯蟹中鉴定到 JAK 激酶,但是不同甲壳动物的 JAK 都是独特的。JAK 激酶通常含有一个 FERM 结构域、一个 SH2 结构域、一个假激酶结构域和一个 TyrKc 结构域^[44]。其中 FERM 结构域与 SH2 结构域参与 JAK 与细胞因子受体的结合^[45];假激酶结构域被认为对调节 TyrKc 结构域的活性至关重要^[46];TyrKc 结构域负责细胞因子受体和下游分子上酪氨酸残基的磷酸化^[14]。结构域预测分析表明,卤虫的 *A/JAK* (JAK in *Artemia franciscana*)、拟穴青蟹的 *SpJAK* (JAK in *Scylla paramamosain*) 与凡纳滨对虾的 *LvJAK* (JAK in *Litopenaeus vannamei*) 结构相似,从 N 端到 C 端都包含一个 FERM 结构域、一个 SH2 结构域和两个 TyrKc 结构域。*SpJAK*、*LvJAK* 和果蝇 JAK 具有较高的相似性,提示 JAK 蛋白在进化过程中较为保守,可能具有动物间相似的功能^[19-20]。而中华绒螯蟹的 *EsJAK* (JAK in *Eriocheir sinensis*) 除了包含一个 SH2 结构域和两个 TyrKc 结构域外,还包含了一个 Band 4.1 同源结构,已知这些特异性酪氨酸激酶结构域介导信号传导并起到重要作用^[14, 47]。

不同甲壳类 JAK 在不同的组织中表达,并广泛分布于免疫器官或组织中。其中,*SpJAK* 在脑、神经和肠道中均呈现高表达,在鳃、胃、眼柄、肝胰腺、心脏和血细胞等大部分检测组织中中度表达;在肌肉

中的表达水平最低^[19]。*EsJAK* 在多种组织中均有表达,包括在鳃、肠、肝胰腺和心脏中表达。其中在肝胰腺中表达水平最高,在血细胞中表达最低^[14]。*LvJAK* 在鳃、血细胞、肝胰腺和肠中也均有表达。这些组织均为免疫组织,推测可能与免疫有联系^[29]。

甲壳动物的 JAK 激酶参与了 JAK/STAT 信号通路的抗菌和抗病毒反应。*A/JAK* 能够以剂量依赖的方式激活昆虫 Sf 细胞中 D-raf 原癌基因的启动子活性,这与果蝇 STAT 在免疫应答过程中激活 D-Raf 原癌基因的结论一致,推测 *A/JAK* 可能参与 MAPK 级联反应的调控^[21]。*SpJAK* 可以通过促进 STAT 作用于其 DNA 结合基序,增强 WSSV wsv069 基因启动子的活性。这些结果表明 *SpJAK* 可以激活 JAK/STAT 通路。此外,在体内沉默 *SpJAK* 可导致呼肠孤病毒 (MCRV) 感染的拟穴青蟹死亡率增高,并且使其病毒载量增高,推测 *SpJAK* 可能在 MCRV 防御中发挥重要作用^[19]。*LvJAK* 是 JAK/STAT 通路的靶基因,可作为正调控因子形成正反馈回路。此外,沉默 *LvJAK* 可导致更高的死亡率和病毒载量,提示 *LvJAK* 可能在 WSSV 的防御中发挥重要作用。其结果为 JAK 蛋白介导的正反馈回路在无脊椎动物中存在提供了证据^[20]。

3 信号转导及转录激活因子的结构及其在虾蟹中的表达和作用

STAT 家族是 JAK/STAT 信号通路的关键组成部分,具有信号转导和转录激活的双重功能,当细胞外受到刺激时会被激活从而控制基因的表达^[41]。在无脊椎动物中,STAT 参与多种生物过程中的重要转录调控,可能涉及广泛的发育阶段以及组织分布^[22, 32]。目前在哺乳动物中已确定 STAT 家族有 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5A/5B 和 STAT6 七个主要成员^[48]。但在甲壳动物中 STAT 仅仅发现一种,与哺乳动物的 STAT5 具有较高的同源性。已有研究表明在节肢动物和昆虫中 JAK/STAT 途径在机体抗病毒免疫中具有一定的作用^[49]。

STAT 蛋白通常由 STAT 相互作用结构域、STAT all-alpha/beta 结构域、STAT DNA 结合结构域和 SH2 结构域组成^[14]。其中 STAT 相互作用结构域被认为促进了 STAT-STAT 二聚体的形成;STAT all-alpha/beta 结构域被认为有助于 STAT-STAT 二聚体进入细胞核;STAT DNA 结合结构域具有类似于 p53 肿瘤抑制蛋白的免疫球蛋白样折叠功能;SH2 结构域作为磷酸化依赖的开关从而控制受体识别和

DNA 结合^[50-51]。结构域预测发现 *EsSTAT* 包含一个 STAT 相互作用结构域、一个 STAT all-alpha 结构域、一个 STAT DNA 结合结构域和一个 SH2 结构域^[14]。斑节对虾的 *PmSTAT* 具有 DNA 结合域、SH2 域和 C 末端反式激活域^[23]。

