

文章编号: 1004-7271(2005)03-0301-06

·综述·

虾类免疫系统组成及免疫机理探讨

The composition of immune system and immune mechanism in shrimps

黄旭雄, 周洪琪, 蔡生力

(上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

HUANG Xu-xiong, ZHOU Hong-qi, CAI Sheng-li

(College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

关键词: 虾类; 免疫系统; 免疫机理

Key words: shrimps; immune system; immune mechanism

中图分类号: S 917 文献标识码: A

研究对虾免疫系统和免疫机理, 有效提高对虾自身抗病力, 被认为是解决虾病暴发的根本途径之一。本文就虾类免疫系统及免疫机理研究作一综述, 以为开展虾类免疫防病工作提供理论基础。从免疫进化角度, 虾类的免疫系统仅由遗传控制的组织相容性反应和中胚层起源的效应细胞组成, 不具备T、B淋巴细胞、免疫球蛋白等免疫效应因子。虾类不具备获得性免疫(adaptive/acquired immunity), 仅有天然免疫(innate immunity)^[1,2]。虾类免疫防御系统由基本防御屏障(甲壳和表皮)、细胞防御屏障和生理防御屏障3部分组成。

1 细胞防御屏障

血淋巴细胞是虾类免疫系统最为重要的组分, 虾免疫功能(包括识别、吞噬、黑化、细胞毒和细胞间信息传递)主要通过血淋巴细胞来完成^[3]。许多非细胞免疫因子, 都直接或间接与血淋巴细胞有关。血淋巴细胞的数量和组成可反映虾免疫机能状况^[4]。对虾类血淋巴细胞进行的大量研究^[3,5-9]表明, 不同类型的血淋巴细胞在虾免疫系统所起的作用不同(表1)。其中吞噬作用是最重要的细胞防御反应。吞噬过程包括: 异物的识别, 粘连, 聚集, 摄入, 清除等。对异物的识别是由该异物的表面性质(如LPS, PG, β -葡聚糖等)和血淋巴细胞膜上的专一性受体(如LPS结合蛋白, BGBP, 凝集素等)共同决定的; 粘连则可能是由血淋巴细胞分泌的一种附着因子(76 kD蛋白)所介导^[10]。这种附着因子以无活性状态存在于大颗粒细胞和小颗粒细胞中, 活化后的附着因子还能促进血淋巴细胞的吞噬作用; 血淋巴细胞与异物粘连后相互聚集而形成细胞团, 随即对异物进行摄入和清除^[8]。在异物的吞噬过程中, 不同的血淋巴细胞协同发挥作用: 透明细胞在光滑表面有强烈的附着和扩散能力, 具有较强的吞噬能力^[5], 它不受外来溶解物(如脂多糖)的影响, 但在体外活化的酚氧化酶原系统组分可以激活这种细胞的吞噬能

收稿日期: 2004-04-01

基金项目: 上海水产大学校长基金资助(科03-15)

作者简介: 黄旭雄(1971-), 男, 浙江浦江人, 副教授, 在读博士研究生, 主要从事水产动物营养与饵料研究。E-mail: xxhuang@shfu.edu.cn

力^[11]。小颗粒细胞只有在脱颗粒之后才具有吞噬活性,在离体条件下对外源物质非常敏感,极易脱颗粒,释放酚氧化酶组分^[5,11]。小颗粒细胞是免疫防御反应中起关键作用的细胞^[3,5,6]。大颗粒细胞的颗粒内含有大量的酚氧化酶原,这类细胞无吞噬能力,附着及扩散能力弱,经脂多糖处理不发生胞吐作用,但用活化的酚氧化酶原系统的组分处理可使之迅速发生胞吐作用,释放大量的活性酚氧化酶^[5,11],进而促进透明细胞的吞噬作用。

表 1 虾类血淋巴细胞的免疫功能

Tab.1 The immune function of shrimp's haemocytes

细胞类型	免疫功能
透明细胞	吞噬作用 ^[3] ,参与血淋巴凝固 ^[7] ,伤口修复 ^[12]
小颗粒细胞	包掩作用,有限的吞噬作用,储存和释放酚氧化酶原激活系统,细胞毒作用 ^[3]
大颗粒细胞	储存和释放酚氧化酶原激活系统,细胞毒作用 ^[3] ,伤口修复 ^[12]

2 生理防御屏障

虾类的生理防御屏障,通常将其统称为非细胞免疫因子或体液免疫因子。

2.1 酚氧化酶原激活系统

酚氧化酶原激活系统(proPO 系统)是虾类重要的识别与防御系统,是一种与脊椎动物补体系统类似的酶级联系统,该系统中的因子以非活化状态存在于血淋巴细胞的颗粒中^[13-16]。对入侵异物发生免疫反应的关键是对异物的初始识别,在高等动物中,此初始识别过程由抗体、T 淋巴细胞和补体途径完成,而对虾类而言,由 proPO 系统组成的类补体途径在宿主免疫过程中充当了重要的角色。极微量的微生物多糖(如 β -1,3-glucan, LPS, PG 等)以及胰蛋白, SDS 等就可激活 proPO 系统。活化过程中产生一系列的活性物质,可通过多种方式参与宿主的防御反应,包括提供调理素,促进血淋巴细胞吞噬作用,包囊作用和结节形成,以及介导凝集和凝固,产生杀菌物质等。研究结果还发现 proPO 系统的成分直接参与细胞间信息的传递^[14,17]。

