



· 综述 ·

鱼类的干扰素系统：研究进展与我国学者的贡献

李丽¹, 邹钧², 苏建国³, 刘兰浩⁴, 张珊⁴, 聂品^{4*}

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430072;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

4. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 干扰素 (interferon, IFN) 是一类具有抗病毒、抗细菌和免疫调节等多种功能的细胞因子。根据其分子结构、受体、信号通路以及生物学功能等, 脊椎动物 IFNs 被分为 I 型、II 型、III 型和 IV 型。鱼类属于低等脊椎动物, 是脊椎动物中种类最多的一个类群, 也是最早拥有完善且复杂 IFN 系统的脊椎动物, 是研究 IFN 系统组成、功能和演化的重要对象。根据系统发育关系, 鱼类 I 型 IFNs 被分成 8 个亚群, 分别为 IFNa - IFNf 以及 IFNh 和 IFNi。不同亚群可选择性利用不同的受体复合物, 通过保守的 JAK/STAT 信号通路诱导干扰素诱导基因 (interferon stimulated genes, ISGs) 的表达, 从而发挥抗病毒等功能。鱼类 II 型 IFNs 有 2 个成员, 即 IFN- γ 和 IFN- γ rel, 它们可分别利用 CRFB13/CRFB6 和 CRFB17 受体, 通过 STAT1 传递信号。目前, 在硬骨鱼类中还未鉴定到 III 型 IFNs, 但软骨鱼类中已鉴定到了 III 型 IFNs 及其受体亚基。IV 型 IFN 是我国学者近期在鱼类和原始哺乳动物中鉴定到的一类新 IFN 基因, 具有显著的抗病毒功能, 受体由 CRFB12 和 CRFB4 组成。本文从基因结构、分类和命名、受体组成、信号传导以及生物学功能等方面总结了鱼类的 I 型、II 型、III 型和 IV 型 IFNs 的最新研究进展, 重点介绍了我国学者在鱼类 IFN 系统的组成与命名、受体与信号传导、晶体结构、功能、新型 IFN 等方面所取得的研究成绩。本文不仅为今后鱼类 IFN 系统的研究提供了可能的方向, 也能增强我们对鱼类 IFN 研究进展的系统性认识, 同时也为 IFN 在鱼类抗病毒和抗细菌感染中的应用提供参考。

关键词: 鱼类; 干扰素; 干扰素受体; JAK-STAT 信号通路

中图分类号: S 942.5

文献标志码: A

脊椎动物免疫系统的重要抗病毒策略是在模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 识别病毒后诱导干扰素 (interferon, IFN) 产生^[1]。IFN 是一类由有核细胞分泌的具有广谱抗病毒活性的多效能细胞因子, 其本身不具有直接的抗病毒作用, 而是依赖于 RNA 和蛋白质合成等细胞代谢过程发

挥其活性。IFN 通过调控激活一系列信号通路, 诱导产生大量具有抗病毒作用的 ISGs。这些 ISGs 可直接作为效应蛋白抵抗病毒感染, 或者作为调节蛋白, 调控细胞或者宿主的抗病毒状态^[2]。近年来, 我国学者发现非哺乳动物 IFN 的部分成员还具有强大的直接或间接抗细菌功能^[3-4]。

收稿日期: 2023-08-25 修回日期: 2023-09-29

资助项目: 国家自然科学基金 (32102835)

第一作者: 李丽 (照片), 从事鱼类与比较免疫学研究, E-mail: lili2013@ihb.ac.cn

通信作者: 聂品, 从事鱼类与比较免疫学研究, E-mail: pinnie@qau.edu.cn



鱼类被认为是最早具有完善 IFN 系统的脊椎动物类群, 是研究 IFN 系统组成、功能和起源的重要对象, 备受比较免疫学家的青睐^[5]。近年来, 国内外鱼类免疫学家在鱼类 IFN 系统研究方面取得了重大进展。尤其值得关注的是, 2022 年我国鱼类免疫学研究团队在斑马鱼 (*Danio rerio*) 和非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 中鉴定到了一类新型 IFN, 将之命名为 IV 型 IFN, 极大地拓展了我们对 IFN 系统复杂性和多样性的认知^[6-7]。至此, 根据基因结构、基因座、受体组成以及信号通路等特点将 IFN 分为 I 型、II 型、III 型和 IV 型共四种类型^[6, 8]。目前, 已经在鱼类中发现了全部四种类型 IFN 的存在, 其中 III 型 IFNs 只在软骨鱼中有报道^[9]。

IFN 的信号传导起始于与细胞膜上特异性受体的结合, 进而激活胞质中的 JAK/STAT 信号通路, 最终诱导一系列 ISGs 和补体转录, 这些诱导表达的 ISGs 和补体是 IFN 发挥其抗病毒和抗菌等抗感染功能的效应分子^[4, 10]。IFN 功能的多样性和复杂性源于其大量诱导表达的效应分子的作用。在哺乳动物中, I 型和 III 型 IFNs 的功能相似, 主要是作为先天性的抗病毒因子, 它们的区别在于 III 型 IFNs 的表达具有组织细胞特异性, 而 I 型 IFNs 几乎在所有有核细胞中表达^[11-12]。相比而言, II 型 IFN 主要由 CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞、自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 等免疫细胞表达产生, 主要功能是免疫调控、协调病毒和细菌感染中产生的先天性和适应性免疫^[13]。IV 型 IFN 的诱导机制似乎与 I 型和 III 型的非常相似, 已有研究表明其具有显著的抗病毒作用, 推测 IV 型 IFN 可能与 I 型和 III 型 IFN 功能相似, 主要在先天的抗病毒免疫反应中发挥作用^[6, 14-15]。

1 I 型干扰素

1957 年, 科学家 Isaacs 等^[16]在用鸡胚绒毛尿囊膜研究流感病毒感染时首次发现 IFN, 后来的研究表明, 该 IFN 属于 I 型 IFN。到目前为止, 哺乳动物 I 型 IFN 的已知成员有 IFN- α 、IFN- β 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、IFN- ω 、IFN- δ 、IFN- τ 、IFN- ν 、IFN- μ 和 IFN- ζ (limitin)。但并非所有的哺乳动物都具有这些 IFN, 其中 IFN- δ 、IFN- τ 和 IFN- ζ 分别存在于野猪 (*Sus scrofa*)、反刍类 (ruminants) 和小鼠 (*Mus musculus*) 中; IFN- ν 在人 (*Homo sapiens*) 及除猫科 (Felidae) 动物以外的其他胎盘类哺乳动物中被认为是假基因, 但研究发现其在家养猫中

可能是有功能的; IFN- μ 则只存在于马 (*Equus caballus*) 中^[17-18]。

IFN- α 和 IFN- β 是哺乳动物中分布最为广泛, 研究最为深入的 I 型 IFN。哺乳动物 I 型 IFN 具有广泛的生物学功能, 如抗病毒、抗菌、抗肿瘤及免疫调节等^[12]。I 型 IFN 与其特异性受体结合后通过激活 JAK-STAT 信号通路, 从而激活 ISGs 转录, 如抗黏液病毒基因 (myxovirus resistant gene, *Mx*)、*ISG15* 以及 2'-5'寡腺苷酸合成酶 (2'-5' oligoadenylate synthetase, *OAS*) 等基因的转录, 以抵抗病毒等病原的感染^[8]。I 型 IFN 的主要功能之一是抗病毒作用, 这涉及多种机制, 如阻止病毒进入细胞、控制病毒基因的转录、切割病毒 RNA 以及控制病毒蛋白的合成等^[19-20]。除此之外, I 型 IFN 在免疫调节中也发挥着重要作用, 调控宿主的先天性和适应性免疫。如 IFN- α 和 IFN- β 可诱导 NK 细胞的细胞毒性, 诱导大多数细胞中的主要组织相容复合物 I 类 (major histocompatibility complex I, MHC I) 分子的表达, 以及诱导共刺激分子在抗原提呈细胞中的表达^[21-22]。

与哺乳动物相比, 鱼类 IFN 的研究起步较晚, 但近年来取得了显著的进展。鱼类 IFN 的深入研究始于 2003 年, 当年有三个独立的研究团队分别在斑马鱼、大西洋鲑 (*Salmo salar*)、暗绿鲟 (*Tetraodon nigroviridis*) 中鉴定了完整的 IFN 基因序列^[23-25]。自此, IFN 的发现鉴定不断增多, 在不同分类地位的鱼类中被鉴定, 主要包括鲤形目 (Cypriniformes)、鲑形目 (Salmoniformes)、鲈形目 (Perciformes)、鲷形目 (Pleuronectiformes)、鲉形目 (Tetraodontiformes)、鲑形目 (Siluriformes)、颌针鱼目 (Belontiiformes)、鳗鲡目 (Anguilliformes)、以及软骨鱼类等^[6-7, 26-28]。近些年来, 我国学者对不同鱼类中 I 型 IFN 的类群鉴定和功能研究做出了突出的成绩, 如对草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[29]、鲫 (*Carassius auratus*)^[30]、青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*)^[31-32]、鳊 (*Siniperca chuatsi*)^[33]、翘嘴鲌 (*Culter alburnus*)^[26]、乌鳢 (*Channa argus*)^[34]、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[35-36] 等鱼类 I 型 IFN 的鉴定和功能研究。

