



# 软体动物血细胞及体液免疫研究进展\*

翟玉梅 丁秀云 李光友<sup>†</sup>

(山东大学生物系 济南 250100)

<sup>†</sup>(国家海洋局第一海洋研究所 青岛 266003)

**提要** 依据 70—90 年代部分资料,对软体动物血细胞及体液免疫研究进行简介评述。已有的资料表明,在软体动物中,如双壳类动物,其机体防御反应、血细胞是主要的作用因素,主要依赖于血细胞的吞噬、包裹、形成细胞结等细胞免疫反应,但对于血细胞的分类及各自的功能尚无定论。软体动物的体液免疫,是非特异性的血淋巴中的一些酶及调节因子,如溶菌酶、葡糖苷酶、凝集素等,发挥重要作用。同时,软体动物中 $\alpha_2$ -巨球蛋白的发现在研究体液免疫的进化中具有重要意义。

**关键词** 软体动物 血细胞 体液免疫  $\alpha_2$ -巨球蛋白 凝集素 溶菌酶 鲍

**学科分类号** Q24

关于软体动物病害的研究,国内外尤其国内均起步较晚。近年来,随着工厂化养殖规模的扩大,鲍养殖技术日趋成熟,但病害成了制约鲍养殖发展的关键因素。由于病害,在育苗和成鲍的养殖过程中常有大量的幼鲍和成鲍死亡,从而影响了鲍的生产。国内外学者在鲍的养殖和病害防治方面进行了有益的探索,但关于鲍自身免疫系统抗病能力的研究较为少见。鲍是软体动物门腹足纲动物,与其它软体动物如双壳类的动物有许多共同点。因此,软体动物免疫系统的组成、结构,及对外来刺激物反应方面的研究成果,对鲍的免疫研究具有重要参考作用。本文依据 70 年代以来国内外有关文献,就软体动物血细胞分类以及体液免疫等成果予以简评,以为鲍的人工养殖及病害防治提供科学依据。

## 1 软体动物血细胞结构、分类及免疫学研究

关于软体动物血细胞的研究,主要集中于双壳类。目前,由于不同的学者运用不同的材料,采用不同的方法,根据不同的特点进行分类、描述,因此,对软体动物血细胞的结构和分类尚无统一标准。Moore 等(1977)根据血细胞超微结构和对染色反应的不同,将贻贝(*Mytilus edulis*)血细胞分成两大类:嗜碱性细胞(basophilic hemocytes),无颗粒;嗜酸性细胞(eosinophilic granular hemocytes),有颗粒(granulocytes)。他们将嗜碱性细胞进一步分