凡纳滨对虾的 *LvSTAT* (STAT in *Litopenaeus vannamei*) 基因含有 N-末端结构域、螺旋结构域、DNA 结合域和 SH2 结构域^[24]。中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 的 *FcSTAT* (STAT in *Fenneropenaeus chinensis*), 包含蛋白质相互作用域、全 α 螺旋结构域、DNA 结合域、SH2 结构域和 C 末端结构域^[22]。克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 中克隆了 3 个 STAT 亚型 cDNA, 结构域预测分析表明 *PcSTATs* 的三个亚型都包含了一个 STAT 相互作用域、一个 STAT 全 α 域、一个 DNA 结合域和一个 SH2 结构域^[25]。日本囊对虾的蛋白包含 STAT 相互作用域、STAT all-alpha 结构域、DNA 结合域和 SH2 结构域^[26]。系统进化树分析结果表明, 拟穴青蟹的 *Sp-STAT* (STAT in *Scylla paramamosain*)、中华绒螯蟹的 *EsSTAT* (STAT in *Eriocheir sinensis*)、凡纳滨对虾的 *LvSTAT*、中国明对虾的 *FcSTAT* 蛋白聚在一支, 并且与人的 STAT5 较为密切^[14]。上述几种甲壳类动物 STAT 有类似的结构, 并且系统进化树分析同源性较高, 表明 STAT 蛋白在进化过程中具有保守性, 可能具有相似的功能。*LvSTAT* 在血细胞、肝胰腺中高表达^[24]。*EsSTAT* 在鳃、肝胰腺和血细胞等组织中均高表达^[14]; *MjSTAT* (STAT in *Marsipenaues japonicus*) 在肌肉、胃、脑和鳃组织中表达^[26]。可见 STAT 在不同动物不同组织的表达水平并不一致。

有研究表明 WSV181 可以通过控制 STAT92E 表达来抑制 JAK/STAT 信号传导, 对感染了果蝇 C 病毒的转基因果蝇以及注射重组 WSV181 和 WSSV 的凡纳滨对虾进行了感染实验, 结果显示病毒载量增加且 JAK/STAT 途经的组分转录水平降低, 表明 WSV181 可通过抑制 JAK/STAT 途径促进病毒增殖^[52]。前人研究发现当凡纳滨对虾被 WSSV 感染时, WSSV 并不破坏 JAK/STAT 通路, 相反可以激活 STAT 使其从细胞质转移到细胞核中从而促进 WSSV *Iel* 基因的表达^[23]。凡纳滨对虾在 WSSV 刺激下 STAT 能够发生磷酸化, 并且 STAT 磷酸化后进入细胞, 调控效应分子的表达^[53]。在 WSSV 感染晚期 STAT 蛋白会由细胞质进入细胞核, 为了合成更多的 STAT 蛋白, STAT 转录增强以此来补充细胞质中减少的 STAT 蛋白量^[54]。*EsSTAT* 蛋白的抑制仅影响 JAK/STAT 信号传导, 因为 *EsSTAT* 处于 JAK/

STAT 信号传下游即末端的位置, JAK/STAT 信号传导的激活可以导致 *EsSTAT* 磷酸化, 进而使磷酸化后的 *EsSTAT* 从细胞质转移到细胞核^[14]。在对中国明对虾的研究发现, STAT 被 WSSV 诱导上调表达^[22]。*MjSTAT* 的磷酸化过程能够被 SOCS2 抑制。当 SOCS2 被干扰后, 对虾对细菌的清除能力增强, 对虾的死亡率减少^[8]。STAT 在 JAK-STAT 信号传导的下游发挥作用, 多位研究者已经证实 STAT 在 WSSV 感染时可以发生磷酸化并且形成二聚体进入细胞核进而调控相应基因的表达。这些研究都为进一步了解甲壳动物的天然免疫应答提供了基础, 有助于对甲壳动物的 JAK/STAT 信号传导全面而具体的认识。

4 负调控因子的结构及其在虾蟹中的表达和作用

先天免疫是抵御病原体入侵的第一道防线。细胞因子介导细胞间的交流, 在适当程度下调节免疫反应是非常重要作用的。然而, 先天免疫的激活必须严格控制, 以避免过度的免疫反应而造成不良影响。因此细胞因子受体信号传导的负调控就显得尤为重要^[55]。JAK/STAT 正调控元件和负调控元件共同参与信号通路的调控已被证实^[8]。介导 JAK/STAT 信号传导的负调控因子分别是: 细胞因子信号传导抑制因子 (SOCS) 蛋白家族, 蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTP) 和活化 STAT 蛋白抑制因子 (PIAS)。除了这些调控蛋白之外, 多功能支架蛋白 β -arrestin1 与细胞因子 TC45 也参 JAK/STAT 途径的调控。

4.1 细胞因子信号通路抑制因子 (SOCS)

细胞因子信号通路抑制因子 (SOCS) 是反式调控元件的一种, 受 JAK/STAT 信号通路调控表达, 且能抑制该信号通路, 具有负调控作用, 但已有部分研究证明了 SOCS 分子在细胞因子受体信号转导中的正向调控作用^[56]。SOCS 包含 8 个家族成员, 分为 2 个亚家族, 分别被命名为 I 型 (SOCS4—SOCS7) 和 II 型 (CIS 和 SOCS1—SOCS3)^[57], 有研究表明在鱼类中已鉴定到 SOCS 家族的新成员^[58]。SOCS 主要通过两种方式调控 JAK/STAT 信号通路, 一是通过 SH2 结构域竞争性结合 JAK 激酶上磷酸化的酪氨酸残基来抑制激酶活性^[59], 二是通过募集泛素连接酶形成复合体, 并通过泛素化途径降解标记的靶基因^[60]。