1.1 鱼类 I 型 IFNs 的基因结构

在基因结构组成方面, 哺乳动物和鸟类等羊膜动物的 I 型 IFNs 无内含子, 而鱼类 I 型 IFNs 由 4 个内含子和 5 个外显子组成^[28, 37]。在研究 I

型 IFNs 的进化中, 有学者认为 I 型 IFNs 可能很早就作为有内含子的基因出现在脊椎动物中, 并在四足动物和鱼类中同步进化^[38]。我国学者在阐明 I 型 IFNs 由鱼类中的有内含子进化为羊膜动物中的无内含子的研究中做出了突出的贡献。2010 年, 我国学者在研究两栖动物热带爪蟾 (*X. tropicalis*) 的 I 型 IFNs 时提出 I 型 IFNs 逆转座假说, 解释了羊膜动物中 I 型 IFNs 内含子丢失事件^[39]。随后, 以热带爪蟾和青藏高原特有的两栖动物高山倭蛙 (*Nanorana parkeri*) 为研究对象, 我国学者发现热带爪蟾、高山倭蛙和羊膜动物的无内含子 I 型 IFNs 基因可能是由互相独立的逆转座事件产生的^[40-41]。

此外, 一些鱼类 IFNs 可通过选择性使用不同的启动子而产生不同的异构体, 这些异构体转录本表现出不同的本底和诱导表达水平^[42-46]。斑马鱼的 IFN ϕ 1 存在有信号肽和缺乏信号肽两种转录异构体, 其中缺乏信号肽的异构体形式呈现组成型表达, 而病毒感染可显著诱导含信号肽的转录本^[47]。随后的功能研究表明鱼类中缺乏信号肽的 I 型 IFNs 具有正常的抗病毒功能, 可作为一种新型防御手段来对抗病毒感染^[46]。

1.2 鱼类 I 型 IFNs 的分类和命名

与其他类型的 IFN 相比, I 型 IFNs 在不同脊椎动物中存在的类群/亚群和拷贝数是高度多样化的。由于 I 型 IFNs 在进化过程中受到逆转座事件以及谱系专一性的扩增和分化影响, 硬骨鱼类的 I 型 IFNs 与高等脊椎动物的 I 型 IFNs 同源性仅在 13%~30%, 通过序列相似性难以区分硬骨鱼类的 I 型 IFNs 的亚型, 同时也难以与哺乳动物 I 型 IFNs 建立一一对应关系^[38]。起初, 关于鱼类 I 型 IFNs 的命名没有一致的标准, 甚至在不同的鱼类中存在不同的命名规则。通过鱼类免疫学家的不断探索, 目前已建立了一套鱼类特有的 IFN 分类命名系统。最初, 根据干扰素成熟肽中参与形成二硫键的半胱氨酸的数目, 将 I 型 IFNs 分成两大类: 含有两个半胱氨酸的类群 I (group I) 和含有四个半胱氨酸的类群 II (group II), 且每个类群又被进一步分成不同的亚群^[48]。随着不同鱼类基因组的公布以及新的 I 型 IFNs 亚群基因的鉴定, 鱼类 I 型 IFNs 的类群划分一直处于不断地修订和完善中^[37]。根据系统发育进化树分析, I 型 IFN 可分为 8 个亚群, 即 IFNa - IFNf 以及 IFNh 和 IFNi,

但是 IFNg 一般指 II 型 IFN- γ , 所以其在 I 型 IFNs 亚群命名中不被采用^[37, 49]。

迄今为止, 根据半胱氨酸数目, 同时参考受体组成以及系统进化关系, 有学者将已知的硬骨鱼类 I 型 IFNs 分为四个类群, 类群 I 含有两个半胱氨酸, 广泛存在于各种鱼类中, 包括 IFNa、IFNd、IFNe 和 IFNh 四个亚群, 且发现类群 I 的基因扩增可能与硬骨鱼类特定的全基因组复制事件有关^[38]; 类群 II 含有四个半胱氨酸, 包括 IFNc 和 IFNi; 类群 III (group III) 也含有四个半胱氨酸, 目前报道的只有 IFNf, 该类群似乎分化较早, 迄今为止只在鲑鳟鱼类和鳗鲡中被报道, 是与软骨鱼的 I 型 IFNs 最接近的类群^[37, 50-51]; 类群 IV (group IV) 包含 IFNb, 最初 IFNb 和 IFNc 因含有四个半胱氨酸被划分到类群 II, 但近期在研究乌鳢 (*Channa argus*) I 型 IFNs 时, 发现 IFNb 和 IFNc 在系统发育树中形成姊妹群, 则将 IFNb 形成的姊妹群单独命名为类群 IV。至此, 鱼类 I 型 IFNs 根据进化关系可分为 4 个类群^[34]。

如表 1 所示, I 型 IFNs 在不同种类的鱼类中存在不同的拷贝数和组成差异。鲑鳟类, 如虹鳟似乎具有最复杂多样的 I 型 IFNs 组成, 包含有除 IFNh 和 IFNi 以外的所有其他 6 个亚群的 IFN, 即 IFNa - f^[52], 而在斑马鱼、鲤、翘嘴鲃等鲤科鱼类中的 I 型 IFNs 亚群组成为 IFNa、IFNc 和 IFNd^[26, 28-29]。在棘鳍总目 (Acanthopterygii) 中发现存在 IFNc、IFNd 和 IFNh 三个亚群的 IFNs。例如, 鲈形目的鳊、大黄鱼和大西洋白姑鱼^[33, 49, 53], 鲽形目的牙鲆和大菱鲆中均存在上述三个 I 型 IFNs^[54-55]。达氏鲟、中华鲟和雀鳢中 I 型 IFNs 的类群 I 中只有 IFNe 单一类型^[50, 56]。然而, 目前还不清楚不同鱼类中一些 IFN 亚群缺失和扩增的原因, 现有的证据至少表明 I 型 IFNs 可能在硬骨鱼类的不同种类中经历了独立的演化事件^[9, 34, 50-51]。此外, 研究结果显示, 与 IFN 配体相互作用的一套完整的 IFN 受体也存在于软骨鱼——米氏叶吻银鲛 (*Callorhynchus milii*)^[9]。

1.3 鱼类 I 型 IFNs 的受体和信号传导

哺乳动物所有 I 型 IFNs 都共用一套受体, IFNAR1 和 IFNAR2, 它们均属于 II 型细胞因子受体家族^[8]。鱼类的 IFN 受体属于细胞因子受体家族 B (cytokine receptor family B, CRFB) 的成员, 而鱼类中已发现的 CRFB 成员至少有 17 个^[25, 57-58]。

表 1 I 型 IFNs 在不同种类鱼类中的组成差异

Tab. 1 Composition of type I IFNs in different fish species

目 Order	物种名 species name	IFNa	IFNb	IFNc	IFNd	IFNe	IFNf	IFNh	IFNi
鲑形目 Salmoniformes	虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	√	√	√	√	√	√	×	×
鲤形目 Cypriniformes	斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	√	×	√	√	×	×	×	×
	鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	√	×	√	√	×	×	×	×
	翘嘴鲌 <i>Culter alburnus</i>	√	×	√	√	×	×	×	×
鲈形目 Perciformes	鳊 <i>Siniperca chuatsi</i>	×	×	√	√	×	×	√	×
	大黄鱼 <i>Larimichthys crocea</i>	×	×	√	√	×	×	√	√
	大西洋白姑鱼 <i>Argyrosomus regius</i>	×	×	√	√	×	×	√	×
鲱形目 Pleuronectiformes	牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	×	×	√	√	×	×	√	×
	大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i>	×	×	√	√	×	×	√	×
鲟形目 Acipenseriformes	达氏鲟 <i>Acipenser dabryanus</i>	×	×	×	×	√	×	×	×
	中华鲟 <i>Acipenser sinensis</i>	×	×	×	×	√	×	×	×
雀鳝目 Lepisosteiformes	雀鳝 <i>Lepisosteus platystomus</i>	×	×	×	×	√	×	×	×

注：“√”表示含有；“×”表示无。

Notes: “√” indicates present; “×” indicates absent.