2.1.1 proPO 系统中重要的蛋白质及其功能

β -1,3-葡聚糖结合蛋白(BGBP) BGBP 是虾类免疫系统中 3 类重要的非己识别蛋白之一,存在于血淋巴细胞和血淋巴中,在螯虾 *Procambarus clarkii* 中,其分子量为 100 kD,而在螯虾 *Astacus astacus* 中,存在分子量分别为 105 kD 和 95 kD^[18],对 BGBP 氨基酸组成分析结果表明,BGBP 富含 Asx 和 Glx,而 Met 和 His 的含量很少。对多种虾类的 BGBP 的 N 端氨基酸序列分析表明,其序列具有高度的保守性^[19]。一般认为 BGBP 和 LPS 结合蛋白一样,具有两个生物学功能位点,其中一个位点能与微生物成分相结合,另一个位点能与虾血细胞上的相应配体结合,且后一位点只有在前一位点已发生结合时才具生物学活性。这样既能满足识别非己物质并产生免疫反应的需要,又能防止无外物攻击时产生自身免疫性反应。来自螯虾的 BGBP 都为酸性蛋白质,本身不具任何酶活性。 β -葡聚糖(β G)对大颗粒细胞无直接作用,但 β G 与 BGBP 相结合后,结合物可同大颗粒细胞表面的相应受体结合,引起一系列细胞反应。BGBP 与 β G 结合后,能够激活 proPO 系统的活性^[17];能够引起大颗粒细胞中 proPO 系统的释放和介导血淋巴细胞在病原体表面的扩张;结合有 β G 的 BGBP 还可作为一种调理素,刺激离体血淋巴细胞吞噬吸收酵母颗粒^[20]。

另外两类重要的识别蛋白分别是肽葡聚糖识别蛋白和 LPS 结合蛋白(为一凝集素家族的分子),这些物质皆组成性地表达在虾体内^[19],具有与 BGBP 类似的生物学功能。

BGBP 受体 存在于血淋巴大颗粒细胞的细胞膜上,分子量为 350 kD,能够与结合有 β G 的 BGBP 蛋白起作用,参与细胞内外的信息传递。

76 kD 蛋白(Peroxinectin) 分子量为 76 kD,以非活化状态存在于有颗粒细胞中,伴随 proPO 系统

的激活而活化。76 kD 蛋白具有多种功能^[14,21]: 1) 在体外, 可作为血淋巴细胞附着因子, 在钙离子存在时, 可促进血淋巴细胞附着于玻片上; 2) 具有调理素活性和促包囊形成活性, 起到增强血淋巴细胞结合、吞噬病原体的作用; 3) 可通过胞吐作用引起大颗粒细胞和小颗粒细胞的脱颗粒作用; 4) 参与细胞间信息传递, 使机体有效调动免疫系统对抗异物入侵; 5) 具有过氧化物酶的活性。

酚氧化酶原激活酶(ppA) 主要存在于有颗粒细胞内, 分子量为 36 kD, 是一种丝氨酸蛋白酶, 可通过蛋白水解作用将 proPO 裂解为 60 kD 和 62 kD 的两种具有酚氧化酶(PO)活性的酶分子, 从而激活 proPO 系统。ppA 本身可能还具有抗微生物活性^[21]。

酚氧化酶原(proPO) proPO 是 PO 的前体。主要存在于大颗粒细胞内, 少量存在于小颗粒细胞内。不同来源的 proPO 分子量不同, 用 SDS-PAGE 从螯虾 *Pacifastacus leniusculus* 和加州对虾 *Farfantepanaeus californiensis* 中纯化的 proPO 分子量分别为 76 kD^[22] 和 114 kD^[23], 根据氨基酸序列推测的斑节对虾 *Penaeus monodon* 的 proPO 分子量分别为 78.7 kD^[24]。对 proPO 的氨基酸序列分析后发现, 虾类的 proPO 具有与脊椎动物的补体成分 C3, C4 和 α -巨球蛋白相同的硫酯样基序(GCGWPQHM)^[24]。在体外试验中, 胰蛋白酶可激活对虾的 proPO^[25]。

酚氧化酶(PO) 主要存在于血浆中, 有 60 kD 和 62 kD 的两种形式。已证实 PO 至少有两种免疫功能^[26]: ①参与黑色素的形成, 可将单酚羟基化形成二酚, 二酚进一步氧化生成醌; ②作为一种识别系统的成分诱导宿主防御系统中其他成分的产生。酚氧化酶还可作为调理素, 促进透明细胞的吞噬作用。

