

梁利国,陈 凯,谢 骏. Toll 样受体及其对水生动物疾病调控作用的研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):12-15.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.004

Toll 样受体及其对水生动物疾病调控作用的研究进展

梁利国¹, 陈 凯^{1,2}, 谢 骏¹

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室,江苏无锡 214081;

2. 上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306)

摘要:Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是近年来倍受关注的一类模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs),在病原识别、介导机体免疫反应中发挥着重要作用。本研究对 Toll 样受体的发现、种类、结构、分布、配体及其信号转导途径与功能、在水生动物疾病调控中的作用进行了概述,以期进一步了解 TLRs 在水生动物疾病中所起的关键作用。

关键词:Toll 样受体;水生动物;信号转导;疾病调控

中图分类号:S941.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)05-0012-04

宿主对病原体的防御反应主要依靠免疫系统。免疫系统分为先天免疫和获得性免疫 2 种,其中获得性免疫以 T 细胞和 B 细胞为媒介且仅存在于哺乳动物体内,而先天免疫在无脊椎动物到脊椎动物体内普遍存在^[1]。Toll 样受体是一种广泛存在于哺乳动物、昆虫及植物体内的天然免疫分子,属于高度保守的蛋白家族成员,最早于 1988 年在果蝇体内发现。后期研究显示,该受体在病原微生物识别、机体免疫等方面具有重要意义^[2]。

1 TLRs 的种类、结构及分布

迄今为止,果蝇体内的 TLRs 在先天免疫中的作用被广泛探讨,9 种 TLRs 先后被发现于果蝇体内并进行了后续研究。之后又在人体、小鼠及真菌中克隆出 10 种 TLRs 的同源

序列。所有的 TLRs 蛋白都属于 I 型横跨膜蛋白,具有相同的结构特征,由胞外区、跨膜段和胞内区 3 部分组成。胞外区富含亮氨酸重复序列(leucine-rich repeats, LRR)并有 1 个富含半胱氨酸的区域。胞内有 1 个被称为 Toll/IL-1 (Toll/interleukin-1, TIR)的高度保守区域^[3]。

2000 年,鱼类首个 TLR 超家族成员分离出来。其后,TLRs 陆续从河豚^[4]、斑马鱼^[3]和牙鲆^[5]中分离出来,并证实鱼类不仅具有哺乳类所有 TLR 种类的同源基因,还具有几个在哺乳类尚未发现的 TLR 种类^[6]。学者们在河豚基因组的研究中,通过与人类相关基因的对比,并未发现人类 *TLR4* 的同源序列,这意味着河豚可能缺少 *TLR4* 基因^[4];而在随后关于斑马鱼的研究中发现,其 TLR4 分子有 2 个亚型,这说明 TLR4 分子的缺失并非存在于鱼类的普遍现象^[7]。

TLRs 在淋巴组织和非淋巴组织均有表达,但 TLRs 在不同的组织和细胞表达量有所不同。泛生型主要是 TLR1,广泛分布于多核细胞、单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、内皮细胞、NK 细胞、成纤维细胞及树突状细胞等多种细胞表面。局限型包括 TLR2、TLR4 和 TLR5,主要分布于髓系单核细胞,其中外周血白细胞的表达最为丰富。特异型即 TLR3,仅存在于树突状细胞表面^[8]。

收稿日期:2014-05-31

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-46-10);

江苏省水产三新工程(编号:D2013-5)。

作者简介:梁利国(1984—),男,河北唐山人,硕士,助理研究员,主要从事水产动物病原微生物学研究。E-mail:lianglg@ffrc.cn。

通信作者:谢 骏,研究员,主要从事细菌性病害生态防控技术的研究。E-mail:xiej@ffrc.cn。

[45]沈桂琴,廖瑞章. 重金属、非金属、矿物油对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报,1987,6(3):24-27.