SOCS 家族通常具有相似的结构, 氨基端的 N 区, 中间的 SH2 结构域和羧基端的 SOCS-box。氨基端的 N 区为一段长度和核苷酸序列高度可变的可

变区;SH2 结构域能识别 JAK 激酶上磷酸化的酪氨酸残基,参与信号的转导;羧基端的 SOCS-box 具有较高的保守性,作为底物蛋白识别模块,参与蛋白酶对底物蛋白的泛素化和后续的降解^[61-62]。

目前已在中华绒螯蟹、日本囊对虾、凡纳滨对虾和克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)^[27]体内鉴定出 SOCS,属于 SOCS2 或 SOCS6 家族,不同物种 SOCS 中 SH2 结构域与 SOCS-box 的氨基酸序列是保守的。在中华绒螯蟹的 *EsSOCS2* (SOCS2 in *Eriocheir sinensis*) 中预测了 ESS 结构域、SH2 结构域和 SOCS-box。氨基端延伸的 N-ESS 结构域被认为是 SOCS 的特异性元件,它在 SOCS2 和 CIS 中作为结构子域连接着 SH2 结构域和 SOCS-box^[63],SH2 结构域中包含一个酪氨酸磷酸化 (Tyrosine phosphorylation, pY) 位点 (Arg₂₃₀, Asp₂₃₁ 和 Ser₂₃₂)。日本囊对虾的 *MjSOCS* (SOCS in *Marspenaeus japonicus*)、凡纳滨对虾的 *LvSOCS2* (SOCS2 in *Litopenaeus vannamei*) 和克氏原螯虾的 *PcSOCS2* (SOCS2 in *Procambarus clarkii*) 蛋白结构中均具有 SH2 结构域和 SOCS-box 这两个典型结构域,并且 *MjSOCS* 与 *EsSOCS2*、*LvSOCS2*、*PcSOCS2* 分别具有 56.2%、90.0% 和 57.0% 的同源性,均属于 SOCS2 家族。在中华绒螯蟹的 *EsSOCS6* (SOCS6 in *Eriocheir sinensis*) 也包含 SH2 结构域和 SOCS-box 结构域,并在其氨基端结构域中发现了一个长的可变区,经鉴定后属于 SOCS6 家族^[28]。

SOCS 在不同甲壳动物的组织分布情况和各组织中的表达量差异印证了 SOCS 具有多种功能。*EsSOCS2* 在肝胰腺、鳃、肌肉、心脏和性腺中表达量较高,在血细胞中表达量较低^[29]; *EsSOCS6* 在肝胰腺和鳃中高表达,在造血组织中表达量相对较低; *MjSOCS* 在心脏、鳃、肠道和淋巴器官中高表达,在血细胞、胃和肝胰腺中表达量很低;Wang 等发现 *LvSOCS2* 在凡纳滨对虾的鳃、肠和上皮组织中高表达,在心脏和神经的表达量为中等,在肝胰腺、幽门盲肠和血细胞中表达量较低。但另一研究表明, *LvSOCS2* 在对虾的血细胞、肠道和肝胰腺中高表达,在鳃中表达量极低,心脏中几乎不表达。 *LvSOCS2* 在神经组织中的表达表明了它可能参与了神经元组织的分化^[30]。 *PcSOCS2* 在心脏和肌肉中表达水平最高,在肝胰腺中呈低表达水平。

SOCS 家族在协调细胞对多种细胞因子和生长因子的反应中发挥关键作用,通过针对受体复合物调节细胞内信号级联以防止过度信号传递并恢复内稳态^[64-66]。但目前关于 SOCS 参与甲壳动物免疫防御反应的报道较少。研究发现鳃利斯顿氏菌 (*Lis-*

tonella anguillarum) 和藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*) 刺激中华绒螯蟹后,血淋巴细胞内的 *EsSOCS2* 表达量升高,表明 *EsSOCS2* 可能在抗细菌感染中起重要作用^[29]。此外, *EsSOCS2* 被报道中在中华绒螯蟹中具有调节神经递质释放的功能^[67]。研究人员还发现 *EsSOCS6* 可能通过调节 NF- κ B 信号通路在对病毒和细菌的免疫应答中发挥综合作用。在日本囊对虾中发现了 *MjSOCS2*,其表达量可受脂多糖、肽聚糖和聚肌胞苷酸影响,表明 *MjSOCS* 与对虾的先天免疫有关。研究还发现, *MjSOCS2* 能够抑制磷酸化的 *MjSTAT*^[31]。在凡纳滨对虾中, *LvSOCS2* 能够呈浓度依赖性抑制由 *LvJAK* 诱导的 DmVir-1 启动子表达量上调,这些结果提示 *LvSOCS2* 是 JAK/STAT 通路的负调控因子。此外,敲除 *LvSOCS* 后, WSSV 感染凡纳滨对虾的死亡率降低,说明敲除 *LvSOCS2* 能增强凡纳滨对虾对 WSSV 的抗性^[30]。研究人员发现在克氏原螯虾中可能存在 20-hydroxyecdysone/SOCS2/ERK 通路,而 *PcSOCS2* 是该信号通路的负调控因子^[27]。

4.2 活化 STAT 蛋白抑制剂 (PIAS)

活化 STAT 蛋白抑制剂 (PIAS) 蛋白家族通常作为负调控因子参与 JAK/STAT 信号通路的调控,是该信号通路的信号转导抑制剂和转录激活剂^[68-69]。哺乳动物的 PIAS 蛋白家族有 4 个成员 PIAS1、PIAS3、PIASx (PIAS2) 和 PIASy (PIAS4)。PIAS 家族具有广泛的功能,参与细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、免疫应答等重要生物学过程^[70-71]。在 JAK/STAT 信号通路中,PIAS 与二聚化的 STAT 结合阻止 STAT 核易位,阻断活化的 STAT 的 DNA 结合活性来抑制 STAT 诱导下游基因转录的能力^[72-73]。

