

甲殼類訊息分子家族： 分子多型態與 功能分歧之壓迫激素

A Family of Crustacean Signaling Molecules:
Structurally Polymorphic and
Functionally Divergent Stress Hormones

running title: 動物之訊息分子 (Animal Signaling Molecules)



面臨壓迫的環境，生物體需要協調動員個體的各個系統，改變能量配置、重設定中樞神經、調整免疫均衡，使生物體得以適應壓迫環境，確保個體的生存。神經內分泌與免疫系統接收環境訊息與侵害源的刺激和挑戰；因應這些刺激和挑戰，神經內分泌與免疫系統產生各類型訊息分子 (signaling molecules)；這些分子作用於相關系統，協調生物體產生壓迫反應 (stress responses)。

在分子神經內分泌實驗室 (Laboratory of Molecular Neuro-endocrinology) (圖一)，我們的研究重點是動物的神經內分泌以及免疫系統所產生的訊息分子、及這些分子的生物化學與生理功能之探討。這幾年來我們專注探究的訊息分子是稱為甲殼類升血糖荷爾蒙 (Crustacean Hyperglycemic Hormone, 簡稱爲 CHH) 之神經肽 (neuropeptides)。最重要的發現是 CHH 家族之分子多型態 (molecular polymorphism) 與功能分歧 (functional divergence) 等現象。

我們自甲殼類動物之神經內分泌腺體 (圖二) 選殖出 sinus gland CHH (SG-CHH) 與 pericardial organ CHH (PO-CHH) 基因，發現 SG-CHH 與 PO-CHH 是同一基因所編碼之 RNA 替代性剪接 (RNA alternative splicing) 產物 (圖三)。利用液相層析、質譜儀等蛋白質身份鑑定技術，我們已獲取純化之 SG-CHH 與 PO-CHH (圖四)，並發現 SG-CHH 具有誘發壓迫環境下之升血糖反應 (hyperglycemia)、脂肪代謝與

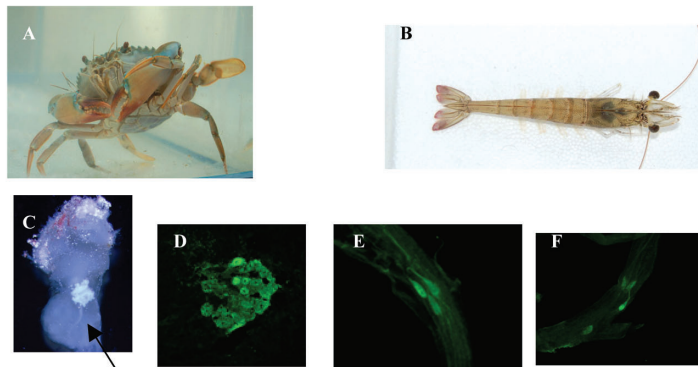
蠅殼調節等壓迫適應之功能；符合 SG-CHH 早先已被認爲是所謂的壓迫激素 (stress hormone) 之說；PO-CHH 則無上述生理調節功能，而與其他的壓迫適應調節有關。因此，初級結構 (胺基酸序列) 上的不同 (圖三) 可能導致的分子立體結構差異 (圖五) 已造成 SG-CHH 與 PO-CHH 之功能分歧。我們進一步利用基因重組 (Recombinant DNA Technology) 的技術大量生產 SG-CHH 與 PO-CHH，用於探討這兩個不同分子型態 CHH 之功能差異，以及功能分歧之立體結構基礎 (圖五)。

另一方面，我們最新的研究結果首次顯示免疫細胞 (圖六) 具有類 CHH (CHH-like peptide) 分子。根據基因序列分析，這些我們稱爲 hemocyte CHH (Hem-CHH) 的分子是結構新穎之類 CHH 分子，僅具有一般典型 CHH 分子之前 40 個胺基酸 (圖三)。我們現正全力探究 Hem-CHH 之免疫調節以及協調免疫系統與神經內分泌系統訊息溝通等可能之功能。

