

双壳贝类参与免疫防御的体液因子

HUMORAL FACTORS OF BIVALVES PARTICIPATING IN IMMUNITY DEFENCE

孙虎山¹ 李光友²

(¹烟台师范学院 264025)

(²国家海洋局第一海洋研究所 青岛 266061)

贝类免疫学是新兴学科无脊椎动物免疫学中的一个分支,近年来受到了极大关注,其中有两个重要的理由:其一,对贝类免疫性的了解,将有助于人们采取

措施与贝类病害抗争,就有可能预防扇贝、牡蛎、贻贝

收稿日期:2000-05-30;修回日期:2000-07-30

等重要养殖贝类的细菌性、病毒性以及寄生虫病;其二,在探索动物免疫的起源与进化等方面具有重要意义。有关双壳贝类参与免疫防御的体液因子方面的研究,国内研究报道较少^[1-6],国外已对参与异物清除、异己识别和免疫调节等方面的体液因子,如水解酶、氧化酶、凝集素、单核因子和神经内分泌激素及其受体等开展了大量研究,本文就此作一综述,为国内研究提供资料。

1 水解酶

Pipe 1990 年认为,双壳贝类体内的水解酶在清除异物方面起重要的作用。Feng 1965 年指出,由于双壳贝类体内没有产生抗体的机构,因此细胞吞噬作用在双壳贝类防御机制中就具有极为重要的意义。Cheng 1974 年认为,异物被吞入细胞后就与溶酶体融合,最终被各种水解酶消化分解。比较重要的水解酶包括:溶菌酶^[4]、酸性磷酸酶 (ACP)^[12]、碱性磷酸酶 (AKP)^[13] 和非特异性酯酶 (ANAE) 等。由外来异物进入体内^[4]、寄生虫寄生或出现肿瘤等疾病时,溶菌酶、ACP 和 ANAE 等水解酶活性显著提高,说明水解酶参与对异物、寄生虫和肿瘤的杀伤及清除。Pickwell 1984 年发现贝类体内水解酶的活性还随季节及环境化学因子的变化而变化。水解酶多数存在于细胞内的溶酶体中,故常统称为溶酶体酶。实验表明,某些水解酶不仅存在于细胞内,而且存在于血浆中,从而形成了一个水解酶体系^[2]。Foley 1977 年认为血细胞的脱颗粒可能是水解酶存在于细胞外的主要机制。研究的最多且比较清楚的水解酶是溶菌酶,在各种贝类的许多组织器官中广泛存在,尤其在产卵器、消化腺、足丝腺和外套膜分泌液中含有较高。Mehnerly 等将贻贝 (*Mytilus edulis*) 的溶菌酶进一步纯化得到了 N2-酰基胞壁酰水解酶。溶酶体中的水解酶还有氨肽酶和 β -葡萄糖苷酸酶等,它们在抗菌方面的作用研究较少,但它们可降低微生物表面结构的完整性,从而利于对异物的识别和破坏。

2 氧化酶

Klekanoff 1968 年和 1985 年研究指出,髓性过氧化物酶 (MPO), H_2O_2 和卤化物组成了抗细菌及其他微生物体系。此体系在哺乳动物的免疫中发挥重要的作用。Adema 等 1991 年和 Anderson 1994 年证实相似的反应也发生在双壳贝类的防御机制中。MPO 活性存在于双壳贝类的血细胞中^[1], Schlenk 等 1991 年发现用特殊的 MPO 抑制剂处理将大大降低酵母聚糖刺激引起的血细胞的化学发光。MPO 中介的抗微生物