PIAS 蛋白家族高度保守,具有共同的结构特征:氨基端的 SAP 结构域、PINIT 结构域、RLD 结构域,以及羧基端的一个富含酸性氨基酸的结构域 (AD) 和富含丝氨酸跟苏氨酸的结构域 (S/T-rich 结构域)。SAP 结构域参与序列特异性 DNA 或结构特异性 DNA 结合^[74];PINIT 结构域参与了 PIAS 的核定位^[75];RLD 结构域参与 PIAS 蛋白的 SUMO-E3 连接酶的激活,并且可能参与 PIAS 与其他蛋白的相互作用^[76];在 AD 中存在一个推测的 SUMO1 相互作用基序 (SIM)^[77]。C 末端的 S/T-rich 结构域最不保守,其功能还有待研究。

目前在甲壳动物中仅有一种 PIAS 被发现,已在拟穴青蟹、日本囊对虾和凡纳滨对虾中被报道^[32-34]。 *SpPIAS* (PIAS in *Scylla paramamosain*)、*MjPIAS* (PIAS in *Marspenaeus japonicus*) 和 *LvPIAS*

(PIAS in *Litopenaeus vannamei*) 均有相似的结构域特征,均包含 SAP 结构域,PINIT 结构域,RLD 结构域和 S/T-rich 结构域。

日本囊对虾的 *MjPIAS* 在血细胞和肝胰腺高表达。研究发现,*MjPIAS* 通过抑制 STAT 的磷酸化与核易位来负向调控 JAK/STAT 信号通路对抗菌肽基因的表达来抑制日本囊对虾的抗菌能力^[34]。凡纳滨对虾的 *PIAS*(*LvPIAS*) 在肌肉中表达量最丰富,其表达水平受细菌和病毒刺激后均有不同程度的显著变化应答。*LvSTAT* 与 *LvPIAS* 之间存在负反馈环,*LvSTAT* 诱导 *LvPIAS*,*LvPIAS* 抑制 *LvSTAT* 对 *LvPIAS* 启动子的转录活性^[33]。

4.3 多功能支架蛋白(β arrs)

β arrs(β -arrestins) 是多功能支架蛋白,参与调节多种细胞表面受体的脱敏和内吞作用^[78-79]。哺乳动物中,有研究表明在 IFN- γ 治疗后,核 β arr1 直接与细胞核中的 STAT1 相互作用,招募 TC45 加速 STAT1 去磷酸化^[80];另一项研究发现 GdX(位于 Xq28 G6PD 簇中的 X 连锁基因,也称为 Ub14A,泛素样蛋白 4A)能够介导 TC45 和 STAT3 之间相互作用,促进 STAT3 去磷酸化^[81]。在对虾中,有两个 β arr(β arr 1 和 2)^[35] 和 1 个 TC45。

在细菌感染后,STAT 磷酸化增加,随后其易位到细胞核中以诱导虾血细胞中 AMP 的表达。 β arrs 和 TC45 加速了鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*) 攻击对虾 STAT 的去磷酸化,这些结果表明 β arr1 作为支架蛋白在 TC45 和 STAT 之间起桥梁作用,它加速了 STAT 在细胞核中的去磷酸化抑制了鳃弧菌感染对虾中 AMP 的表达^[36]。

4.4 蛋白酪氨酸磷酸酶(PTPs)

蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase,PTPs)是 JAK/STAT 信号通路中的 STAT 负调控因子,目前已知有超过 130 种 PTPs 被发现,PTPs 能使细胞质中 JAK 激酶上磷酸化的酪氨酸残基去磷酸化或使细胞核中的 STAT 去磷酸化来调控 STAT 的活性^[81]。目前在甲壳动物中,PTPs 的研究较少,仅发现了日本囊对虾的 TC45(45-kDa form of TC-PTP)和凡纳滨对虾的 *LvPTPN6*。日本囊对虾的 TC45 包含一个活化区和一个位于 C-端非活化区的核定位信号^[36];凡纳滨对虾的 *LvPTPN6* 包含两个 SH2 结构域和蛋白酪氨酸磷酸酶催化(PTPc)结构域^[37]。

PTPs 在甲壳动物体内呈组织性分布。TC45 在凡纳滨对虾的血细胞、心脏、肝胰、鳃、胃和肠中均有表达^[36]; *LvPTPN6* 在神经、肌肉和肠道中表达量最

高,在心脏、肝胰腺中表达量偏低^[37]。

研究者干扰日本囊对虾的 TC45 基因后,使用细菌刺激日本囊对虾,发现对虾体内 STAT 磷酸化水平升高,说明 TC45 通过对 STAT 去磷酸化负调控了 JAK/STAT 信号通路的抗菌免疫^[36]。在凡纳滨对虾中,*LvPTPN6* 的表达受到干扰素调节因子(IRF)的调控,IRF 可以直接与 *LvPTPN6* 的启动子结合。值得注意的是,与典型的 PTPs 功能相反,*LvPTPN6* 可以促进 STAT 的二聚化及核定位,这进一步提高了 STAT 靶向的免疫效应基因的表达,并增强了虾的抗病毒免疫^[37]。