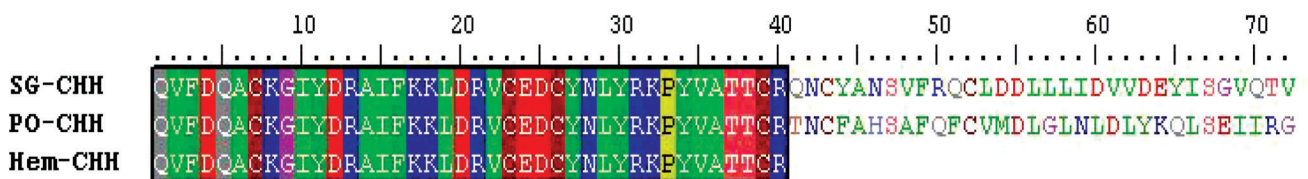
以 CHH 神經肽家族爲例子，我們的研究發現闡述了生物體內訊息分子多型態的產生機制；我們的目標是利用此系統探討：透過這些不同分子結構的 CHH，生物體如何得以誘發適切的壓迫反應，並達到協調免疫系統與神經內分泌系統訊息交流之功能。瞭解生物體對於壓迫環境適應之分子機制有助於利用生物技術來拓展動物養殖產業。



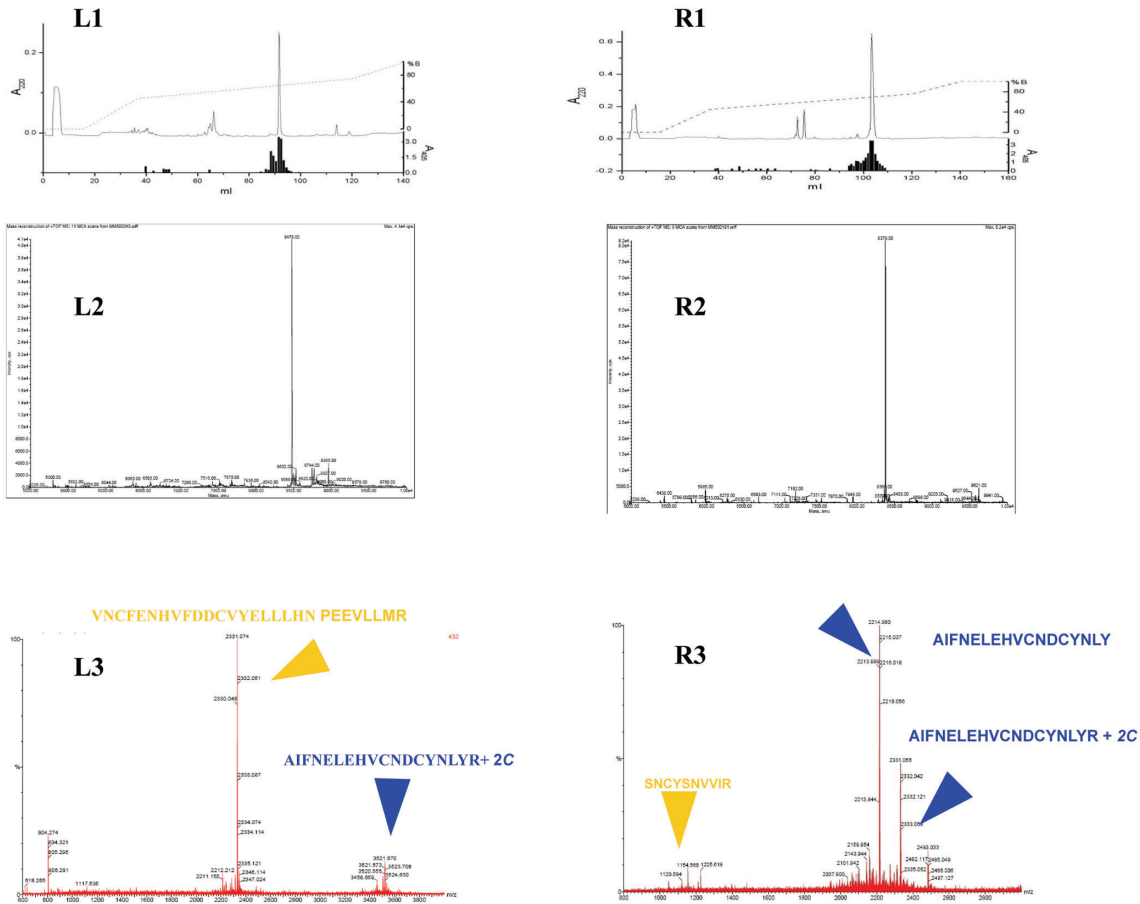
圖一 分子神經內分泌實驗室成員。攝於 (A) 清靜農場，與學術研討會之 (B) 討論與交流，(C) 輕鬆的用餐與閒聊。