从系统发育分析看, 鱼类 CRFB1 ~ 3 均与哺乳动物 IFNAR2 同源。有趣的是, 并非所有硬骨鱼类都具有 CRFB3; CRFB5 与哺乳动物 IFNAR1 同源^[28], 其在大部分鱼类中只有一个拷贝, 而在大西洋鲑中有 4 个拷贝^[59]。在斑马鱼的研究中, 研究人员通过功能缺失和获得的技术方法, 发现 I 型 IFNs 中的类群 I 通过结合 CRFB1 和 CRFB5 发挥抗病毒功能, 而类群 II 通过 CRFB2 和 CRFB5 发挥抗病毒功能^[60]。

目前的研究显示, 硬骨鱼类不同类群的 I 型 IFNs 似乎选择性结合不同的受体复合物。我国学者在一些鱼类的 I 型 IFNs 的受体组成方面也取得了良好的研究成果^[61-63]。利用 IFN 及其受体的物种特异性, 通过在不同细胞中共转染 I 型 IFNs 配体和受体的方法对鳊 I 型 IFNs 的三个成员 IFNc、IFNd 和 IFNh 的受体组成进行分析。结果表明, 鳊 I 型 IFNs 中的 IFNc(类群 II) 更倾向于通过 CRFB2 和 CRFB5 传递信号, 而 IFNh 和 IFNd(类群 I) 则更倾向于通过 CRFB1 和 CRFB5 发挥抗病毒功能, 虽然这三个 I 型 IFNs 也可以通过另一个 I 型干扰素受体组合诱导 ISGs 的表达^[33]。相似的

I 型 IFNs 配受体组成也在罗非鱼、草鱼的研究中得到验证^[61-62, 64]。近年来, 通过解析大黄鱼的新亚类 IFNi 的晶体结构, 发现其可以通过 CRFB2 和 CRFB5 进行信号传导, 且与 CRFB5 的结合能力高于与 CRFB2 的结合能力^[36]。此外, 我国学者通过解析晶体结构发现, 草鱼 IFNa 可分别与 CRFB1、CRFB2 和 CRFB5 结合形成异二聚体复合物^[64], 随后又有学者通过特异性的抗体阻断实验发现草鱼 IFNa(原文中称为 IFN1) 可通过 CRFB1/CRFB2/CRFB5 受体激活 STAT1 信号, 促进血小板对细菌的吞噬作用^[4]。

此外, 硬骨鱼类中同一类群的 I 型 IFNs 的不同亚类对 CRFB5 的利用也存在异构体的差异。在一种古老原始淡水鱼类, 亚洲龙鱼 (*Scleropages formosus*) 的研究中发现, 其 I 型 IFNs 有四个成员: IFNa1、IFNa2、IFNb 和 IFNc, 其中 IFNa1 和 IFNa2 属于类群 I, 它们均利用 CRFB1/CRFB5b 受体复合物; 而 IFNb 和 IFNc 属于类群 II, 它们则分别利用 CRFB2/CRFB5a 和 CRFB2/CRFB5b^[65]。与复杂的 I 型 IFNs 组成相一致, 大西洋鲑的 I 型 IFNs 受体 CRFB1 和 CRFB5 也因为全基因组复制

事件出现了扩张, 具有 2 个 CRFB1(CRFB1a 和 CRFB1b) 和 4 个 CRFB5(CRFB5a、CRFB5b、CRFB5c 和 CRFB5x), IFNa、IFNc 和 IFNb 分别利用不同的受体复合物, CRFB1a/CRFB5a/CRFB5b/CRFB5c、CRFB2/CRFB5a/CRFB5c 以及 CRFB2/CRFB5x^[59]。

与哺乳动物相似, 鱼类 I 型 IFNs 的信号传导主要依赖于保守的 JAK/STAT 途径^[28]。鱼类中已经报道的 JAK 激酶有四种: JAK1、JAK2、JAK3 和 Tyk2, 它们能激活转录调节因子 STAT^[66]。迄今为止, 鱼类中已经报道 8 个 STAT 分子, 包括 STAT1a、STAT1b、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b、STAT6^[67]。已有的研究证实, 鱼类 STAT1 基因参与调控 I 型 IFNs 信号通路, 并可被 IFN- γ 诱导表达^[68]。青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 中也存在 STAT1a 和 STAT1b, 在病毒和 IFN 诱导后两者转录表达均可被上调, 而 STAT1b 的上调表达程度要高于 STAT1a。此外, 两者可分别以同源二聚体或者异源二聚体的形式发挥抗病毒功能^[69]。点带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) STAT2 通过上调宿主 I 型 IFNs 和 ISGs 的表达抵抗点带石斑鱼神经坏死病毒 (red-spotted grouper nervous necrosis virus, RGNNV) 的感染^[70]。此外, 大西洋鲑中存在 2 个序列相似性很高的 STAT2 同源基因, 即 STAT2a 和 STAT2b, 两者均参与了大西洋鲑 IFNa 和 IFN- γ 诱导的信号转导过程^[71]。

1.4 鱼类 I 型 IFNs 的功能

与哺乳动物类似, 鱼类 I 型 IFNs 也通过诱导具有抗病毒活性的 ISGs 的表达, 促使宿主建立抗病毒状态^[72]。现有的研究证实, 鱼类的一些 ISGs 具有直接的抗病毒作用, 如 Mx、Viperin、ISG15、PKR 和 PKZ 等^[73-76]。真核或原核重组表达的 IFNa、IFNb 和 IFNc 蛋白均可有效激活宿主抗病毒基因的表达, 抵抗病毒感染^[48, 77]。用重组 IFNa、IFNb 或 IFNc 处理的鲑 TO 细胞, 可抑制传染性胰脏坏死病毒 (infectious pancreatic necrosis virus, IPNV) 和鲑甲病毒 (salmon α virus, SAV) 的复制, 增强细胞对病毒感染的抵抗力^[77-78]。但当病毒感染状态建立之后, 这些重组蛋白对细胞的保护作用则会丧失^[77]。有趣的是, 不同的 I 型 IFNs 在病毒感染中的作用似乎存在差异。目前的研究结果显示大部分鱼类的 IFNd 几乎没有抗病毒活性^[33]。斑马鱼的 IFN ϕ 2 和 IFN ϕ 3(均为 IFNc 亚群) 可引起

ISGs 的快速表达, 从而保护鱼类免受 SVCV 和 IHNV 的感染。相比之下, IFN ϕ 1(IFNa 亚群) 可诱导 ISGs 延迟高表达, 从而对不同的病毒 (SVCV、IHNV、SHRV、ISKNV 和 CHIKV) 感染提供有效的保护作用。然而 IFN ϕ 4(IFNd 亚群) 似乎没有显著的抗病毒作用^[79-80]。此外, 我国学者也研究了鱼类 I 型 IFN 糖基化对其抗病毒功能的影响, 发现青鱼 IFNb 的 N-糖基化位点突变后并不影响其抗病毒功能, 表明 N-连接的糖基化对 IFNb 抗病毒功能的实现不是必需的^[32]。

鲑鳟鱼类 I 型 IFNs 不同亚群之间的抗病毒作用也存在很大差异。体外实验证实, 大西洋鲑 IFNa、IFNb 和 IFNc 均可增强大西洋鲑肾脏细胞 (Atlantic salmon kidney cells, ASK) 对 SAV3 感染的抵抗作用, 而体内实验结果显示 IFNa 发挥局部的抗 SAV3 感染作用, IFNb 和 IFNc 则可发挥系统性的保护作用^[81]。大西洋鲑的 IFNa 和 IFNc 对 IPNV 和 SAV 具有很强的抗病毒活性, 但只有 IFNa 能保护鱼类细胞免受 ISAV 的感染。相比而言, IFNb 在体外诱导细胞产生抗病毒活性的能力要弱于 IFNa 和 IFNc^[82]。鲈形目 IFNh、IFNc 和 IFNd 的抗病毒活性也在多种鲈形目鱼类有报道, 鳊和大黄鱼的 IFNc 和 IFNh 可引起 ISGs 的强烈表达, 从而保护鱼类细胞免受病毒感染^[33, 83]。而 IFNd 的抗病毒活性似乎在不同的鲈形目鱼类中存在差异, 如鳊的 IFNd 与鲤科鱼类以及鲑鳟鱼类的 IFNd 相似, 不能诱导 STAT1 磷酸化以及 ISGs 的上调表达, 也不能保护细胞免受病毒感染^[33], 而大黄鱼 IFNd 则可诱导 ISGs 表达, 具有抗病毒活性^[6, 35]。

除此之外, 我国学者也对包括斑马鱼、鲤、草鱼、青鱼、金鱼 (*C. auratus auratus*)、鲫、日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)、中华鲟、石斑鱼等多种鱼类 I 型 IFNs 的 ISGs 诱导活性和抗病毒活性进行了研究^[30-31, 81, 84-88]。

除抗病毒功能以外, 哺乳动物中的研究显示 I 型 IFNs 在抵抗细菌感染中也发挥着复杂的作用^[89]。研究表明鱼类的 I 型 IFNs 参与抗细菌感染的免疫反应。重组的草鱼 IFN ϕ 1 可以通过结合革兰氏阳性菌的肽聚糖和革兰氏阴性菌的脂多糖, 而直接杀死细菌^[3]。除此之外, 草鱼 IFNa 还可通过激活 IFN-IFN 受体-JAK/STAT-C3.3-CR1 通路而发挥抗菌功能^[4]。大黄鱼的 IFNd 和 IFNh 可以被溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)、副溶血性弧菌 (*V.*

parahaemolyticus) 和嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 混合菌显著诱导表达^[83]。斑马鱼的 IFN ϕ 1 能保护鱼类免受细菌感染^[79]。综上所述, 鱼类的 I 型 IFNs 可通过直接和间接的方式在抗细菌感染免疫中也发挥重要的作用。

特别值得关注的是, 近几年我国学者通过解析鱼类 IFN 的晶体结构来探究 IFN 的功能及其与受体结合的结构基础方面也取得了突出的成绩。对草鱼 IFN α 晶体结构的解析, 发现其具有典型的直螺旋 F, 由 6 个螺旋组成, IFN α 可与 CRFB1、CRFB2 和 CRFB5 结合, 这三种受体可形成异二聚体复合物, 提示鱼类 I 型 IFNs 虽然在结构域上与哺乳动物的保守, 但是在与受体相互作用的方式方面可能存在差异^[64]。对大黄鱼 I 型 IFN α 晶体结构的解析, 则首次发现了具有 6 个半胱氨酸, 形成具有三对二硫键独特结构的 I 型 IFN^[36], 进一步揭示了鱼类 I 型干扰素系统的组成与结构多样性, 为其功能研究提供了结构基础。