[46]林匡飞,徐小清,郑 利,等. 土壤镉污染对土壤酶活性的生态毒理效应[J]. 土壤学报,2005,42(1):106-110.

[47]杨志新,刘树庆. Cd、Zn、Pb 单因素及复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 土壤与环境,2000,9(1):15-18.

[48]杭小帅,王火焰,周健民,等. 电镀厂附近土壤重金属污染特征及其对微生物与酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报,2010,29(11):2133-2138.

[49]李江遐,张 军,谷助刚,等. 尾矿区土壤重金属污染对土壤酶活性的影响[J]. 土壤通报,2010,41(6):1476-1478.

[50]林立金,朱雪梅,邵继荣,等. 锌铬复合污染对水稻不同生育期土壤酶活性的影响[J]. 核农学报,2007,21(6):623-629.

[51]和文祥,陈会明,冯贵颖,等. 汞铬砷元素污染土壤的酶监测研究[J]. 环境科学学报,2000,20(3):338-343.

[52]李德生,孟 丽,李海茹. 重金属污染对土壤酶活性的影响研究进展[J]. 天津理工大学学报,2013,29(2):60-64.

[53]刘 霞,刘树庆,唐兆宏. 潮土和潮褐土中重金属形态与土壤酶活性的关系[J]. 土壤学报,2003,40(4):581-587.

[54]俞 慎,何振立,黄昌勇. 重金属胁迫下土壤微生物和微生物过程研究进展[J]. 应用生态学报,2003,14(4):618-622.

[55]牟新利,郭 佳,刘少达,等. 三峡库区农林土壤重金属形态分布于污染评价[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):314-317.

[56]龚 平,孙铁珩,李培军. 重金属对土壤微生物的生态效应[J]. 应用生态学报,1997,8(2):218-224.

2 TLRs 的配体及信号转导途径

2.1 TLRs 的配体

天然免疫识别系统是由能够识别病原相关的分子模式 (pathogen-associated molecule pattern, PAMPs) 的模式识别受体 (pattern recognition receptors, PPRs) 介导的。TLRs 作为重要的模式识别受体可识别多种病原体广泛表达的脂类、碳水化合物、肽和核酸结构。研究证实大多数 TLRs 形成同二聚体,而 TLR2 则能以异二聚体 TLR1/TLR2 和 TLR2/TLR6 的形式存在,以鉴别配体结构的精细改变。TLR10 是最新发现的人 TLR,与 TLR1 和 TLR6 氨基酸组成高度同源。常晓彤等在其研究中指出 TLR10 与 TLR1 结构相似,具有与 TLR2 形成二聚体的接口和脂肽结合的通道,在天然免疫识别中以激动剂依赖的方式与 TLR2 相互作用^[9]。TLR2 能够识别多种 PAMPs,包括 G+ 的肽聚糖、细菌脂蛋白、支原体脂蛋白等^[10]。TLR2 能识别如此广泛的 PAMPs,是由于其可与至少 2 个其他 TLR 家族成员 TLR6、TLR1 形成异二聚体,从而增强其识别功能。TLR3 可识别病毒双链 RNA (dsRNA) 以及人工合成的类似物多聚肌胞苷酸 poly(I:C)。TLR4 是首个被发现的哺乳动物 Toll 样受体,其主要功能是作为革兰氏阴性菌 LPS 的信号转导受体。除此之外,还可识别内源性分子热休克蛋白 60 (HSP60),但 TLR4 识别 HSP60 的具体功能有待进一步研究。TLR5 是识别具有鞭毛蛋白的细菌的重要受体。TLR9 可识别甲基化的 CpG-DNA^[11]。

2.2 TLRs 的信号转导途径

由于 TLRs 胞内区域与 IL-1R 的胞内区域同源性较高,并有特征性的 TIR 区域,所以它们的信号传递链基本相同,但对不同信号的刺激仍有所区别。现已明确参与此信号途径的分子有 MyD88、IRAK、TRAF6 等^[12]。

髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 是 TLRs 信号通路中重要的衔接蛋白。MyD88 分子由 296 个氨基酸残基组成,其羧基末端为 TIR 结构域,氨基末端为死亡结构域 (death domain, DD)。羧基末端 TIR 结构域和胞浆内 TLRs 的 TIR 结构域结合,MyD88 即依赖其死亡结构域与下游接头分子相互作用形成受体复合物,进一步募集下游信号分子。利用 MyD88 基因敲除小鼠模型进行试验,结果发现 MyD88 缺陷鼠除了正常应答 TLR3 配体外,其他 TLR 配体均不能引起应答反应,TLR3 是至今已知的唯一不通过 MyD88 的 Toll 样受体^[9]。目前的相关研究中,一般根据 TLRs 的信号转导过程是否有 MyD88 的参与将 TLRs 信号通路分为 MyD88 依赖性和 MyD88 非依赖性。MyD88 依赖性信号通路主要介导炎性细胞因子的产生,而 MyD88 非依赖性信号通路主要介导调节树突状细胞 (DC) 的成熟以及其他免疫调节分子如 MHC、CD80 等的表达^[13]。

2.2.1 MyD88 依赖性信号途径

研究表明除 TLR3 外,其他所有的 TLRs 信号转导过程都有 MyD88 的参与^[14]。TLRs 结合 MyD88 后,白介素 1 受体相关激酶 4 (IL-1R-associated kinase 4, IRAK-4) 和白介素 1 受体相关激酶 1 (IRAK-1) 被募集并磷酸化。活化后的 IRAK-4 和 IRAK-1 与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TNFR-associated factor 6, TRAF6) 结合,使 TNFR6 磷酸纤维素化后促使转化生长因子 β 活化激酶

1 (transforming growth factor- β activated kinase 1, TAK1) 活化^[15]。TRAF6 活化引起 2 条不同途径的信号转导,一条包括 P38MAPK 家族和 c-junNH₂-terminal 激酶 (Jnk); 另一条是活化 MPKKK (mitogen-activated protein kinase, MAP3K) 家族成员 NIK (NF- κ B-inducing kinase), 后者的磷酸化激活 I κ B 激酶 (I κ B kinases, IKKs), 导致 I κ B 的泛素化而从 I κ B/NF- κ B 复合物释放, NF- κ B 由此活化转位进核, 导致一系列特定基因的表达, 从而产生原发性致炎因子如 TNF- α 、IL-1 等完成炎症的信号转导过程^[16]。

2.2.2 MyD88 非依赖性信号途径

TLR3 的信号转导不触发 MyD88 途径, 而是利用另一种适配蛋白 TRIF。NF- κ B 和 AP-1 的活化是所有 TLRs 介导的信号途径的共同特征, 但只有 TLR3 可诱导 1 种具有强大的抗病毒、抗菌能力的细胞因子-I 型干扰素的产生。TLR4 既可利用 MyD88 依赖性信号途径, 也可利用同 TLR3 相似的以 TRIF 为适配蛋白产生 I 型干扰素的 MyD88 非依赖性信号途径。然而 TLR4 还需要 TIRAP 和 TRAM 额外 2 种适配蛋白, 这 2 种蛋白调控 TLR4 对 MyD88 依赖性途径和 MyD88 非依赖性途径的选择^[17]。TRIF 基因敲除鼠试验进一步证实了该基因在 TLR3 信号转导途径中的重要作用^[18]。此外, Gao 等的研究中, 利用转染的 siRNA 阻断 MyD88 在 HT-29 细胞中的表达, 结果发现, 由酪酸梭菌刺激的 TLR2 调控通路也可利用 MyD88 非依赖性途径实现信号的转导^[19]。