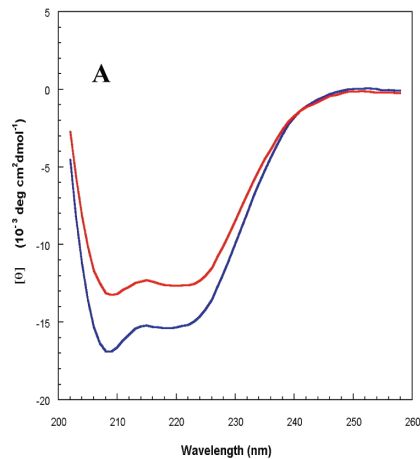
圖二 甲殼類動物及其神經內分泌組織。分子神經內分泌實驗室的實驗動物包含螃蟹、蝦子等甲殼類生物。這些動物不僅是經濟性養殖生物，也是研究神經內分泌與免疫系統的重要實驗材料。A: 紅腳蟳 *Scylla olivacea*, B: 白蝦 *Litopenaeus vannamei*, C: CHH 最早被發現於血竇腺 (箭頭), D, E, F: 以免疫螢光分析標定表現 CHH 之 X-器官 (D)、圍心器官 (E, F) 之神經內分泌細胞。

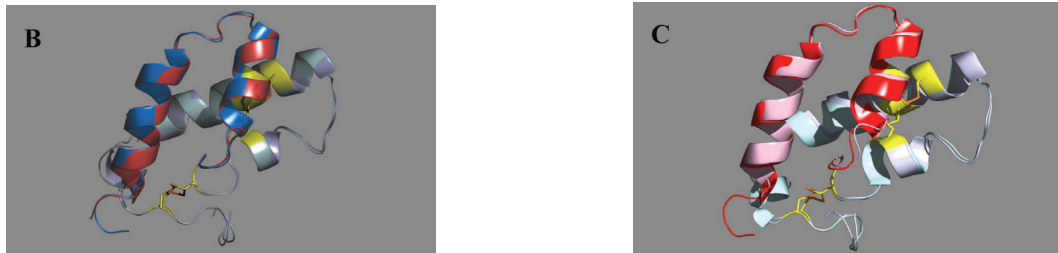


圖三 甲殼類升血糖荷爾蒙家族 (Crustacean Hyperglycemic Hormone Family) 分子之胺基酸序列對齊圖。甲殼類升血糖荷爾蒙 (CHH) 為肽類 (peptide) 訊息分子。自 X-器官/血竇腺純化之 SG-CHH 為具有 72 個胺基酸之壓迫荷爾蒙，負有協調壓迫適應之功能。自圍心器官純化之 PO-CHH，其 N-端段落 (第 1-40 個胺基酸) 與 SG-CHH 完全相同；但 C-端段落 (第 40 個胺基酸之後) 由不同外顯子 (exon) 編碼，兩者差異相當大。Hem-CHH 為本實驗室發現之新穎 CHH 分子，僅具有一般典型 CHH 分子之前 40 個胺基酸。PO-CHH 與 Hem-CHH 之生理功能尚未被確認；本實驗室初步結果顯示 PO-CHH 可能調節體液滲透壓；Hem-CHH 則與免疫調節相關。每一英文字母代表一種胺基酸。