5 总结与展望

甲壳动物 JAK/STAT 信号通路与先天免疫系统相关,并在应对病原感染的免疫应答反应中起重要作用。各种细胞因子通过 JAK/STAT 信号通路参与介导机体各种生理病理反应。在正常情况下,各种细胞因子能通过 JAK/STAT 信号通路介导的抵抗病原感染。反之,则会导致病原,特别是病毒可以利用该通路感染宿主。

病毒性疾病是水产养殖业发展的主要威胁,应用抗生素的传统治疗方法可以缓解疾病的发展,但抗生素的过度使用会导致机体耐药和新疾病的发生。因此,虾蟹养殖疾病防控策略的提出、先天免疫方面的研究显得尤为重要。这里提出几个未来研究的方向以供参考:

(1) 目前关于 JAK/STAT 信号通路的研究大都集中在组成元件的鉴定、组成元件参与白斑综合征病毒感染的机制研究方面。对各组成元件具体的监管机制以及各元件之间的相互作用仍需要进一步探索。

(2) 通路上主要元件的报道主要集中在 STAT 上,而关于 JAK 和 Dome 的相关报道则有限;关于通路病毒感染机制的研究主要集中在白斑综合征病毒方面,关于其他病毒感染、病原菌侵染的研究鲜有报道。而对于养殖甲壳动物危害比较大的疾病比如十足虹彩病毒病,传染性皮下和造血组织坏死病、急性肝胰腺坏死病等,这几种疾病尚无有效的治疗方法,死亡率非常高。因此对这些疾病的感染机制的研究,尤其是对其在 JAK/STAT 通路上的各元件对通路的影响机制的研究显得十分迫切。以期做好疾病的防控工作,把生产实际的损失降至最低。

总而言之,JAK/STAT 通路之间的分子机制尚未被完全阐明,在通路特征及功能的研究方面还需更进一步深入研究。深入研究 JAK/STAT 通路上已

经鉴定出来的对病原感染的免疫应答反应的相关基因和蛋白的功能,为虾蟹养殖业提供必要的疾病防控理论依据的同时,也为虾蟹疾病防控提出有效的解决方法。

参考文献:

- [1] LIU L K, LIU M J, LI D L, et al. Recent insights into anti-WSSV immunity in crayfish[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 116: 103947.
- [2] HUANG Y, REN Q. Research progress in innate immunity of freshwater crustaceans[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 104: 103569.
- [3] ZAMBON R A, NANDAKUMAR M, VAKHARIA V N, et al. The Toll pathway is important for an antiviral response in *Drosophila*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(20): 7 257-7 262.
- [4] AVADHANULA V, WEASNER B P, HARDY G G, et al. A novel system for the launch of alphavirus RNA synthesis reveals a role for the Imd pathway in arthropod antiviral response[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(9): e1000582.
- [5] ZEIDLER M P, BAUSEK N. The *Drosophila* JAK-STAT pathway[J]. *JAK-STAT*, 2013, 2(3): e25353.
- [6] DARNELL J E Jr, KERR I M, STARK G R. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins[J]. *Science*, 1994, 264(5 164): 1 415-1 421.
- [7] ARBOUZOVA N I, ZEIDLER M P. JAK/STAT signalling in *Drosophila*: insights into conserved regulatory and cellular functions[J]. *Development*, 2006, 133(14): 2 605-2 616.
- [8] 兰江风. 抑制素和 JAK/STAT 信号途径关键因子在甲壳动物免疫反应中的功能研究[D]. 济南: 山东大学, 2014.
LAN J F. Functional study of prohibition and key molecules in JAK/STAT signal pathway in crustacean immune responses[D]. Jinan: Shandong University, 2014.
- [9] PHILIPS R L, WANG Y X, CHEON H, et al. The JAK-STAT pathway at 30: much learned, much more to do[J]. *Cell*, 2022, 185(21): 3 857-3 876.
- [10] KIU H, NICHOLSON S E. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways[J]. *Growth Factors*, 2012, 30(2): 88-106.
- [11] LI F H, XIANG J H. Recent advances in researches on the innate immunity of shrimp in China[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2013, 39(1/2): 11-26.
- [12] LEMAITRE B, HOFFMANN J. The host defense of *Drosophila melanogaster*[J]. *Annual Review of Immunology*, 2007, 25: 697-743.
- [13] TASSANAKAJON A, SOMBOONWIWAT K, SUPUNGUL P, et al. Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(4): 954-967.
- [14] RUAN Z C, WAN Z C, YANG L, et al. JAK/STAT signalling regulates antimicrobial activities in *Eriocheir sinensis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 491-501.
- [15] 陈潇潇. 红螯螯虾细胞因子受体 Domeless 的分子特性及其在 WSSV 感染中的功能研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2018.
CHEN X X. Molecular characterization of cytokine receptor domeless and its functional research on WSSV infection of *Cherax quadricarinatus*[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2018.
- [16] LAOHAWUTTHICHAI P, JATUYOSPORN T, SUPUNGUL P, et al. Effects of PmDOME and PmSTAT knockdown on white spot syndrome virus infection in *Penaeus monodon*[J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 9852.
- [17] YAN M T, LI C Z, SU Z Q, et al. Identification of a JAK/STAT pathway receptor domeless from Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(1): 26-32.
- [18] 张英豪, 顾泽茂, 兰江风. 虾应对感染的先天免疫反应研究进展[J]. *华中农业大学学报*, 2019, 38(3): 119-130.
ZHANG Y H, GU Z M, LAN J F. Recent advances in study of immune response of shrimp to pathogen infection: a review[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2019, 38(3): 119-130.
- [19] DENG H W, XU X P, HU L, et al. A Janus kinase from *Scylla paramamosain* activates JAK/STAT signaling pathway to restrain mud crab reovirus[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 90: 275-287.
- [20] SONG X, ZHANG Z J, WANG S, et al. A Janus kinase in the JAK/STAT signaling pathway from *Litopenaeus vannamei* is involved in antiviral immune response[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(2): 662-673.
- [21] CHENG C H, CHEN G D, YEH M S, et al. Expression and characterization of the JAK kinase and STAT protein from brine shrimp, *Artemia franciscana*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28(5/6): 774-782.
- [22] SUN C, SHAO H L, ZHANG X W, et al. Molecular cloning and expression analysis of signal transducer and activator of transcription (STAT) from the Chinese white shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(8): 5 313-5 319.
- [23] CHEN W Y, HO K C, LEU J H, et al. WSSV infection activates STAT in shrimp[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(10): 1 142-1 150.
- [24] 张铃, 刘逸尘, 张亦陈, 等. 凡纳滨对虾信号转导及转录激活因子(*Lx-STAT*)基因的克隆及表达特征分析[J]. *水产学报*, 2013, 37(8): 1 140-1 146.
ZHANG L, LIU Y C, ZHANG Y C, et al. Molecular cloning and expression pattern analysis of signal transducer and activator of transcription(*Lx-STAT*) from the *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(8): 1 140-1 146.
- [25] HUANG Y, REN Q. Molecular cloning and functional analysis of three STAT isoforms in red swamp crayfish *Procambarus clarkii*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 108: 103670.