3 TLRs 的功能及在水生动物疾病中的调控作用

3.1 炎症反应

中性粒细胞是典型的先天性免疫细胞, 而 TLRs 是典型的先天免疫受体。人体中性粒细胞可表达大多数的 TLRs。Hayashi 等对 TLRs 刺激下中性粒细胞的功能研究中发现, 在病原入侵机体时, TLRs 可增强吞噬细胞的吞噬能力^[20]。Hirono 等在牙鲆的相关研究中观察到, 在迟钝爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 刺激下, 牙鲆肾脏中有脓肿, 表明诱发了炎症反应, 脓肿周围大量表达 MyD88 基因, 说明 MyD88 在牙鲆炎症反应中起重要作用^[5]。付媛媛等给中国明对虾投喂含不同浓度黄芩的饲料, 之后利用鳃弧菌感染对虾, 结果显示, 3 个试验组的 TLR 基因 mRNA 的表达量均受到抑制, 从而抑制先天免疫系统产生炎症因子, 相对提高了吞噬细胞的吞噬能力, 增强天然免疫细胞的杀伤能力^[21]。

3.2 抗病毒感染

TLR3 是目前研究比较详细的双链 RNA 病毒模式识别受体之一。而鱼类的 TLR22 是另一种可识别双链 RNA 病毒的因子, 它广泛存在于各种鱼类的基因组。可能是由于鱼类生活在水体环境, 经常受到病毒的侵袭, 在自然选择的作用下保留了双链 RNA 病毒双重识别系统^[22]。

杨春荣等在研究草鱼 TLR3 表达特征时发现, 草鱼感染呼肠孤病毒后 TLR3 基因的相对表达量显著升高, 并指出 TLR3 基因在呼肠孤病毒感染中发挥着重要作用^[23]。之后在斑节对虾的相关研究中, TLR22 的表达量也表现出类似结果^[24]。TLR 家族中除 TLR3 及 TLR22 外, TLR7 也具有病毒识别能力。TLR7 亚家族由 TLR7、TLR8 和 TLR9 构成, 主要参与抗病毒机制的激活, 病毒单链 RNA 可以成为 TLR7 和 TLR8

的配体, *TLR9* 主要识别病毒或细菌含有非甲基化的 CpG-DNA。张荣芳等探究 *TLR7* 在草鱼体内和体外的表达模式时发现, 病毒感染后的草鱼肝脏、脾脏中的 *TLR7* 表达与对照组相比均显著提高, 这种显著性差异反映了 *TLR7* 在病毒感染中的应答效应^[25]。吴立舒在试验中也观察到, 受到蛙虹彩病毒威胁时, 东北林蛙皮肤中 *TLR1* 和 *TLR8* 的 mRNA 表达量在攻毒后的 6 h 内迅速上调表达^[26]。

3.3 病原菌识别

细菌以细胞壁不同的染色特征可分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌 2 大类。细胞壁上某些特殊成分可以作为 PAMPs 被 TLRs 所识别。LPS 是广泛存在于细胞壁的最有效的免疫刺激剂^[27]。

TLR2 和 *TLR4* 均可识别 LPS, 但在许多情况下需要协同受体的存在, 其中 *TLR2* 常与 *TLR1* 及 *TLR6* 形成异二聚体共同发挥作用^[28-29]。Basu 等用无乳链球菌和嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 对印度鲢 (*Cirrhinus mrigala*) 进行感染, 之后在其鳃、肝脏、肾、肠及血液等组织中检测到 *TLR2* 的表达^[30]。结果表明 *TLR2* 在机体的许多组织中充当着免疫监视者的角色, 可诱导产生 IL-8 和 TNF- α 2 种细胞因子对入侵机体的病原菌发生免疫应答。梁建平从凡纳滨对虾体内克隆出 *TLR6* 并以灭活的金黄色葡萄球菌、创伤弧菌及酿酒酵母分别作为革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及真菌 3 类微生物的代表对虾进行免疫刺激, 随后测量肝胰脏 *TLR6* 基因表达水平。结果显示 *TLR6* 在金黄色葡萄球菌、酵母刺激下均出现显著上调, 创伤弧菌则只在 72 h 时间段内出现较大上调^[31]。在病原刺激下 *TLR6* 出现较大幅度的上调可以理解为机体对外来刺激产生的防御反应。