2 II 型干扰素

2.1 鱼类 II 型 IFNs 的组成及基因结构

在哺乳动物中, II 型 IFNs 只有一个基因编码, 即 IFN- γ , 该基因含有 4 个外显子和 3 个内含子。而鱼类由于全基因组复制以及 IFN- γ 基因座的串联复制, 其 II 型 IFNs 组成出现扩增现象, 有两个成员, 分别是 IFN- γ 和 IFN- γ rel^[90]。已知的硬骨鱼类 II 型 IFNs 基因座是高度保守的, IFN- γ rel 基因位于 IFN- γ 基因的上游, 且两者均由 4 个外显子和 3 个内含子组成^[91]。

1998 年, Chinchar 等^[92] 从斑点叉尾鲷中检测到鱼类的 II 型 IFN, IFN- γ 蛋白, 发现其性质类似于哺乳动物的 II 型 IFN。而鱼类中 IFN- γ 基因序列最早是在红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 中通过基因共线性的方法被克隆鉴定^[93]。红鳍东方鲀 IFN- γ 基因座中还包括 IL-22 和 IL-26 两个基因。随后, 在斑马鱼基因组中发现了与 IFN- γ 相邻的另外一个基因, 即 IFN- γ 相关因子 (IFN- γ related molecule, IFN- γ rel, 发表时曾被命名为 IFN- γ 1)。目前, IFN- γ 已经在多种鱼类中被报道, 包括大西洋鳕 (*Gadus morhua*)、大西洋鲑、鲤、金鱼、虹鳟、鲃 (*Silurus asotus*)、大黄鱼、鳊、牙鲮、黄鳍棘鲷 (*Acanthopagrus latus*) 等^[94-105]。在一些鲤科鱼类和鲑鳟鱼类中, 由于第四次全基因组复制事件,

其 IFN- γ 和 IFN- γ rel 都出现了多个拷贝^[24, 97-98, 106-107]。近期的研究发现, 巨骨舌鱼 (*Arapaima gigas*) 的 II 型 IFNs 及其受体基因座也发生了复制, 导致其具有三个 II 型 IFNs, 分别是 IFN- γ 、IFN- γ like 以及 IFN- γ rel^[108]。

2.2 鱼类 II 型 IFNs 的受体和信号传导

哺乳动物 IFN- γ 的受体由 IFN- γ R1 和 IFN- γ R2 组成, 分布于几乎所有的细胞表面, 其中 IFN- γ R1 行使与配体结合的功能, 而 IFN- γ R2 则负责信号传导^[8]。IFN- γ 受体胞内部分具有保守的磷酸化位点, 其中 IFN- γ R1 的磷酸化位点靶向 JAK1, 而 IFN- γ R2 的磷酸化位点靶向 JAK2^[109]。哺乳动物中, IFN- γ R1 和 IFN- γ R2 都是以单拷贝形式存在, 而在硬骨鱼类中 IFN- γ R1 具有两个同源基因, 即 IFN- γ R1-1 和 IFN- γ R1-2, 也被称为 CRFB17 和 CRFB13^[57, 95, 110-112]。硬骨鱼类 CRFB6 则与哺乳动物 IFN- γ R2 同源, 具有较短的胞内区序列, 含有 JAK2 结合位点^[28]。IFN- γ R2 在四足动物和鱼类中一直被认为仅有一个拷贝, 但近期的研究发现巨骨舌鱼的 IFN- γ R2 也存在两个拷贝, 被命名为 IFN- γ R2-1 和 IFN- γ R2-2, 两者分别被不同的 IFN- γ 所利用, 其中 IFN- γ R2-1 与 IFN- γ R1-1 是 IFN- γ like 的受体, 而 IFN- γ R1-2 和 IFN- γ R2-2 是 IFN- γ 的受体^[108]。鱼类 II 型 IFN 受体胞内区功能的研究结果显示, CRFB17(IFN- γ R1-1) 和 CRFB13 (IFN- γ R1-2) 的胞内区存在保守的 STAT1 结合位点^[95, 108]。已有的研究证实, 斑马鱼和草鱼的 IFN- γ rel 不与 CRFB6 结合。此外, 鳊和巨骨舌鱼的 IFN- γ rel 在 CRFB17 存在的条件下即可诱导下游基因表达, 发挥其免疫功能^[57, 95, 108, 113]。因此, 硬骨鱼类 IFN- γ rel 可通过 II 型干扰素受体 CRFB17 发挥功能。但是, IFN- γ rel 的信号传导中 CRFB17 是否与自身形成同源二聚或多聚体, 还是与其他亚基配对形成异源二聚体, 都值得进一步探索。

2.3 鱼类 II 型 IFNs 的功能

哺乳动物的 IFN- γ 通常被认为是先天性和适应性免疫的调节性细胞因子, 主要对细胞内感染产生免疫作用。IFN- γ 和 IFN- γ rel 的生物学功能已经在一些鱼类中进行了初步的研究, 包括斑马鱼、金鱼、鲫、大西洋鲑以及巨骨舌鱼等^[101, 106, 108, 114-115]。与哺乳动物的 IFN- γ 类似, 虹鳟和金鱼 IFN- γ 可增强巨噬细胞的呼吸爆发和一氧化氮 (nitric oxide,

NO)产生,促进巨噬细胞对细菌的吞噬作用,且IFN- γ C末端保守的正电荷氨基酸残基基序对其活性必不可少^[96,116]。将草鱼的IFN- γ 装载在羧甲基壳聚糖纳米颗粒上可显著提高草鱼抗细菌感染的能力^[117]。此外,我国学者近期发现草鱼IFN- γ 也参与调控杀鱼爱德华氏菌(*Edwardsiella piscicida*)与NOD1或自噬体的相互作用,从而增强细胞清除细菌的能力^[118]。

有趣的是,与I型IFNs类似,鱼类的IFN- γ 也具有显著的抗病毒活性。鳊IFN- γ 不仅可强烈激活Mx、IFP35和Nmi等ISGs的启动子,而且在细胞中过表达后也表现出强烈的抗病毒活性^[95,119-121]。日本花鲈(*Lateolabrax japonicus*)IFN- γ 也能显著增强细胞抗石斑鱼神经坏死病毒感染的作用,同时能调控MHC II分子的表达^[122]。大西洋鲑IFN- γ 能显著抑制IPNV和SAV3感染,且其抗病毒活性部分依赖于I型IFN^[101]。鲫IFN- γ 和IFN- γ rel的原核重组蛋白均具有强烈的抵抗鲫造血坏死病毒(crucian carp hematopoietic necrosis virus, CHNV)感染的作用^[103,123]。

除此之外,斑马鱼IFN- γ 信号参与保守的IFN- γ -IRF1-CIITA-MHC II信号级联通路,从而参与鱼类早期适应性免疫中的抗原提呈过程^[124]。在几种不同的鱼类中,已报道IFN- γ 作为疫苗佐剂的潜在应用价值。牙鲆IFN- γ 作为疫苗佐剂可提高鱼体对爱德华氏菌外膜蛋白OmpV引起的免疫反应^[103]。虹鳟IFN- γ 可增强DNA疫苗早期特异性IgM反应,增强CpG对虹鳟IHNV诱导的死亡的保护作用^[125]。近年来,我国学者在硬骨鱼类IFN- γ 对Th1细胞的调控作用方面也取得了良好的成绩,在罗非鱼中鉴定了CD3⁺CD4-1⁺IFN- γ ⁺的Th1细胞,发现Th1细胞及其产生的IFN- γ 在罗非鱼巨噬细胞活化和抵抗细菌感染中的作用^[126]。

然而,IFN- γ rel作为硬骨鱼类特有的基因,它的抗菌和抗病毒功能与IFN- γ 存在一些差异,同时其在不同物种或细胞中也表现出一定程度的功能差异。暗绿鲩IFN- γ 可显著诱导Mx的表达,而IFN- γ rel则抑制其表达,且IFN- γ rel在细菌感染时能以更快的速度更大程度地促进宿主炎症反应的发生,而IFN- γ 在细菌感染后期诱导宿主产生有效的抗菌免疫反应^[127]。金鱼IFN- γ rel可以诱导iNOS表达和NO产生并诱导显著的吞噬作用^[116]。相反,鲤的重组IFN- γ rel不能诱导吞噬细胞产生iNOS^[128]。斑马鱼的IFN- γ rel可以激活胚

胎中ISGs的表达,但不能激活ISGs在EPC细胞中的表达^[68]。许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)IFN- γ 可增强巨噬细胞呼吸爆发活性和NO反应来调控免疫反应,同时可上调促炎因子以及抗病毒基因表达^[129]。

最近,对草鱼IFN- γ rel晶体结构的解析,发现了其独特的拓扑结构,可形成由两对二硫键连接的同源二聚体,提示草鱼IFN- γ rel在进化过程中可能出现了特有的功能,与IFN- γ 相关的细胞因子功能部分被保留,IFN- γ rel能上调促炎基因的表达,但已经丧失了激活参与Th1反应的功能^[113]。基于上述在多种鱼类中关于IFN- γ rel的研究结果,目前普遍认为鱼类IFN- γ rel在功能上存在亚功能化或者起到辅助IFN- γ 功能的作用。而IFN- γ rel的功能机制有待深入阐明。