体系所需要的 H_2O_2 可由吞噬细胞代谢或微生物代谢供给。吞噬作用引起氧化代谢突然增长 (呼吸突发),在几秒钟内氧的消耗可提高 10~15 倍,而这些额外氧的消耗大部分通过超氧阴离子 (O_2^-) 转变为 H_2O_2 。吞噬作用所产生的活性氧包括: O_2^- 、 H_2O_2 、羟自由基 (OH) 和单线态氧 (1O_2) 都有一定的杀菌作用。 H_2O_2 的杀菌作用可因 MPO 和 Cl^- 的存在而极大地增强,并可产生杀菌作用较强的次氯酸。活性氧对双壳贝本身也有毒害作用,需及时清除。超氧化物歧化酶 (SOD) 可清除体内的 O_2^- 和 OH 等自由基, H_2O_2 的清除需要过氧化氢酶等的作用^[13]。Fisher 等 1990 年和 Anderson 等 1992 年发现血液中自由基的含量及血细胞的吞噬活性可用酵母细胞或酵母聚糖引发加强的化学发光法测定。酚氧化酶原激活系统 (proPO 系统) 已被证实节肢动物的免疫中发挥重要的作用,它是由丝氨酸蛋白酶及其因子组成的一个复杂酶级联系统,在这种级联反应中所产生的一系列活性物质,具有多种功能,包括:杀菌、抗寄生虫寄生、异物识别、调理和细胞通讯等。proPO 系统也存在于双壳贝的血细胞和血清中^[1]。酚氧化酶 (PO) 存在于嗜曙红的血细胞的大颗粒中,并且酶活性有明显的季节变化。血细胞需在用酵母聚糖上清液孵浴后,才显示出 PO 的活性。

3 凝集素

由于双壳贝类不能产生免疫球蛋白,对其识别机理所知甚少。Lackie 1980 年和 Renwrat 等 1983 年实验表明,贝类的血细胞确实可产生异己识别因子。除了部分酶有一定的识别作用外,凝集素被认为有可能在识别异物方面起重要作用。神谷久男认为:外源凝集素做为代替抗体的异物识别因子起免疫作用的学说是最有力的。凝集素在双壳贝类中广泛存在,美洲牡蛎 (*Crassostrea virginica*)、长牡蛎 (*C. gigas*)、贻贝 (*Mytilus edulis*)、帘蛤 (*Merxenaia mercenaria*)、Saxidomus giganteus 和 Tindacna maxim 等很多种双壳贝类体内具有凝集素。有的存在于血清中;也有的分布于血细胞的表面,为血细胞膜上的整合蛋白。凝集素具有糖结合专一性,可与细胞表面的不同的糖组分结合。普遍可使不同的哺乳动物的红细胞发生凝集,并可促进对外源红细胞的吞噬作用。Fisher 1991 年证实有的双壳贝类凝集素还可使细菌凝集。Clafsen 1992 年证实有时细菌的感染还可以诱导凝集素的产生并促进宿主对细菌的抑制和破坏。Chintala 等 1991 年证实寄生虫的感染也可引起美洲牡蛎血清凝集素浓度的改变。Vasta 等 1982 年证实凝集素对进入体内的细菌和寄生原生动物的识别和控制方面发挥重要作用,

并可做为异己受体使异物结合到血细胞表面。Mullainadhan 等 1986 年证实凝集素可使血细胞和异物间形成分子桥。凝集素与糖的结合并不是绝对的, Baldo 等 1978 年在研究 *Tridacna* 凝集素时发现, 含有半乳糖基的许多糖类物质等均可与其结合, 并且不同的糖类间存在竞争性抑制, 其中 N-乙酰-D-半乳糖胺最容易与其结合。凝集素与糖(多糖或糖蛋白或糖脂)的结合在许多方面像抗体与抗原的作用, 如: 结合具有特异性; 当反应物过量时形成的沉淀通常会溶解; 互补的糖抑制复合物的形成, 与半抗原作用相似。但是, 两者又有明显的差别。第一, 抗体是异物刺激而产生的, 而凝集素则是生物体内存在的一种蛋白质或糖蛋白; 第二, 与抗体专一结合的抗原不限于糖, 而凝集素只对糖专一; 第三, 各种抗体结构相似, 而各种凝集素在结构上除都是蛋白质外各不相同。Howland 等 1982 年发现美洲牡蛎的血细胞可与细菌表面的一种不含糖的蛋白质结合, 说明在双壳贝类血液中还有别的因子参与异己识别过程。