TLR5 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的鞭毛蛋白均能识别, 且鞭毛蛋白是哺乳动物体内 *TLR5* 唯一识别的受体^[32]。鱼类具有和哺乳动物同源的 *TLR5* 基因, 且 *TLR5S* 基因是鱼类所特有的, 它与 *TLR5* 共同参与鱼类免疫反应。李敏等用迟钝爱德华氏菌、嗜水气单胞菌、链球菌 (*Streptococcus iniae*) 和斑点叉尾鲷呼肠孤病毒 (*Channel catfish hemorrhage reovirus*, CCRV) 进行感染试验, 结果显示 *TLR5* 和 *TLR5S* 在细菌刺激下, 均有不同程度的上调表达, 而在 CCRV 刺激下除了感染后 12 h 的头肾和肝脏中表达量有轻微上调外, 其他情况下均表现为明显的下调表达, 这可能与 *TLR5* 能识别细菌的鞭毛蛋白而不能识别病毒有关^[33]。当 *TLR5* 与配体蛋白结合后, 通过 MyD88 依赖性途径激活 NF- κ B, 进而诱导细胞因子及前炎症因子的产生。林克冰等利用哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 感染斜带石斑鱼, 在感染后 3、6、12、24、48 h 后利用 Real time PCR 检测 *TLR5S* 在肝脏中的表达情况, 结果显示 *TLR5S* 基因在 3、6、12、24 h 时表达量显著上调, 而在 48 h 下降至初始水平^[34]。推测此现象是由于哈维氏弧菌感染刺激早期, 机体为了清除入侵病原, 诱导 *TLR5S* 基因的表达, 参与机体免疫应答。随时间推移, 机体中的病原逐渐被清除, *TLR5S* 基因表达随之下降。*TLR5* 可在单核细胞、未成熟树突状细胞及上皮细胞中表达, 是一种参与免疫应答的受体, *TLR5* 和 *TLR4* 一起, 可以识别鞭毛蛋白并激活干扰素调节因子 3 (IRF-3)。欧阳蒲月等对硬骨鱼类中斑马鱼的 *TLR5* 在受到杀鲑气单胞菌 (革兰氏阴性菌, G^-)、金黄色葡萄球菌 (革兰氏阳性菌, G^+) 刺激之后的表

达变化进行了研究, 结果显示, G^+ 和 G^- 细菌的感染都诱发了 *TLR5* 表达的上调, 不具有鞭毛的金黄色葡萄球菌也可以诱发 *TLR5* 表达的上调^[35]。作者认为此情况是由于具有鞭毛的革兰氏阴性菌可以直接激活 *TLR5* 通路, 而不具有鞭毛的革兰氏阳性菌可能先激活 Toll 样受体家族的其它通路, 再诱导 *TLR5* 表达活跃, 从而实现对外源微生物入侵的抵御。

3.4 其他调控作用

体内和体外研究均表明, 硬骨鱼的 TLRs 可对许多细菌和寄生虫的 PAMPs 作出应答^[6]。乔玮等从斜带石斑鱼体内克隆出 *TLR3* 基因, 并通过刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*) 感染斜带石斑鱼, 感染后发现在皮肤和肝脏中均有不同程度的应答反应^[36]。

TLRs 不仅可以调控天然免疫, 也同样介导获得性免疫反应。在天然免疫和获得性免疫间起中间桥梁作用的是抗原提呈细胞 (APC)。APC 表达所有的 TLRs, 病原体特有的 PAMPs 被 APC 上的 TLRs 识别后诱导活性氧中间物 (ROI) 和活性氮中间物 (RNI) 的产生, 释放前炎症因子并上调共刺激分子的表达, 随后启动获得性免疫^[37]。