3 III型干扰素

III型干扰素,即IFN- λ ,亦曾被称为IL-28/29。III型干扰素及其受体在两栖类、鸟类、哺乳类中均有报道^[39,130-132]。III型IFNs家族包含多个成员,目前发现的有功能的基因拷贝有IFN- λ 1、IFN- λ 2、IFN- λ 3和IFN- λ 4,其表达调控模式与I型IFNs相似^[133-134]。III型IFNs的受体属于II型细胞因子受体家族,包括两条受体链:IFN- λ R1(也称IL28R α 或LICR2)和IL10RB(亦称为IL10R2)。IFN- λ R1的胞外区由两个串联的纤连蛋白III型结构域(fibronectin type III, FNIII)组成,主要与IFN- λ 进行特异性结合^[135]。IL10RB则与JAK/STAT通路蛋白结合,负责信号传导,此外,它还是IL-10家族细胞因子共用受体。III型IFNs的信号通路与I型IFNs的很相似^[11]。除了抗病毒作用外,IFN- λ 还具有抗细胞增殖、抗肿瘤,参与抗原加工提呈以及免疫调节作用等多种生物学功能^[136]。诱导性表达方面,III型IFNs在很多类型的细胞中均可被诱导产生,在甲型流感病毒(influenza a virus, IAV)感染时,IFN- λ 在浆细胞样树突状细胞中的产生量要比在单核细胞来源的树突状细胞中的产生量多^[137]。

对于早期在鱼类中报道的IFN,曾存在关于其究竟是哺乳动物的I型或III型IFNs中的哪种具有相同的系统发育关系的争议。由于在斑马鱼等鱼类中最初鉴定的IFNs含有四个内含子,这与哺乳动物III型IFNs中的情况相似,而哺乳动

物的 I 型 IFNs 则是无内含子的。因此, 有学者认为这些鱼类的 I 型 IFNs 是哺乳动物 III 型 IFNs 的同源物^[25, 47]。然而, 后续的研究发现两栖动物的 I 型和 III 型 IFNs 基因都存在这种内含子的结构^[39], 而且斑马鱼 IFN 的晶体结构解析显示出 I 型 IFNs 典型的 F 螺旋结构, 而非 III 型 IFNs 的弯曲螺旋结构, 从而证实硬骨鱼类中所报道的 IFN 是与哺乳动物的 I 型 IFNs 同源^[138-139], 而非 III 型 IFNs^[28]。2020 年, 我国学者在综述论文中描述了软骨鱼类中的 III 型干扰素受体亚基^[28], 英国学者从软骨鱼类米氏叶吻银鲛中鉴定到了 IFN- λ , 该研究结果否定了 IFN- λ 是由四足动物祖先中的 I 型 IFNs 复制而来的假说^[9]。

4 IV 型干扰素

在 2022 年以前, 学术界普遍认为 IFN 只有三种类型, 而最近我国学者在斑马鱼 24 号染色体上发现了与斑马鱼中已知所有 IFN 基因具有较低一致性 (5.5% ~ 17.0%) 的新 IFN 基因, 并将其命名为 IFN- ν , 即 IV 型 IFN, 且这种类型的 IFN 存在于从鱼类到原始哺乳动物的脊椎动物类群中^[6]。脊椎动物的 IFN 类型也由原来的三种类型增加到四种类型, 这一发现刷新了我们对脊椎动物 IFN 系统复杂性的认识, 为 IFN 的研究开拓了全新的方向^[6-7]。

与其他三种类型 IFNs 不同, IFN- ν 及其受体 IFN- ν R1 分别位于独特且高度保守的基因座上, 且在系统发育树上分别与 II 型细胞因子及 II 型细胞因子受体聚在一起。IFN- ν 含有多个外显子, 多序列比对结果发现, IFN- ν 的氨基酸序列的 N 端具有一段保守的基序 [CXXXXX(W/L)]。通过基因过表达、体内基因敲除和敲降实验, 发现 IFN- ν 具有诱导 ISGs 表达和抗病毒功能。通过在斑马鱼体内进行受体敲除和敲降实验, 发现 IFN- ν 的受体复合物由 CRFB12(即 IFN- ν R1) 和 CRFB4 (IL10R2) 构成。IFN- ν R1 受体具有保守的激活 JAK-STAT 通路的位点以及相同的内含子相位 (1-2-1-0-1-0)^[6-7]。Chen 等^[14] 以两栖动物的模式生物为对象, 对 IV 型 IFNs 的转录、信号传导和功能方面进行了研究, 发现 IFN- ν 启动子元件与 III 型 IFNs 非常相似, 存在可被 IRF1、IRF3、IRF7 和 p65 转录激活的 ISRE 和 NF- κ B 位点。并且 IFN- ν 通过激活 ISGF3 转录复合物, 诱导大约 400 个

ISGs 基因表达, 其中大约 268 个 ISGs 基因与人类或斑马鱼的 ISGs 无关, 它们可能是两栖类特有的 ISGs。近期, 在青鱼中也鉴定到了 IFN- ν , 发现其可通过诱导 ISGs 的表达并增强细胞的抗病毒作用^[15]。有关 IV 型 IFN 的功能, 是一个值得进一步探究的重要方向。

5 总结和展望

干扰素作为一类高效广谱的非特异性免疫因子, 在鱼类抵抗病毒和细菌感染免疫中发挥着重要作用。近年来, 我国学者在鱼类干扰素系统的研究中做出了很大贡献, 不仅克隆鉴定了多种鱼类中的干扰素基因, 对其结构、功能和信号传导进行了深入研究, 而且鉴定了 IV 型干扰素, 丰富了脊椎动物的干扰素系统, 所取得的研究结果对鱼类抗病毒药物的研发具有重要的理论指导意义。

虽然, 在鱼类 IFN 系统的研究中取得了突出的成绩, 但是与哺乳动物干扰素功能的认识还存在差距。鱼类 IFN 诱导产生抗病毒作用的 ISGs 的筛选以及作用机制的解析等内容还存在很多未知。由于 IV 型 IFN 是一个近期才发现的 IFN, 其在不同鱼类中的鉴定、信号通路以及功能等内容也是今后研究的重点。此外, 关于鱼类中 I 型 IFNs 诱导的天然免疫反应如何有效地协调适应性免疫、I 型 IFNs 在这个过程中的作用机制、II 型 IFNs 的表达调控及其免疫调节功能等内容, 都是鱼类免疫学工作者面临的挑战。总而言之, 鱼类 IFN 的研究对于鱼类免疫学家来说任重道远, 鱼类 IFN 系统的深入研究将为鱼类抗病毒抗细菌药物的开发、DNA 疫苗研制和抗病育种等奠定基础, 同时对鱼类 IFN 作用机理的研究也将从进化角度为人类等高等脊椎动物 IFN 的研究和应用提供思路。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Li D Y, Wu M H. Pattern recognition receptors in health and diseases[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 291.
- [2] Schoggins J W, Wilson S J, Panis M, et al. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response[J]. *Nature*, 2011, 472(7344): 481-485.