\* 国家攀登计划B资助项目,PDB6-6-3号。翟玉梅,女,出生于1940年7月,副教授,Fax: 0086-0531-8902167

收稿日期:1996-09-16,收修改稿日期:1997-03-05

为小淋巴细胞 (small lymphocytes) 和大的吞噬性的巨噬细胞。他们认为,巨噬细胞是主要参与清除外来异物的细胞类型,颗粒细胞也表现出某些吞噬活性,而且由于在颗粒细胞和小淋巴细胞中发现有丝分裂,为此认为这些细胞是嗜碱性细胞系的干细胞。Bayne 等 (1979) 将加州贻贝 (*Mytilus californianus*) 的血细胞分成三种类型:小的嗜碱性细胞、大的嗜碱性细胞和大的颗粒嗜酸性细胞。嗜碱性细胞包含有溶酶体酶,能吞噬胶体碳颗粒;在体外,嗜碱性细胞和嗜酸性细胞都能吞噬这些颗粒。Huffman 等 (1982), 据染色反应的不同将软皮蛤 (*Mya arenaria*) 的血细胞分成两类:颗粒细胞,占 76.5%;非颗粒细胞 (agranulocytes) 占 23.5%。细胞质中的颗粒,有嗜酸性的、嗜碱性的和折光性的。Foley 等 (1972)、Cheng 等 (1974), 将 *Crassostrea virginica* 和 *Mercenaria mercenaria* 的血细胞分为三类:透明细胞 (hyalinocytes)、纤维细胞 (fibrocytes) 和颗粒细胞 (granulocytes), 他们认为,这三类细胞参与不同的反应。从对双壳类血细胞的分类可以看出,在双壳类动物中,尽管在不同的种,用不同的标准,将血细胞分成不同的类型,但其主要依据是血细胞中颗粒的有无及对染色的反应。在腹足纲动物中,对血细胞的研究较少。李太武等 (1995)<sup>1)</sup> 据染色结果,将皱纹盘鲍 (*Haliotis discus Hanai*) 血淋巴中的细胞分为三类:第一种细胞大,圆球状,核较小,细胞质中颗粒多;第二种细胞较大,卵圆形,核较大,细胞质中颗粒少,较透明;第三种细胞较小,圆形,核圆形,染色深,胞质少,较透明。其中,前两种具有吞噬能力。当外界条件改变,尤其是动物受到外界抗原物质刺激时,腹足动物的主要表现就是吞噬反应和炎症反应 (Cheng, 1983), 而且,其血细胞吞噬外来异物时,清除的速率大小取决于细胞表面的特征,即首先发生识别 (Reneratz *et al.*, 1981), 吞噬反应的强度是由外来颗粒的表面特征和调理因子共同控制的 (Anderson *et al.*, 1976)。由于缺乏特异性免疫系统,所以细胞的吞噬作用在软体动物的免疫中起重要作用。Reade 等 (1972)<sup>2)</sup> 对 *Tridacna maxima* 蛤血细胞的吞噬作用的研究表明,快速延伸和具有皱膜活动的细胞,能吞噬注射到动物体内的碳粒。李太武等 (1995)<sup>1)</sup> 的实验表明,皱纹盘鲍血细胞具有吞噬外来抗原的作用。按 Balouet 等 (1985)<sup>3)</sup> 的观点,双壳类动物血管内和间质的两类血细胞与下面两种反应类型有关系:当外界条件改变尤其是存在有机污染 (石油污染) 时,颗粒细胞参与反应,可发现大量颗粒细胞聚集;当有寄生虫侵入时会更明显,大量颗粒细胞聚集成内芽瘤或形成包绕寄生虫的包裹。而透明细胞在造血作用中很重要,造血组织中瘤状物的增生来源于透明细胞。Mohandas 等 (1985) 用扫描电镜的方法和 Cheng 等 (1975) 的实验表明,在受到细菌刺激时, *M. mercenaria* 的颗粒细胞在吞噬外来细菌的过程中,将溶菌酶释放到血清中,可见血细胞不仅直接参与吞噬反应,还释放水解酶类到血淋巴中参与体液免疫;同时,炎症反应的第一步是细胞反应, *Crassostrea gigas* 牡蛎的颗粒细胞,由于它们具活跃的吞噬能力,因而是参与炎症反应中最重要的细胞类型 (Pauley *et al.*, 1966)。关于炎症反应的机制,Cheng (1983) 认为,溶菌体及其释放出的溶菌酶在炎症反应中起核心作用。

综上所述,对软体动物血细胞及免疫性虽开展了一些研究,但对血细胞的超微结构及细胞吞噬作用的机理还有待于进一步探讨。

1) 李太武等, 1995. 皱纹盘鲍稚鲍死因及脓疱病的综合分析及防治

2) Reade P, Reade E, 1972. J Reticuloendothel Soc, 12:349—360

3) Balouet G, Poder M, 1985. Fish and Shellfish Pathology, 8:381—384

## 2 软体动物体液免疫研究及 $\alpha_2$ -巨球蛋白的发现

由于软体动物缺乏免疫球蛋白,所以其体液免疫是依靠血清中的一些非特异性的酶或因子来进行的。这一点不同于高等动物。溶菌酶(lysozyme, EC. 3.2.1.17)是非特异性免疫系统的重要成员,在无脊椎动物免疫中起重要作用。许多学者在软体动物中检测到溶菌酶的存在(Cheng *et al*, 1974, 1975; Rodick *et al*, 1974)。Cheng等(1975)的实验表明,*M. mercenaria* 蛤在受到 *B. megaterium* 细菌刺激时,会使活跃吞噬的血细胞将溶菌酶释放到血清中,与在腹足类 *Biomphalaria glabrata* 中得到的结果类似(Cheng *et al*, 1976a, b)。他们认为,溶菌酶作为一种体液防御因子释放到血清中,代表着机体对抗入侵生物的一种体液防御机制。Cheng等(1976a, b; 1978a, b)的实验表明,在受到细菌刺激的一些软体动物血细胞和血淋巴中,水平升高的几种溶酶体酶特别是溶菌酶,不仅使细胞壁溶解,还能部分或全部抑制外来病菌的存活或正常发育。Cheng等(1979)的研究表明,在受到 *B. megaterium* 细菌刺激的软体动物 *B. glabrata* 血淋巴中,其酸性磷酸酶活性升高;血淋巴中酶的选择性增加,同细菌清除率、不同注射时间和不同注射时间间隔的免疫反应有关系(Ottaviani, 1986)。Cushing等(1971)用一种革兰氏阴性菌 EMB-1作诱导源,对红鲍、粉红鲍、黑鲍进行注射诱导,研究它们的免疫反应。其结果表明,不仅溶菌酶而且在体液中还发现了其它与免疫有关的酶和因子。Yoshino等(1977)及 Cheng等(1978a, b),分别对未经细菌刺激的和经过细菌刺激的 *B. glabrata* 血淋巴中氨肽酶活性进行了研究,指出,在血清中氨肽酶含量最高,其功能可能与在吞噬前降解血清蛋白中外来蛋白有关。Cheng等(1976a, b)对 *M. mercenaria* 和 *C. virginia* 血清和血细胞中 $\beta$ -葡萄糖苷酶的研究表明,这种酶可能通过作用于敏感的入侵细菌,在内部防御中起作用;同时,软体动物体液免疫中还有一类起调理素作用的因子凝集素(lectin),它可促进病原体和宿主细胞的相互作用(Tyson *et al*, 1974; Pauley *et al*, 1966)。凝集素不仅在血细胞吞噬中起调理作用(Anderson *et al*, 1976),而且还具有杀菌作用(孙册, 1986)。