4 展望

TLRs 是一组与天然免疫密切相关的受体家族, 在天然免疫防御中起着重要作用, 并能激活获得性免疫系统。近年来, 随着分子生物学、免疫学等学科的发展, Toll 样受体的研究和应用进入了迅速发展的新阶段^[38]。鱼类的 Toll 样受体也被陆续克隆出来, 并在疾病控制、免疫应答方面获得一些研究成果。随着科学技术的发展, 鱼类的 TLRs 家族将得以更进一步的研究, 为病毒、病原菌、寄生虫等引起的疾病防治提供新的科学思路与方法。针对 TLRs 为靶点的药物研究也正成为一个热点。通过对 TLRs 不断深入研究, 免疫激动剂、疫苗将得到进一步开发与研制, 水产动物的疾病防治将不再过多依赖于抗生素。总之, 随着对 TLRs 研究的不断进展, 将会为水产动物疾病防治提供更加有效、更为安全的新方法。

参考文献:

- [1] 朱学农, 谭玉文, 张玉梅, 等. Toll 样受体在先天性免疫反应中的作用[J]. 免疫学杂志, 2006, 22(3): 37-41.
- [2] Jean L I, Jules H A. Toll receptors in innate immunity[J]. Trends in Cell Biology, 2001, 11(7): 304-311.
- [3] Cyril J, Laurent P, Johanna C. Toll-like receptor gene family and TIR-dominant adapters in *Danio rerio* [J]. Molecular Immunology, 2004, 40: 759-771.
- [4] Hiroyuki O, Tadayuki T, Kyoko S, et al. Prediction of the prototype of the human Toll-like receptor gene family from the pufferfish, fugu, *rubripes*, genome[J]. Immunogenetics, 2003, 54(11): 791-800.
- [5] Ikuro H, Hidehiro K. Identification and characterization of a myeloid differentiation factor88 (MyD88) cDNA and gene in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2006, 30: 807-816.
- [6] Alexander R, Tom G, Hans M S. Toll-like receptor signaling in bony fish [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2010, 134(3-4): 139-150.
- [7] 欧阳蒲月, 郭成栓. TLR21 在斑马鱼免疫功能中的作用研究[J].