- [3] Xiao X, Zhu W T, Zhang Y Q, *et al.* Broad-spectrum robust direct bactericidal activity of fish IFN ϕ 1 reveals an antimicrobial peptide-like function for type I IFNs in vertebrates[J]. *The Journal of Immunology*, 2021, 206(6): 1337-1347.
- [4] Zhu W T, Zhang Y Q, Liao Z W, *et al.* IFN1 enhances thrombocyte phagocytosis through IFN receptor complex-JAK/STAT-complement C3.3-CR1 pathway and facilitates antibacterial immune regulation in teleost[J]. *The Journal of Immunology*, 2023, 210(8): 1043-1058.
- [5] Qiao X, Wang L L, Song L S. The primitive interferon-like system and its antiviral function in molluscs[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 118: 103997.
- [6] Chen S N, Gan Z, Hou J, *et al.* Identification and establishment of type IV interferon and the characterization of interferon- ν including its class II cytokine receptors IFN- ν R1 and IL-10R2[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 999.
- [7] Su J G. The discovery of type IV interferon system revolutionizes interferon family and opens up a new frontier in jawed vertebrate immune defense[J]. *Science China Life Sciences*, 2022, 65(11): 2335-2337.
- [8] Pestka S, Krause C D, Walter M R. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors[J]. *Immunological Reviews*, 2004, 202(1): 8-32.
- [9] Redmond A K, Zou J, Secombes C J, *et al.* Discovery of all three types in cartilaginous fishes enables phylogenetic resolution of the origins and evolution of Interferons[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1558.
- [10] Schoggins J W, Rice C M. Interferon-stimulated genes and their antiviral effector functions[J]. *Current Opinion in Virology*, 2011, 1(6): 519-525.
- [11] Lazear H M, Nice T J, Diamond M S. Interferon- λ : immune functions at barrier surfaces and beyond[J]. *Immunity*, 2015, 43(1): 15-28.
- [12] Teijaro J R. Type I interferons in viral control and immune regulation[J]. *Current Opinion in Virology*, 2016, 16: 31-40.
- [13] Schoenborn J R, Wilson C B. Regulation of interferon- γ during innate and adaptive immune responses[J]. *Advances in Immunology*, 2007, 96: 41-101.
- [14] Chen S N, Li B, Gan Z, *et al.* Transcriptional regulation and signaling of type IV IFN with identification of the ISG repertoire in an amphibian model, *Xenopus laevis*[J]. *The Journal of Immunology*, 2023, 210(11): 1771-1789.
- [15] Chen L, Liu J, Yan J, *et al.* Cloning and characterization of type IV interferon from black carp *Mylopharyngodon piceus*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2023, 140: 104614.
- [16] Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1957, 147(927): 258-267.
- [17] Pestka S. The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(28): 20047-20051.
- [18] Detournay O, Morrison D A, Wagner B, *et al.* Genomic analysis and mRNA expression of equine type I interferon genes[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2013, 33(12): 746-759.
- [19] Sen G C. Viruses and interferons[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, 55: 255-281.
- [20] Haller O, Kochs G. Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity[J]. *Traffic*, 2002, 3(10): 710-717.
- [21] Stark G R, Kerr I M, Williams B R G, *et al.* How cells respond to interferons[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1998, 67: 227-264.
- [22] Biron C A, Nguyen K B, Pien G C, *et al.* Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines[J]. *Annual Review of Immunology*, 1999, 17: 189-220.
- [23] Altmann S M, Mellon M T, Distel D L, *et al.* Molecular and functional analysis of an interferon gene from the zebrafish, *Danio rerio*[J]. *Journal of Virology*, 2003, 77(3): 1992-2002.
- [24] Robertsen B, Bergan V, Røkenes T, *et al.* Atlantic salmon interferon genes: cloning, sequence analysis, expression, and biological activity[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2003, 23(10): 601-612.
- [25] Lutfalla G, Crollius H R, Stange-Thomann N, *et al.* Comparative genomic analysis reveals independent expansion of a lineage-specific gene family in vertebrates: the class II cytokine receptors and their ligands in mammals and fish[J]. *BMC Genomics*, 2003, 4(1): 29.
- [26] Li B, Chen S N, Ren L, *et al.* Identification of type I

- IFNs and their receptors in a cyprinid fish, the top-mouth culter *Culter alburnus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 102: 326-335.
- [27] Chang M X, Nie P, Collet B, *et al.* Identification of an additional two-cysteine containing type I interferon in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* provides evidence of a major gene duplication event within this gene family in teleosts[J]. *Immunogenetics*, 2009, 61(4): 315-325.
- [28] Gan Z, Chen S N, Huang B, *et al.* Fish type I and type II interferons: composition, receptor usage, production and function[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(2): 773-804.
- [29] Li D M, Tan W L, Ma M S, *et al.* Molecular characterization and transcription regulation analysis of type I IFN gene in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Gene*, 2012, 504(1): 31-40.
- [30] Xia S Y, Wang H, Hong X P, *et al.* Identification and characterization of a type I interferon induced by cyprinid herpesvirus 2 infection in crucian carp *Carassius auratus gibelio*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 76: 35-40.
- [31] Huang Z L, Chen S, Liu J C, *et al.* IFN α of black carp is an antiviral cytokine modified with N-linked glycosylation[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 46(2): 477-485.
- [32] Wu H, Liu L Q, Wu S Z, *et al.* IFN β of black carp functions importantly in host innate immune response as an antiviral cytokine[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 74: 1-9.
- [33] Laghari Z A, Chen S N, Li L, *et al.* Functional, signalling and transcriptional differences of three distinct type I IFNs in a perciform fish, the mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 84: 94-108.
- [34] Liu L H, Nie P, Wang S, *et al.* Identification of type I and type II IFNs in a perciform fish, the snakehead *Channa argus*[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 20: 100749.
- [35] Ding Y, Ao J Q, Huang X H, *et al.* Identification of two subgroups of type I IFNs in perciform fish large yellow croaker *Larimichthys crocea* provides novel insights into function and regulation of fish type I IFNs[J]. *Frontiers in Immunology*, 2016, 7: 343.
- [36] Chen J J, Guan Y Y, Guan H X, *et al.* Molecular and structural basis of receptor binding and signaling of a fish type I IFN with three disulfide bonds[J]. *The Journal of Immunology*, 2022, 209(4): 806-819.
- [37] Zou J, Secombes C J. Teleost fish interferons and their role in immunity[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(12): 1376-1387.
- [38] Boudinot P, Langevin C, Secombes C J, *et al.* The peculiar characteristics of fish type I interferons[J]. *Viruses*, 2016, 8(11): 298.
- [39] Qi Z T, Nie P, Secombes C J, *et al.* Intron-containing type I and type III IFN coexist in amphibians: refuting the concept that a retroposition event gave rise to type I IFNs[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 184(9): 5038-5046.
- [40] Gan Z, Yang Y C, Chen S N, *et al.* Unique composition of intronless and intron-containing type I IFNs in the tibetan frog *Nanorana parkeri* provides new evidence to support independent retroposition hypothesis for type I IFN genes in amphibians[J]. *The Journal of Immunology*, 2018, 201(11): 3329-3342.
- [41] Gan Z, Chen S N, Huang B, *et al.* Intronless and intron-containing type I IFN genes coexist in amphibian *Xenopus tropicalis*: insights into the origin and evolution of type I IFNs in vertebrates[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 67: 166-176.
- [42] 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.
- [43] Purcell M K, Laing K J, Woodson J C, *et al.* Characterization of the interferon genes in homozygous rainbow trout reveals two novel genes, alternate splicing and differential regulation of duplicated genes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2009, 26(2): 293-304.
- [44] Long S, Wilson M, Bengten E, *et al.* Identification of a cDNA encoding channel catfish interferon[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2004, 28(2): 97-111.
- [45] Long S, Milev-Milovanovic I, Wilson M, *et al.* Identification and expression analysis of cDNAs encoding channel catfish type I interferons[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 21(1): 42-59.
- [46] Chang M X, Zou J, Nie P, *et al.* Intracellular interfer-

- ons in fish: a unique means to combat viral infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(11): e1003736.
- [47] Levraud J P, Boudinot P, Colin I, *et al.* Identification of the zebrafish IFN receptor: implications for the origin of the vertebrate IFN system[J]. *The Journal of Immunology*, 2007, 178(7): 4385-4394.
- [48] Zou J, Tafalla C, Truckle J, *et al.* Identification of a second group of type I IFNs in fish sheds light on IFN evolution in vertebrates[J]. *The Journal of Immunology*, 2007, 179(6): 3859-3871.
- [49] Ding Y, Guan Y Y, Huang X H, *et al.* Characterization and function of a group II type I interferon in the perciform fish, large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 152-159.
- [50] Liu F G, Bols N C, Pham P H, *et al.* Evolution of IFN subgroups in bony fish - 1: Group I-III IFN exist in early ray-finned fish, with group II IFN subgroups present in the Holostean spotted gar, *Lepisosteus oculatus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 95: 163-170.
- [51] Liu F G, Wang T H, Petit J, *et al.* Evolution of IFN subgroups in bony fish - 2. Analysis of subgroup appearance and expansion in teleost fish with a focus on salmonids[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 98: 564-573.
- [52] Zou J, Gorgoglione B, Taylor N G, *et al.* Salmonids have an extraordinary complex type I IFN system: characterization of the IFN locus in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reveals two novel IFN subgroups[J]. *The Journal of Immunology*, 2014, 193(5): 2273-2286.
- [53] Milne D J, Campoverde C, Andree K B, *et al.* The discovery and comparative expression analysis of three distinct type I interferons in the perciform fish, meagre (*Argyrosomus regius*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 84: 123-132.
- [54] Hu Y W, Yoshikawa T, Chung S, *et al.* Identification of 2 novel type I IFN genes in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 67: 7-10.
- [55] Pereiro P, Costa M M, Díaz-Rosales P, *et al.* The first characterization of two type I interferons in turbot (*Scophthalmus maximus*) reveals their differential role, expression pattern and gene induction[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2014, 45(2): 233-244.
- [56] Xu Q Q, Luo K, Zhang S H, *et al.* Sequence analysis and characterization of type I interferon and type II interferon from the critically endangered sturgeon species, *A. dabryanus* and *A. sinensis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 390-403.
- [57] Aggad D, Stein C, Sieger D, *et al.* *In vivo* analysis of Ifn- γ 1 and Ifn- γ 2 signaling in zebrafish[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 185(11): 6774-6782.
- [58] Deng Y H, Li B, Chen S N, *et al.* Molecular characterization of nineteen cytokine receptor family B (CRFB) members, CRFB1, CRFB2, CRFB4-17, with three CRFB9 and two CRFB14 in a cyprinid fish, the blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2023, 145: 104725.
- [59] Sun B J, Greiner-Tollersrud L, Koop B F, *et al.* Atlantic salmon possesses two clusters of type I interferon receptor genes on different chromosomes, which allows for a larger repertoire of interferon receptors than in zebrafish and mammals[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2014, 47(2): 275-286.
- [60] Aggad D, Mazel M, Boudinot P, *et al.* The two groups of zebrafish virus-induced interferons signal via distinct receptors with specific and shared chains[J]. *The Journal of Immunology*, 2009, 183(6): 3924-3931.
- [61] Gan Z, Cheng J, Chen S N, *et al.* Identification and characterization of tilapia CRFB1, CRFB2 and CRFB5 reveals preferential receptor usage of three IFN subtypes in perciform fishes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 107: 194-201.
- [62] Chen H R, Liu W Q, Wang B H, *et al.* Cloning, identification of the two cytokine receptor family B subunits CRFB1 and CRFB5 from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 45(2): 211-220.
- [63] Xu Q Q, Deng D, Guo H Z, *et al.* Comprehensive comparison of thirteen kinds of cytokine receptors from the endangered fish Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 123: 104132.
- [64] Wang Z X, Xu J, Feng J H, *et al.* Structural and functional analyses of type I IFN shed light into its interac-