Armstrong等(1985)和 Quigley等(1983, 1985)以 *Limulus polyphemus* 鲎为材料,深入研究其血细胞的形态、附着、运动特点及凝血过程的机制,并且在鲎及蟹 *Cancer borealis* 的血浆中发现了同哺乳动物体内 $\alpha_2$ -巨球蛋白( $\alpha_2$ -macroglubin)结构及功能相似的内肽酶抑制因子;Armstrong又首次在软体动物的双壳纲、腹足纲和头足纲动物的血浆中发现了 $\alpha_2$ -巨球蛋白,该蛋白是一种蛋白酶结合蛋白,它能保护蛋白酶不受活性位点蛋白酶抑制因子的作用。蛋白酶参与生理(如凝血)和病理(如炎症、肿瘤的浸润)等反应过程。内环境中特殊蛋白酶具有破坏性, $\alpha_2$ -巨球蛋白通过自身构象的变化阻止蛋白酶与外环境中的大分子相互作用,清除蛋白酶活性。软体动物血浆中 $\alpha_2$ -巨球蛋白的发现,是软体动物中以 $\alpha_2$ -巨球蛋白为基础的免疫系统存在的一个证据,在体液免疫进化研究中具有重要意义。

## 3 结语

对于鲍自身免疫系统的组成、特点、功能的研究,国内外几乎是空白。在这方面,可以借鉴于双壳类、腹足类及其它软体动物血细胞及体液免疫的研究成果进行探讨和研究。软体动物血细胞的研究表明,血细胞是机体防御反应中起主要作用的因素。机体免疫反应主要依赖于血细胞的吞噬、包囊、形成细胞结等细胞免疫反应,但对于血细胞的分类及各自的功能尚无定论。软体动物的体液免疫是非特异性的血淋巴中的一些酶及调节因

子,如溶菌酶、 $\beta$ -葡糖苷酶、凝集素等,在软体动物的体液免疫中发挥重要作用。同时,软体动物中 $\alpha_2$ -巨球蛋白的发现,在研究体液免疫的进化中具有重要意义。所以,弄清鲍自身免疫系统的结构、特点及其它对外来异物反应的机理,具有重要的理论和实践意义。