- 安徽农业科学,2010,38(3):1258-1260.
- [8]王德成,余敏,余锐萍,等. Toll 样受体研究进展[J]. 动物医学进展,2008,29(2):56-60.
- [9]常晓彤,肇晓峰,王振辉. Toll 样受体信号转导途径研究进展[J]. 生理科学进展,2011,42(5):340-346.
- [10]钱粉红. *TLR2* 亚家族和 *IL-17F* 基因遗传多态性及高敏 C-反应蛋白与支气管哮喘关系的研究[D]. 南京:南京医科大学,2008:1-129.
- [11]王国兴. Toll 样受体及其信号转导[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2002,18(6):666-669.
- [12]王梁华,司宇红,焦炳华. Toll 样受体及其信号转导[J]. 生物化学与生物物理进展,2001,28(3):304-308.
- [13]于高水,杨玉荣,梁宏德. Toll 样受体研究进展[J]. 细胞生物学杂志,2009,31(3):339-343.
- [14]Adachi O, Kawai T, Takeda K, et al. Targeted disruption of the *MyD88* gene results in loss of IL-1- and IL-18-mediated function[J]. Immunity, 1998, 9:143-150.
- [15]Albiger B, Dahlberg S, Henriques-Normark B, et al. Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll-like receptors[J]. Journal of Internal Medicine, 2007, 261(6):511-528.
- [16]徐世军,沈映君. TLR 信号途径关键转接分子 MyD88 的研究进展[J]. 中华中医药学刊,2007,25(12):2504-2506.
- [17]Renato O, Ivan Z, Francesca G. Deciphering the complexity of Toll-like receptor signaling[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2010, 67:4109-4134.
- [18]刘光伟,夏雪培,赵勇. Toll 样受体信号传导途径的研究进展[J]. 动物学杂志,2005,40(6):117-121.
- [19]Gao Q X, Qi L L, Wu T X. Clostridium butyricum activates TLR2-mediated MyD88-independent signaling pathway in HT-29 cells[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2012, 361:31-37.
- [20]Fumitaka H, Terry M K, Andrew L D. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function[J]. Blood, 2003, 102(7):2660-2669.
- [21]付媛媛. 黄芩苷和虾青素对中国对虾非特异性免疫特性影响的研究[D]. 上海:上海海洋大学,2011:1-74.
- [22]衡建福. 草鱼 *TLR3* 和 *TLR22* 基因多态性与草鱼出血病抗性之间的关联分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011:1-67.
- [23]杨春荣,苏建国,张荣芳,等. 草鱼 BAC 文库中 *TLR3* 基因的筛选及表达特征的研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2010,38(6):83-87.
- [24]刘文静. 斑节对虾 *TLR22* 及 *Relish* 基因的克隆与表达分析[D]. 上海:上海海洋大学,2012:1-81.
- [25]张荣芳. 草鱼 *TLR7* 基因的克隆与病毒感染条件下的表达研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2011:1-66.
- [26]吴立舒. 虹彩病毒胁迫下东北林蛙皮肤 TLR mRNA 的差异表达[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2012:1-42.
- [27]Shizuo A, Satoshi U, Osamu T. Pathogen recognition and innate immunity[J]. Cell, 2006, 124(4):783-801.
- [28]Hajjar A, O'Mahony D, Ozinsky A, et al. Cutting edge: functional interactions between toll-like receptor(TLR)2 and TLR1 or TLR6 in response to phenol-soluble modulins[J]. The Journal of Immunology, 2001, 166(1):15-19.
- [29]Nagpal K, Plantinga T, Wong J, et al. A TIR domain variant of MyD88 adapter-like (MAL)/TIRAP results in loss of MYD88 binding and reduced TLR2/TLR4 signaling[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(38):25742-25748.
- [30]Madhubanti B, Banikalyan S, Bikash S R, et al. Induction of toll-like receptor(TLR)2, and MyD88-dependent TLR-signaling in response to ligand stimulation and bacterial infections in the Indian major carp, mrigal (*Cirrhinus mrigala*) [J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39:6015-6028.
- [31]梁建平. 凡纳滨对虾 *Toll6* 基因克隆及功能研究[D]. 广州:中山大学,2009:1-82.
- [32]Fumitaka H, Kelly S D, Adrian O. The innate immune response to bacterial agellin is mediated by Toll-like receptor 5[J]. Nature, 2001, 410(6832):1099-1103.
- [33]李敏,李琪,王启龙,等. 斑点叉尾鲷 *TLR5* 和 *TLR5S* 基因在不同病原诱导下的表达特征[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(5):30-38.
- [34]林克冰,葛辉,林琪,等. 斜带石斑鱼 *TLR5S* 基因结构及功能分析[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2013,52(1):109-115.
- [35]欧阳蒲月,黄智璇. 细菌感染对斑马鱼 *TLR5* 表达的影响研究[J]. 化学与生物工程, 2013, 30(4):41-43.
- [36]乔玮,李言伟,李安兴. 斜带石斑鱼 *TLR3* 基因的克隆及其在刺激隐核虫感染时的表达分析[J]. 水生生物学报, 2012, 36(3):385-392.
- [37]钱程,安华章. Toll 样受体在适应性免疫中的作用与相关机制研究进展[J]. 国外医学免疫学分册, 2005, 28(1):16-19.
- [38]龙钟明,王利,苟小兰. Toll 样受体在鱼类中的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(1):191-193.