- tion with multiple receptors in fish[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 862764.
- [65] Wang S, Chen S N, Sun Z, *et al.* Four type I IFNs, IFN α 1, IFN α 2, IFN β , IFN γ , and their receptor usage in an osteoglossomorph fish, the Asian arowana, *Scleropages formosus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021, 117: 70-81.
- [66] Guo C J, Zhang Y F, Yang L S, *et al.* The JAK and STAT family members of the mandarin fish *Siniperca chuatsi*: molecular cloning, tissues distribution and immunobiological activity[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2009, 27(2): 349-359.
- [67] Stein C, Caccamo M, Laird G, *et al.* Conservation and divergence of gene families encoding components of innate immune response systems in zebrafish[J]. *Genome Biology*, 2007, 8(11): R251.
- [68] Ruan B Y, Chen S N, Hou J, *et al.* Two type II IFN members, IFN- γ and IFN- γ related (rel), regulate differentially IRF1 and IRF11 in zebrafish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 65: 103-110.
- [69] Wu H, Zhang Y Y, Lu X Y, *et al.* STAT1a and STAT1b of black carp play important roles in the innate immune defense against GCRV[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 87: 386-394.
- [70] Qin Y H, Liu H X, Zhang P P, *et al.* Molecular cloning, expression and functional analysis of STAT2 in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 131: 1245-1254.
- [71] Sobhkhez M, Skjesol A, Thomassen E, *et al.* Structural and functional characterization of salmon STAT1, STAT2 and IRF9 homologs sheds light on interferon signaling in teleosts[J]. *FEBS Open Bio*, 2014, 4(1): 858-871.
- [72] Xu C, Evensen Ø, Munang'andu H M. *De novo* assembly and transcriptome analysis of Atlantic salmon macrophage/dendritic-like TO cells following type I IFN treatment and salmonid alphavirus subtype-3 infection[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 96.
- [73] Larsen R, Røkenes T P, Robertsen B. Inhibition of infectious pancreatic necrosis virus replication by atlantic salmon Mx1 protein[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(15): 7938-7944.
- [74] Liu T K, Zhang Y B, Liu Y, *et al.* Cooperative roles of fish protein kinase containing Z-DNA binding domains and double-stranded RNA-dependent protein kinase in interferon-mediated antiviral response[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(23): 12769-12780.
- [75] Liu W, Xiang Y X, Zhang W W, *et al.* Expression pattern, antiviral role and regulation analysis of interferon-stimulated gene 15 in black seabream, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 82: 60-67.
- [76] Wang B, Zhang Y B, Liu T K, *et al.* Fish viperin exerts a conserved antiviral function through RLR-triggered IFN signaling pathway[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2014, 47(1): 140-149.
- [77] Xu C, Guo T C, Mutoloki S, *et al.* Alpha interferon and not gamma interferon inhibits salmonid alphavirus subtype 3 replication *in vitro*[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(17): 8903-8912.
- [78] Svingerud T, Solstad T, Sun B J, *et al.* Atlantic salmon type I IFN subtypes show differences in antiviral activity and cell-dependent expression: evidence for high IFN β /IFN γ -producing cells in fish lymphoid tissues[J]. *The Journal of Immunology*, 2012, 189(12): 5912-5923.
- [79] López-Muñoz A, Roca F J, Meseguer J, *et al.* New insights into the evolution of IFNs: zebrafish group II IFNs induce a rapid and transient expression of IFN-dependent genes and display powerful antiviral activities[J]. *The Journal of Immunology*, 2009, 182(6): 3440-3449.
- [80] Wang L, Wang L, Zhang H X, *et al.* *In vitro* effects of recombinant zebrafish IFN on spring viremia of carp virus and infectious hematopoietic necrosis virus[J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2006, 26(4): 256-259.
- [81] Chang C J, Jenssen I, Robertsen B. Protection of Atlantic salmon against salmonid alphavirus infection by type I interferons IFN α , IFN β and IFN γ [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 57: 35-40.
- [82] Robertsen B. The role of type I interferons in innate and adaptive immunity against viruses in Atlantic salmon[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 80: 41-52.
- [83] Ding Y, Guan Y Y, Ao J Q, *et al.* Induction of type I interferons in response to bacterial stimuli in large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 80: 41-52.

- Immunology, 2017, 62: 349-355.
- [84] Li Z S, Xu X P, Huang L C, *et al.* Administration of recombinant IFN1 protects zebrafish (*Danio rerio*) from ISKNV infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(3): 399-406.
- [85] Li D M, Lin G, Yu X J, *et al.* Immunoprotection of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) with recombinant interferon (rCiIFN) against GCHV infection[J]. *Aquaculture*, 2013, 388-391: 42-48.
- [86] Yan J, Peng L Z, Li Y, *et al.* IFNa of triploid hybrid of gold fish and allotetraploid is an antiviral cytokine against SVCV and GCRV[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 529-536.
- [87] Zhou Y Z, Jiang N, Fan Y D, *et al.* Identification, expression profiles and antiviral activities of a type I IFN from gibel carp *Carassius auratus gibelio*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 91: 78-86.
- [88] Kuo H P, Chung C L, Hung Y F, *et al.* Comparison of the responses of different recombinant fish type I interferons against betanodavirus infection in grouper[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 49: 143-153.
- [89] Boxx G M, Cheng G H. The roles of Type I interferon in bacterial infection[J]. *Cell Host & Microbe*, 2016, 19(6): 760-769.
- [90] Secombes C J, Zou J. Evolution of interferons and interferon receptors[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 209.
- [91] Pereiro P, Figueras A, Novoa B. Insights into teleost interferon-gamma biology: an update[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 90: 150-164.
- [92] Chinchar V G, Logue O, Antao A, *et al.* Channel catfish reovirus (CRV) inhibits replication of channel catfish herpesvirus (CCV) by two distinct mechanisms: viral interference and induction of an anti-viral factor[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1998, 33(2): 77-85.
- [93] Zou J, Yoshiura Y, Dijkstra J M, *et al.* Identification of an interferon gamma homologue in Fugu, *Takifugu rubripes*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2004, 17(4): 403-409.
- [94] Liang Y, Zhu K C, You Y Z, *et al.* Molecular characterization of TNF- β and IFN- γ in yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*, Hottuy, 1782) and their immune responses to density stress during transport[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2023, 147: 104747.
- [95] Li L, Chen S N, Laghari Z A, *et al.* Receptor complex and signalling pathway of the two type II IFNs, IFN- γ and IFN- γ rel in mandarin fish or the so-called Chinese perch *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2019, 97: 98-112.
- [96] Zou J, Carrington A, Collet B, *et al.* Identification and bioactivities of IFN- γ in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: the first Th1-type cytokine characterized functionally in fish[J]. *The Journal of Immunology*, 2005, 175(4): 2484-2494.
- [97] Milev-Milovanovic I, Long S, Wilson M, *et al.* Identification and expression analysis of interferon gamma genes in channel catfish[J]. *Immunogenetics*, 2006, 58(1): 70-80.
- [98] Stolte E H, Savelkoul H F J, Wiegertjes G, *et al.* Differential expression of two interferon- γ genes in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 32(12): 1467-1481.
- [99] Furnes C, Seppola M, Robertsen B. Molecular characterisation and expression analysis of interferon gamma in Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2009, 26(2): 285-292.
- [100] Grayfer L, Belosevic M. Molecular characterization, expression and functional analysis of goldfish (*Carassius auratus* L.) interferon gamma[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2009, 33(2): 235-246.
- [101] Sun B J, Skjaeveland I, Svingerud T, *et al.* Antiviral activity of salmonid gamma interferon against infectious pancreatic necrosis virus and salmonid alphavirus and its dependency on type I interferon[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(17): 9188-9198.
- [102] Yang S S, Li Q H, Mu Y N, *et al.* Functional activities of interferon gamma in large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 70: 545-552.
- [103] Wang H X, Guo M, Tang X Q, *et al.* Immune adjuvant effects of interferon-gamma (IFN- γ) of flounder (*Paralichthys olivaceus*) against *Edwardsiella tarda*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 123: 104159.
- [104] Chen R N, Su Y Q, Wang J, *et al.* Molecular character-