- [26] OKUGAWA S, MEKATA T, INADA M, et al. The SOCS and STAT from JAK/STAT signaling pathway of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*: molecular cloning, characterization and expression analysis[J]. Molecular and Cellular Probes, 2013, 27(1): 6-14.
- [27] ZHU B J, DAI L S, YU Y Y, et al. A role of suppressor of cytokine signaling 2 in the regulation of ecdysteroid signaling pathway in *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Experimental Zoology Part A, Ecological Genetics and Physiology, 2016, 325(7): 441-452.
- [28] QU C, XU Q S, LU M M, et al. The involvement of suppressor of cytokine signaling 6 (SOCS6) in immune response of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 72: 502-509.
- [29] ZHANG Y, ZHAO J M, ZHANG H, et al. The involvement of suppressors of cytokine signaling 2 (SOCS2) in immune defense responses of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2010, 34(1): 42-48.
- [30] WANG S, SONG X, ZHANG Z J, et al. Shrimp with knockdown of LvSOCS2, a negative feedback loop regulator of JAK/STAT pathway in *Litopenaeus vannamei*, exhibit enhanced resistance against WSSV[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2016, 65: 289-298.
- [31] SUN J J, LAN J F, XU J D, et al. Suppressor of cytokine signaling 2 (SOCS2) negatively regulates the expression of antimicrobial peptides by affecting the Stat transcriptional activity in shrimp *Marsupenaeus japonicus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 56: 473-482.
- [32] HUANG A M, GENG Y, FANG W H, et al. cDNA cloning and expression pattern analysis of protein inhibitor of activated STAT (PIAS) of the mud crab, *Scylla paramamosain*[J]. Aquaculture, 2015, 444: 21-27.
- [33] ZHANG S, LI C Z, WANG W, et al. Functional characterization of a protein inhibitor of activated STAT (PIAS) gene in *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 94: 417-426.
- [34] 牛国娟. 两种含 Ig 结构域蛋白以及 STAT 激活抑制蛋白在日本囊对虾先天免疫中的功能研究[D]. 济南: 山东大学, 2019.
- NIU G J. Function study of two Ig-containing proteins and protein inhibitor of activated STAT in innate immunity of *Marsupenaeus japonicus*[D]. Jinan: Shandong University, 2019.
- [35] SUN J J, LAN J F, SHI X Z, et al. β -arrestins negatively regulate the toll pathway in shrimp by preventing dorsal translocation and inhibiting dorsal transcriptional activity[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(14): 7 488-7 504.
- [36] SUN J J, YANG H T, NIU G J, et al. β -Arrestin 1's Interaction with TC45 Attenuates Stat signaling by dephosphorylating Stat to inhibit antimicrobial peptide expression[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 35808.
- [37] LUO M T, XU X P, LIU X X, et al. The non-receptor protein tyrosine phosphatase PTPN6 mediates a positive regulatory approach from the interferon regulatory factor to the JAK/STAT pathway in *Litopenaeus vannamei*[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 913955.
- [38] BROWN S, HU N, HOMBRIÁ J C. Identification of the first invertebrate interleukin JAK/STAT receptor, the *Drosophila* gene *domeless*[J]. Current Biology, 2001, 11(21): 1 700-1 705.
- [39] DAGIL R, KNUDSEN M J, OLSEN J G, et al. The WSXWS motif in cytokine receptors is a molecular switch involved in receptor activation: insight from structures of the prolactin receptor[J]. Structure, 2012, 20(2): 270-282.
- [40] BORK P, DOOLITTLE R F. Proposed acquisition of an animal protein domain by bacteria[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(19): 8 990-8 994.
- [41] RAWLINGS J S, ROSLER K M, HARRISON D A. The JAK/STAT signaling pathway[J]. Journal of Cell Science, 2004, 117(8): 1 281-1 283.
- [42] YAMAOKA K, SAHARINEN P, PESU M, et al. The Janus kinases (Jaks)[J]. Genome Biology, 2004, 5(12): 253.
- [43] BINARI R, PERRIMON N. Stripe-specific regulation of pair-rule genes by hopscotch, a putative Jak family tyrosine kinase in *Drosophila*[J]. Genes & Development, 1994, 8(3): 300-312.
- [44] 黄昊哲, 张吉星, 刘佳, 等. Janus 激酶及其抑制剂的研究进展[J]. 药学进展, 2019, 43(1): 42-50.
- HUANG H Z, ZHANG J X, LIU J, et al. Research progress of Janus kinases and their inhibitors[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2019, 43(1): 42-50.
- [45] FERRAO R, LUPARDUS P J. The Janus kinase (JAK) FERM and SH2 domains: bringing specificity to JAK-receptor interactions[J]. Frontiers in Endocrinology, 2017, 8: 71.
- [46] BABON J J, LUCET I S, MURPHY J M, et al. The molecular regulation of Janus kinase (JAK) activation[J]. Biochemical Journal, 2014, 462(1): 1-13.
- [47] L'ABBÉ D, BANVILLE D, TONG Y A, et al. Identification of a novel protein tyrosine phosphatase with sequence homology to the cytoskeletal proteins of the band 4. 1 family[J]. FEBS Letters, 1994, 356(2/3): 351-356.
- [48] VAINCHENKER W, CONSTANTINESCU S N. JAK/STAT signaling in hematological malignancies[J]. Oncogene, 2013, 32(21): 2 601-2 613.
- [49] HOU X S, MELNICK M B, PERRIMON N. marelle acts downstream of the *Drosophila* HOP/JAK kinase and encodes a protein similar to the mammalian STATs[J]. Cell, 1996, 84(3): 411-419.
- [50] HORVATH C M, WEN Z, DARNELL J E Jr. A STAT protein domain that determines DNA sequence recognition suggests a novel DNA-binding domain[J]. Genes & Development, 1995, 9(8): 984-994.
- [51] HEIM M H, KERR I M, STARK G R, et al. Contribution of STAT SH2 groups to specific interferon signaling by the Jak-STAT pathway[J]. Science, 1995, 267(5 202): 1 347-1 349.
- [52] WANG W, PAN C K, HUANG Z L, et al. WSV181 inhibits JAK/STAT signaling and promotes viral replication in *Drosophila*[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2019, 92: 20-28.
- [53] LIU W J, CHANG Y S, WANG A H J, et al. White spot syndrome virus annexes a shrimp STAT to enhance expression of the immediate-early gene *ie1*[J]. Journal of Virology, 2007, 81(3): 1 461-1 471.
- [54] 温荣. 对虾 MyD88 和 STAT 在 WSSV 感染过程中的功能研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2014.
- WEN R. Study on the functions of STAT and MyD88 in penaeid shrimp during WSSV infection[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese A-