4 单核因子

单核因子是由单核-巨噬细胞产生的一类细胞因子, 具有激素样活性, 在脊椎动物的免疫中发挥非常重要的作用。Hughes 等 1990 年在对贻贝的研究中发现, 双壳贝类的血液和血细胞中也含有单核因子: 白细胞介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- α (TNF α)。贻贝的免疫细胞产生的两种单核因子与脊椎动物粒细胞-单核细胞-巨噬细胞系产生的该类因子极为相似。贻贝的血细胞还可与人的 IL-1 和 TNF α 的重组体发生反应, 说明其上有该单核因子的受体。这种反应可被抗此两种单核因子中的任何一种的特异性抗体所阻止。IL-1 可自身发挥作用, 也可以通过刺激 TNF α 的形成而发挥其作用。IL-1 和 TNF α 在贻贝体内相互作用, 参于免疫调节。像脊椎动物一样, 贝类的免疫细胞可对脂多糖(LPS)产生反应^[5]。LPS 在脊椎动物体内通常做为免疫激活剂诱导 IL-1 和 TNF α 的产生。Stefano 等 1993 年证实贻贝体内的 IL-1 和 TNF α 还可以受阿片神经肽的抑制从而抑制其免疫功能, 实现对免疫的调控。Hughes 等 1990 年认为单核因子是经过数百万年进化来的古老的分子信号, 因此可以认为颗粒细胞-单核细胞-巨噬细胞家族在哺乳动物的免疫功能中可能是原始的。

5 神经内分泌激素及其受体

神经内分泌系统产生的多肽激素有的具有细胞因子样作用, 可调节免疫应答; 免疫系统所产生的

细胞因子有的也具有多肽激素样的功能, 调节机体的某些生理生化反应。实验证明, 双壳贝类也存在此神经内分泌-免疫网络。Stefano 等 1993 年用免疫组化法证明脑啡肽存在于贻贝的足神经节内, 还分布于富含多巴胺的结构中。Leung 等 1984 年证明贻贝体内的阿片神经肽, 不仅存在于血液中, 也存在于血细胞中。不论经外源的还是内源的阿片神经肽孵浴贻贝的血细胞, 均可显著地提高血细胞的粘附能力, 并可引起其定向迁移。纳络酮可抑制其粘附过程, 表明贻贝体内的阿片神经肽也和哺乳动物体内的阿片肽一样, 是通过血细胞表面的受体介导而起作用的。Stefano 等 1989 年又进一步证明阿片肽是通过具免疫活性细胞表面的一种 δ 受体的介导, 可引起免疫细胞变扁、伸长形成伪足, 这种阿米巴运动导致血细胞聚集成团, 失去免疫活性, 说明双壳贝类体内的阿片神经肽具有明显的免疫抑制功能。Stefano 等 1992 年还发现贝类像脊椎动物一样, 体内也含有中性内肽酶(NEP)。某些神经肽(如阿片肽)可促进免疫活性细胞分泌 NEP, 即正调节作用, 但高浓度的神经肽则起负调节作用。说明 NEP 可能是贝类免疫调节的又一途径。

6 其他免疫活性物质

环境中金属离子的浓度与原生动物的繁殖等密切相关, Gauthier 等 1994 年发现离子缺乏时抑制原生动物的繁殖。Andersen 认为^[7], 美洲牡蛎体内的金属离子结合蛋白可调节体内金属离子的浓度, 从而构成一抗微生物防御机制。它包括简单地从病原体内获取金属离子从而对控制微生物感染起重要作用。

环境因子如盐度和温度等可以影响双壳贝类血细胞的防御反应。一种对高温、低氧、毒素和其他有害刺激的非常保守的生物反应是合成并积累热休克蛋白和其他的应激蛋白。Brown 等 1993 年和 Tirard 等 1995 年分别证明原生动物的寄生和热休克可促进美洲牡蛎血细胞内应激蛋白的合成, 并研究了其结构和功能。Sandens 1993 年认为, 这些应激蛋白确保了双壳贝类在受环境因子胁迫过程中及胁迫后能生存并恢复其正常的功能。

参考文献

- 1 孙虎山, 李光友. 中国水产科学, 1999, 6(2): 9~13
- 2 孙虎山, 李光友. 中国水产科学, 1999, 6(4): 6~9
- 3 孙虎山, 李光友. 海洋与湖沼, 2000, 31(3): 259~265
- 4 孙虎山, 李光友. 海洋科学, 1999, 5: 40~43
- 5 孙虎山, 李光友. 海洋科学, 1999, 4: 54~58
- 6 牟海津等. 中国水产科学, 1999, 6(2): 33~36
- 7 Anderson R. S. J. Shellfish Res., 1996, 15(1): 127~134

(本文编辑: 李本川)