- ization and expression analysis of interferon-gamma in the large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 46(2): 596-602.
- [105] Chen W Q, Xu Q Q, Chang M X, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of the IFN-gamma related gene (IFN- γ rel) in grass carp *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2010, 134(3-4): 199-207.
- [106] Yabu T, Toda H, Shibasaki Y, *et al.* Antiviral protection mechanisms mediated by ginbuna crucian carp interferon gamma isoforms 1 and 2 through two distinct interferon gamma-receptors[J]. *The Journal of Biochemistry*, 2011, 150(6): 635-648.
- [107] Shibasaki Y, Yabu T, Araki K, *et al.* Peculiar monomeric interferon gammas, IFN γ rel 1 and IFN γ rel 2, in ginbuna crucian carp[J]. *FEBS Journal*, 2014, 281(4): 1046-1056.
- [108] Pang A N, Chen S N, Gan Z, *et al.* Identification of type II interferons and receptors in an osteoglossiform fish, the arapaima *Arapaima gigas*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2022, 139: 104589.
- [109] Schroder K, Hertzog P J, Ravasi T, *et al.* Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2004, 75(2): 163-189.
- [110] Grayfer L, Belosevic M. Molecular characterization of novel interferon gamma receptor 1 isoforms in zebrafish (*Danio rerio*) and goldfish (*Carassius auratus* L.) [J]. *Molecular Immunology*, 2009, 46(15): 3050-3059.
- [111] Zahradník J, Kolářová L, Pařízková H, *et al.* Interferons type II and their receptors R1 and R2 in fish species: Evolution, structure, and function[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 79: 140-152.
- [112] Gao Q, Nie P, Thompson K D, *et al.* The search for the IFN- γ receptor in fish: functional and expression analysis of putative binding and signalling chains in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2009, 33(8): 920-931.
- [113] Zhu X Z, Wang J Y, Jia Z, *et al.* Novel dimeric architecture of an IFN- γ -related cytokine provides insights into subfunctionalization of type II IFNs in teleost fish[J]. *The Journal of Immunology*, 2022, 209(11): 2203-2214.
- [114] Shibasaki Y, Hatanaka C, Matsuura Y, *et al.* Effects of IFN γ administration on allograft rejection in ginbuna crucian carp[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016, 62: 108-115.
- [115] Peng W, Sun Y, Li G F, *et al.* Two distinct interferon- γ in the orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*): molecular cloning, functional characterization, and regulation in toll-like receptor pathway by induction of miR-146a[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018, 9: 41.
- [116] Grayfer L, Garcia E G, Belosevic M. Comparison of macrophage antimicrobial responses induced by type II interferons of the goldfish (*Carassius auratus* L.) [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(31): 23537-23547.
- [117] Zhang W X, Zhao Z J, Zhou J C, *et al.* Carboxymethyl chitosan nanoparticles loaded with *Ctenopharyngodon idella* interferon- γ 2 (CiIFN- γ 2) enhance protective efficacy against bacterial infection in grass carp[J]. *Aquaculture*, 2023, 572: 739554.
- [118] Yin L C, Lv M Y, Qiu X Y, *et al.* IFN- γ manipulates NOD1-mediated interaction of autophagy and *Edwardsiella piscicida* to augment intracellular clearance in Fish[J]. *The Journal of Immunology*, 2021, 207(4): 1087-1098.
- [119] Li L, Chen S N, Laghari Z A, *et al.* Myxovirus resistance (Mx) gene and its differential expression regulated by three type I and two type II IFNs in mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 105: 103604.
- [120] Li L, Chen S N, Li N, *et al.* Transcriptional and subcellular characterization of interferon induced protein-35 (IFP35) in mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2021, 115: 103877.
- [121] Li L, Chen S N, Li N, *et al.* Molecular characterization and transcriptional conservation of N-myc-interactor, Nmi, by type I and type II IFNs in mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2022, 130: 104354.
- [122] Lu X B, Zeng J W, Jia K T, *et al.* Antiviral activities of sea perch type I and type II IFNs against RGNNV and their different roles in antigen presentation[J]. *Aquaculture*, 2021, 534: 736314.
- [123] Nayak S K, Shibasaki Y, Nakanishi T. Immune responses to live and inactivated *Nocardia seriolae* and

- protective effect of recombinant interferon gamma (rIFN γ) against nocardiosis in gibel carp, *Carassius auratus langsdorfii*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 39(2): 354-364.
- [124] Hou J, Chen S N, Gan Z, *et al.* In primitive zebrafish, MHC class II expression is regulated by IFN- γ , IRF1, and two forms of CIITA[J]. *The Journal of Immunology*, 2020, 204(9): 2401-2415.
- [125] Cao Y S, Zhang Q Y, Xu L M, *et al.* Effects of different cytokines on immune responses of rainbow trout in a virus DNA vaccination model[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(68): 112222-112235.
- [126] Ai K T, Li K, Jiao X Y, *et al.* IL-2-mTORC1 signaling coordinates the STAT1/T-bet axis to ensure Th1 cell differentiation and anti-bacterial immune response in fish[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(10): e1010913.
- [127] Peng W, Lu D Q, Li G F, *et al.* Two distinct interferon- γ genes in *Tetraodon nigroviridis*: functional analysis during *Vibrio parahaemolyticus* infection[J]. *Molecular Immunology*, 2016, 70: 34-46.
- [128] Arts J A J, Tijhaar E J, Chadzinska M, *et al.* Functional analysis of carp interferon- γ : evolutionary conservation of classical phagocyte activation[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(5): 793-802.
- [129] Zhang M, Liu W Q, Wang Y, *et al.* Identification, expression pattern and functional characterization of IFN- γ involved in activating JAK-STAT pathway in *Sebastes schlegelii*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2023: 108936.
- [130] Wang D, Fang L R, Zhao F W, *et al.* Molecular cloning, expression and antiviral activity of porcine interleukin-29 (poIL-29)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(3): 378-384.
- [131] Yao Q X, Fischer K P, Arnesen K, *et al.* Molecular cloning, expression and characterization of Pekin duck interferon- λ [J]. *Gene*, 2014, 548(1): 29-38.
- [132] Chen S N, Zhang X W, Li L, *et al.* Evolution of IFN- λ in tetrapod vertebrates and its functional characterization in green anole lizard (*Anolis carolinensis*)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016, 61: 208-224.
- [133] Fox B A, Sheppard P O, O'hara P J. The role of genomic data in the discovery, annotation and evolutionary interpretation of the interferon-lambda family[J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4933.
- [134] Onoguchi K, Yoneyama M, Takemura A, *et al.* Viral infections activate types I and III interferon genes through a common mechanism[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(10): 7576-7581.
- [135] Miknis Z J, Magracheva E, Li W, *et al.* Crystal structure of human interferon- λ 1 in complex with its high-affinity receptor interferon- λ R1[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 404(4): 650-664.
- [136] Kotenko S V. IFN- λ s[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2011, 23(5): 583-590.
- [137] Coccia E M, Severa M, Giacomini E, *et al.* Viral infection and Toll-like receptor agonists induce a differential expression of type I and λ interferons in human plasmacytoid and monocyte-derived dendritic cells[J]. *European Journal of Immunology*, 2004, 34(3): 796-805.
- [138] Robertsen B. The interferon system of teleost fish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20(2): 172-191.
- [139] Hamming O J, Lutfalla G, Levraud J P, *et al.* Crystal structure of zebrafish interferons I and II reveals conservation of type I interferon structure in vertebrates[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(16): 8181-8187.

Interferon (IFN) system in fish: research progress and contributions from China

LI Li¹, ZOU Jun², SU Jianguo³, LIU Lanhao⁴, ZHANG Shan⁴, NIE Pin^{4*}

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070; China;

4. School of Marine Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: Interferons (IFNs) are a class of cytokines with pleiotropic immunological and biological functions, such as antiviral, antibacterial and immunomodulatory functions. In vertebrates, IFNs play pivotal roles in innate immune system, and can also coordinate effective adaptive immunity. Up to now, four types of IFNs, i.e., type I, type II, type III and type IV IFNs, have been reported in vertebrates. As a diversified lineage of vertebrates, fish represents the earliest group of vertebrates to possess well-defined and complicated IFN systems, and they are considered as important for the study of composition, function, and evolution of IFN systems. According to phylogenetic relationships, fish type I IFNs are classified into eight subgroups, namely IFNa – IFNf, IFNh and IFNi, which selectively use different receptor complexes to induce the production of interferon stimulated genes (ISGs) through the conserved JAK/STAT signaling pathway, thereby exerting their biological functions, such as antiviral and antibacterial activities. Two members of type II IFNs, IFN- γ and IFN- γ rel exist in fish, and they can use CRFB13/CRFB6 and CRFB17 to transfer signaling through STAT1, respectively. Type III IFNs and their receptor subunits have been identified in cartilaginous fish, although not in teleost fish. Type IV IFN is a new IFN identified recently in fish and primitive mammals, which has a significant antiviral function with receptors consisting of CRFB12 and CRFB4. In this report, the current achievements of type I, type II, type III and type IV IFNs in fish were reviewed in respect to gene structure, classification and nomenclature, receptor composition and usage, signaling pathway, and immunological function. Contributions from Chinese scientists on fish IFN composition and nomenclature, receptor usage and signaling, crystal structure, functional specialty, and new IFN finding were summarized. The possible future direction was also proposed in relation with the research on fish IFN systems in this article. It is expected that this article will contribute to systematic understanding of fish IFN system, and may also provide information for potential application of IFNs in antiviral and antibacterial practice in aquaculture.

Key words: fish; interferon; interferon receptor; JAK-STAT signaling pathway

Corresponding author: NIE Pin. E-mail: pinnie@qau.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (32102835)