- cademy of Sciences, 2014.
- [55] DALPKE A, HEEG K, BARTZ H, et al. Regulation of innate immunity by suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins[J]. Immunobiology, 2008, 213(3/4): 225-235.
- [56] FAVRE H, BENHAMOU A, FINIDORI J, et al. Dual effects of suppressor of cytokine signaling (SOCS-2) on growth hormone signal transduction[J]. FEBS Letters, 1999, 453(1/2): 63-66.
- [57] ILANGUMARAN S, RAMANATHAN S, ROTTAPPEL R. Regulation of the immune system by SOCS family adaptor proteins[J]. Seminars in Immunology, 2004, 16(6): 351-365.
- [58] JIN H J, SHAO J Z, XIANG L X, et al. Global identification and comparative analysis of SOCS genes in fish: insights into the molecular evolution of SOCS family[J]. Molecular Immunology, 2008, 45(5): 1 258-1 268.
- [59] SHI J J, WEI L. Regulation of JAK/STAT signalling by SOCS in the myocardium[J]. Cardiovascular Research, 2012, 96(3): 345-347.
- [60] KAMURA T, SATO S, HAQUE D, et al. The Elongin BC complex interacts with the conserved SOCS-box motif present in members of the SOCS, ras, WD-40 repeat, and ankyrin repeat families[J]. Genes & Development, 1998, 12(24): 3 872-3 881.
- [61] LINOSI E M, NICHOLSON S E. The SOCS box-adapting proteins for ubiquitination and proteasomal degradation[J]. IUBMB Life, 2012, 64(4): 316-323.
- [62] BULLOCK A N, DEBRECZENI J E, EDWARDS A M, et al. Crystal structure of the SOCS₂-elongin C-elongin B complex defines a prototypical SOCS box ubiquitin ligase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(20): 7 637-7 642.
- [63] WANG T H, SECOMBES C J. Rainbow trout suppressor of cytokine signalling (SOCS)-1, 2 and 3: molecular identification, expression and modulation[J]. Molecular Immunology, 2008, 45(5): 1 449-1 457.
- [64] 崔安芳, 黄延红, 张向阳. SOCS2 研究进展[J]. 济宁医学院学报, 2015, 38(1): 14-18.
- CUI A F, HUANG Y H, ZHANG X Y. SOCS2 研究进展[J]. Journal of Jining Medical University, 2015, 38(1): 14-18.
- [65] YASUKAWA H, SASAKI A, YOSHIMURA A. Negative regulation of cytokine signaling pathways[J]. Annual Review of Immunology, 2000, 18: 143-164.
- [66] YOSHIMURA A, NAKA T, KUBO M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation[J]. Nature Reviews Immunology, 2007, 7(6): 454-465.
- [67] ZHANG Y, ZHAO J M, ZHANG H, et al. The involvement of suppressors of cytokine signaling 2 (SOCS2) in immune defense responses of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2010, 34(1): 42-48.
- [68] SCHMIDT D, MÜLLER S. Members of the PIAS family act as SUMO ligases for c-Jun and p53 and repress p53 activity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(5): 2 872-2 877.
- [69] LIU B, LIAO J, RAO X, et al. Inhibition of Stat1-mediated gene activation by PIAS1[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(18): 10 626-10 631.
- [70] TOLKUNOVA E, MALASHICHEVA A, PARFENOV V N, et al. PIAS proteins as repressors of Oct4 function[J]. Journal of Molecular Biology, 2007, 374(5): 1 200-1 212.
- [71] SHUAI K, LIU B. Regulation of gene-activation pathways by PIAS proteins in the immune system[J]. Nature Reviews Immunology, 2005, 5(8): 593-605.
- [72] KISSELEVA T, BHATTACHARYA S, BRAUNSTEIN J, et al. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges[J]. Gene, 2002, 285(1/2): 1-24.
- [73] CHUNG C D, LIAO J Y, LIU B, et al. Specific inhibition of Stat3 signal transduction by PIAS3[J]. Science, 1997, 278(5 344): 1 803-1 805.
- [74] ARAVIND L, KOONIN E V. SAP-a putative DNA-binding motif involved in chromosomal organization[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2000, 25(3): 112-114.
- [75] DUVAL D, DUVAL G, KEDINGER C, et al. The ‘PINIT’ motif, of a newly identified conserved domain of the PIAS protein family, is essential for nuclear retention of PIAS3L[J]. FEBS Letters, 2003, 554(1/2): 111-118.
- [76] KOTAJA N, KARVONEN U, JÄNNE O A, et al. PIAS proteins modulate transcription factors by functioning as SUMO-1 ligases[J]. Molecular and Cellular Biology, 2002, 22(14): 5 222-5 234.
- [77] MINTY A, DUMONT X, KAGHAD M, et al. Covalent modification of p73alpha by SUMO-1. Two-hybrid screening with p73 identifies novel SUMO-1-interacting proteins and a SUMO-1 interaction motif[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(46): 36 316-36 323.
- [78] PERRY S J, LEFKOWITZ R J. Arresting developments in heptahelical receptor signaling and regulation[J]. Trends in Cell Biology, 2002, 12(3): 130-138.
- [79] MARULLO S, COUREUIL M. Arrestins in host-pathogen interactions[J]. Handbook of Experimental Pharmacology, 2014, 219: 361-374.
- [80] MO W, ZHANG L, YANG G H, et al. Nuclear β -arrestin1 functions as a scaffold for the dephosphorylation of STAT1 and moderates the antiviral activity of IFN- γ [J]. Molecular Cell, 2008, 31(5): 695-707.
- [81] WANG Y M, NING H X, REN F L, et al. Gdx/UBL4A specifically stabilizes the TC45/STAT3 association and promotes dephosphorylation of STAT3 to repress tumorigenesis[J]. Molecular Cell, 2014, 53(5): 752-765.