### 参 考 文 献

- 孙册,1986. 凝集素. 北京:科学出版社. 86
- Anderson R S, Good R A, 1976. Opsonic involvement in phagocytosis by mollusk hemocyte. *J Invertebr Pathol*, 27:57—64
- Armstrong P B, Quiley J P, 1985. An  $\alpha_2$ -macroglobulinlike activity in the blood of cheliverate and mandibulate arthropods. *J Exp Zool*, 236:1—9
- Bayne C J, Moore M N, 1979. Hemolymph functions in *Mytilus californianus*: the cytochemistry of hemocytes and their response to foreign implants and hemolymph factors in phagocytosis. *J Invertebr Pathol*, 34: 1—20
- Cheng R V, Cali A, 1974. A Electron Microscope Study of the Fate of Bacteria Phagocytized Granulocytes of *Crassostrea virginica*. In: Cooper E L ed. Contemporary Topics in Immunology, Vol.4. New York, London: Plenum. 25—35
- Cheng T C, Rodick G E, Foley D A, 1975. Release of lysozyme from hemolymph cell of *Mercenaria mercenaria* during phagocytosis. *J Invertebr Pathol*, 25:261—265
- Cheng T C, Yoshino T P, 1976a. Lipase activity in the hemolymph of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) challenged with bacterial lipids. *J Invertebr Pathol*, 27:143—146
- Cheng T C, 1976b. Beta-glucuronidase in serum and hemolymph cells of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica* (Mollusca Pelecypoda). *J Invertebr Pathol*, 27:125—128
- Cheng T C, 1978a. Aminopeptidase and lysozyme activity levels and serum protein concentrations in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) challenged with bacteria. *J Invertebr Pathol*, 32:297—302
- Cheng T C, Kian Joe Lie, Donald Heyneman, 1978b. Elevation of aminopeptidase activity in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca) parasitized by *Echinostoma lindoense* (Trematoda). *J Invertebr Pathol*, 31:57—62
- Cheng T C, Butler M S. 1979. Experimentally induced elevations in acid phosphatase activity in hemolymph of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca). *J Invertebr Pathol*, 34:119—124
- Cheng T C, 1983. The role of lysosomes in molluscan inflammation. *Smer Zool*, 23:129—144
- Cushing J E, Evens E E, Evans M L, 1971. Induced bacterial responses of Abalones. *J Invertebr Pathol*, 17: 446—448
- Foley D A, Cheng T C, 1972. Interaction of molluscs and foreign substances: the morphology and behavior of hemolymph cells of the American Oyster, *Crassostrea virginica*, *in vitro*. *J Invertebr Pathol*, 19:383—394
- Huffman J E, Tripp M R, 1982. Cell types and Hydrolytic enzymes of soft shell clam (*Mya arenaria*) hemocytes. *J Invertebr Pathol*, 37:181—187
- Mohandas A, Cheng T C, 1985. An electron microscope study of the structure of lysosomes released from *Mercenaria mercenaria* granulocytes. *J Invertebr Pathol*, 46:187—189
- Moore M N, Lowe D M, 1977. The cytology and cytochemistry of hemocytes of *Mytilus edulis* and their response to experimentally injected carbon particles. *J Invertebr Pathol*, 19:18—30
- Ottaviani E, 1986. Kinetics of bacterial clearance and selected enzyme activities in serum and haemocytes of the fresh water snail *Planorbis corneus* (L) (Gastropoda, Pulmonata) during the primary and secondary response to *Staphylococcus aureus*. *Comp Biochem Physiol*, 85A(1):91—95
- Pauley G B, Sparks A K, 1966. The acute inflammatory reaction in two different tissues of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *J Fish Res Bd Canaels*, 23(12):1 913—1 921

- Quigley J P, Armstrong P B, 1983. An endopeptidase inhibitor, similar to mammalian  $\alpha_2$ -macroglobulin, detected in the hemolymph of an invertebrate, *Limulus polyphemus*. *J Bio Chem*, 258(13):7 903—7 906
- Quigley J P, Armstrong P B, 1985. A homologuse of  $\alpha_2$ -macroglobulin purified from the hemolymph of the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *J Bio Chem*, 260(23):12 715—12 719
- Renertz L, Schancke W, Harm H *et al*, 1981. Discriminative ability and function of the immunobiological recognition system of the snail *Helix pomatia*. *J Comp Physiol*, 141:477—488
- Rodick G E, Cheng T C, 1974. Activities of selected hemolymph enzymes in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca). *J Invertebr Pathol*, 24:41—48
- Tyson C J, Jenkin C R, 1974. Phagocytosis of bacteria *in vitro* by haemocytes from the brayfish (*Parachaeraps bicarinatus*). *Aust J Exp Bio Med Sci*, 52:341—348
- Yoshino T P, Cheng T C, 1977. Amino-peptidase activity in the hemolymph and body tissues of the Pulmonate gastropod *Biomphalaria glabrata*. *J Invertebr Pathol*, 30:76—79

## PROGRESS ON THE HEMOCYTE AND HUMORAL IMMUNITY OF MOLLUSCA

ZHAI Yu-mei, DING Xiu-yun, LI Guang-you<sup>†</sup>

(Department of Biology, Shandong University, Jinan, 250100)

<sup>†</sup>(First Institute of Oceanology, State Oceanic Administration, Qingdao, 266003)

**Abstract** Studies on the blood cell and humoral immunity of Mollusca are reviewed based on the datasets for Gastropoda and Pleleryploda collected in the 1970s, 1980s and 1990s, for the purpose of preventing and controlling virus diseases of *Haliotis*. The study shows that the blood cell is the major immune factor and the reaction depends mainly on the blood cell phagocytosis and the formation of cell duster, but uncertainties with regard to the differentiation of the blood cells and the roles played by the cells. The humoral immunity of Mollusca is unspecialized. Some enzymes and regulatory factors in haemolymph, such as lysozyme-glucosidase and lectin, play an important role in the humoral immunity, and the diacybery  $\alpha_2$ -macroglobulin in Mollusca is important in the study of the evolution of humoral immunity.

**Key words** Mollusca Hemocyte Humoral immunity  $\alpha_2$ -macroglobulin Lectin  
Lysozyme *Haliotis*

**Subject classification number** Q24