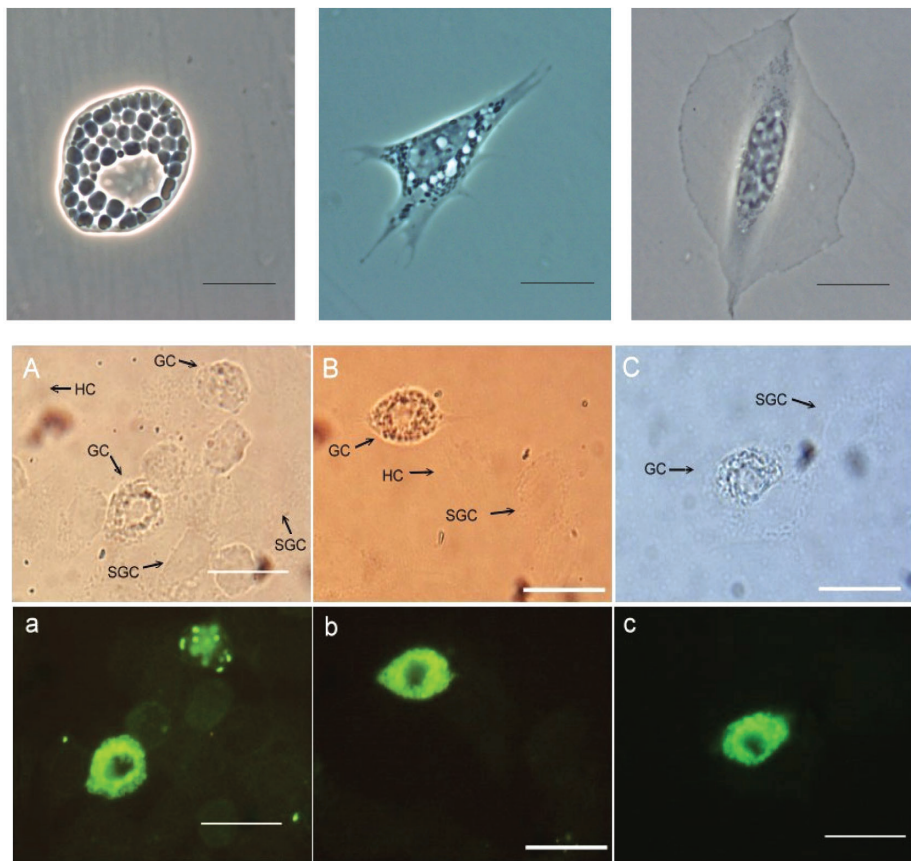


圖四 以蛋白質身份鑑定技術純化並確認 SG-CHH 與 PO-CHH。利用高效能液相層析 (HPLC) 分離神經內分泌組織 (L: 血竇腺, R: 圍心器官) 研磨液, 再以免疫化學法 (ELISA) 偵測分離液中之 CHH 免疫活性 (L1, R1 : 黑色柱狀圖)。具 CHH 免疫活性之分離液以質譜儀 (mass spectrometer) 確認其分子量 (L2, R2) 與胺基酸序列 (L3, R3)。





圖五 SG-CHH 與 PO-CHH 之結構分析。利用圓二色光譜儀分析 SG-CHH 與 PO-CHH 之二級結構，顯示兩個分子之二級結構成分有差異。B, C: SG-CHH 與 PO-CHH 之模擬三級結構。



圖六：甲殼類動物之免疫細胞。由左至右分別為顆粒球 (granulocyte、GC)、半顆粒球 (semi-granulocyte; SGC)、與透明球 (hyaline cell; HC)；這些細胞具有細胞毒殺、吞噬、結節等免疫功能。不同類型免疫細胞在未染色 (A-C) 時之型態。利用免疫螢光分析 (a-c) 顯示 CHH 主要分佈於顆粒球。