Advance in the function and regulation mechanism of JAK/STAT signaling pathway in the study of crustacean immune response

ZHAO Furong^{1,2}, WANG Wei^{1,2}, ZHANG Yange^{1,2}, ZHENG Qin^{1,2}, CHEN Jianming^{1,2*}

(1. Fujian Key Laboratory on Conservation and Sustainable Utilization of Marine Biodiversity,

College of Geography and Oceanography, Minjiang University, Fuzhou 350108, China;

2. Fuzhou Institute of Oceanography, Fuzhou 350108, China)

Abstract: Innate immunity is not only the first defensive line against pathogen infection, but also the premise and basis of activating acquired immunity, which plays an important role in the spread of pathogens and the development of diseases. The vertebrates can fight off pathogens through innate and adaptive immunity; however the invertebrates can only fight off pathogens through innate immunity. The JAK/STAT signaling pathway is one of the major pathways regulating the immune response of invertebrates. In this paper, the research status of JAK/STAT signaling pathway in cultured crustaceans of the structure, the expression and functions from the cytokine receptor (Dome), JAK tyrosine kinase (JAK), signal transduction and activator of transcription (STAT), and regulatory factors in the host are reviewed. At present, elements of this pathway have been reported in nearly ten species of crustaceans such as shrimp, crayfish, and crab, and each element has a conserved typical domain. Similar elements have different structures in different types of crustaceans, but their functions are basically similar. These elements have been confirmed to affect disease resistance by regulating signal transduction in the JAK/STAT pathway. At present, only all components of the JAK/STAT signaling pathway have been identified in *Litopenaeus vannamei*. It is still necessary to identify the remaining components in other crustaceans, and the impact of the JAK/STAT signaling pathway on other signaling pathways in crustaceans still needs further research. It is hoped that it can provide theoretical basis and reference for the study of the regulatory mechanism of JAK/STAT signaling pathway in crustaceans.

Key words: marine biology; crustaceans; innate immunity; JAK/STAT signaling pathway; regulating mechanism

DOI: 10.3969/J.ISSN.2095-4972.20220609002

* Corresponding author: (E-mail: chenjm@mju.edu.cn)

(责任编辑:肖 静)