除此之外, proPO 系统中还存在一些蛋白酶抑制剂, 如胰蛋白酶抑制剂和类 α -巨球蛋白。类 α -巨球蛋白存在于血浆中, 单体分子量为 190 kD, 在虾类中通常以二聚体形式存在。类 α -巨球蛋白能部分抑制 ppA 的活性, 分子量为 155 kD 的胰蛋白酶抑制剂可有效抑制 ppA 的活性, 从而能调节 proPO 系统的激活, 并参与溶解外源细胞。

2.1.2 proPO 系统释放和被激活的调控机制

根据已有的文献^[13,14,19,21], 推测由异物入侵引起的 proPO 系统释放和被激活的调控模式如下:

当微生物或寄生虫等侵入宿主体时, 其体表的成分(如 β -葡聚糖, 肽葡聚糖和 LPS 等)作为异己信号, 一方面直接作用于小颗粒细胞, 诱导其产生胞吐作用, 释放少量 proPO 系统的组分 proPO 和 proppA(无活性的酚氧化酶原激活酶原)于细胞膜上; 另一方面异物体表的成分与相应的识别蛋白相结合, 形成异物-识别蛋白结合物, 此结合物与大颗粒细胞膜上的异物-识别蛋白结合物的受体相结合, 将异物入侵信号传入大颗粒细胞, 使大颗粒细胞胞吐 proPO 和 proppA 于细胞膜上。异物-识别蛋白结合物也可作用于细胞膜上的 proppA, 使之成为有活性的酚氧化酶原激活酶(ppA), ppA 在调节因子(蛋白酶抑制剂)的调节下, 可按需将 proPO 激活, proPO 经过有限水解去掉一个分子量为 5 kD 的肽链而形成有活性的酚氧化酶 PO 进入血淋巴^[27], 酚氧化酶将酚氧化成醌, 醌自发生成最终产物——黑色素。激活的 proPO 系统的组分同时还可将非活性的 76 kD 蛋白转变成有活性的 76 kD 蛋白, 后者一方面可促进血淋巴细胞对入侵异物的包囊作用, 另一方面又可正反馈调节小颗粒细胞和大颗粒细胞胞吐 proppA。由于 proPO 系统主要存在于有颗粒的细胞中, 因此, BGBP 和 76 kD 蛋白就成为控制 proPO 系统释放的重要物质。通过 proPO 系统形成的黑色素及其形成过程中的中间产物皆为高活性物质, 可抑制病原体胞外蛋白酶和几丁质酶的活性, 从而在伤口愈合、抑制甚至杀死病原体方面发挥着重要的作用^[14]。

2.2 凝集素

不同虾体内存在多种能使细菌、脊椎动物红细胞、寄生虫等发生凝集的因子, 称为凝集素^[1]。其实质是一类糖蛋白, 具有结构异质性和异物结合位点的特异性, 对热不稳定, 其活性需钙离子激活, 其作用类似脊椎动物的抗体, 是虾类体内的另一类免疫识别因子。目前已从虾蟹中发现了近 30 种凝集素^[28]。研究表明虾类凝集素由血淋巴细胞合成。除血清中有一定的凝集素外, 血淋巴细胞的凝集素主要存在于透明细胞上^[7]。美洲螯龙虾的凝集素首先出现在血淋巴细胞和血淋巴内, 血淋巴细胞内活性较高, 而血淋巴内活性较低。中国对虾的凝集素主要分布在血淋巴液和血淋巴细胞中, 由 2 个亚基组成, 分子量分别为 80 kD 和 75 kD, 可凝集多种脊椎动物的红细胞。一些常用的能抑制昆虫凝集素活性的单糖不能

抑制中国对虾凝集素的活性,钙离子也不影响中国对虾的凝集活性^[29,30]。凝集素借助其分子上的糖基与细胞表面相应的糖基受体相结合,形成细胞间桥梁,导致细胞被凝集^[31]。凝集素在虾类免疫防御过程中,具有三种功能:1)清除杂物功能,在虾类变态期间,参与清除机体不必要的细胞,组织片段或残余物。2)参与识别——防御机制,在虾类体内凝集素具有高度的调理作用,能专一性的结合在非己颗粒的表面,而且还能与吞噬细胞表面的受体相结合,从而象脊椎动物的补体系统的 C3b 成分和免疫球蛋白的 Fc 片段那样促进吞噬作用^[28]。凝集素的这种调理作用可能通过如下二种机制完成:①当凝集素与非己物质结合后引起凝集素分子结构发生变化,使其第二活性位点能与血细胞膜上的受体位点结合;②某些凝集素本身就是膜结合凝集素。此外,凝集素能促进血淋巴细胞活化,诱导血淋巴细胞中各种酶(如 proPO 系统成分)的活化和释放,从而将入侵异物灭活。3)参与其他活动功能,参与止血、凝固、胞囊、微生物中和作用直至创伤修复等,以保障机体健康。

2.3 可凝固蛋白

可凝固蛋白(clottable protein, CP)是虾类血淋巴内不同于凝集素的又一类免疫防御分子,已在多种虾蟹体内被发现^[32-34]。已知 CP 为一糖蛋白,分子量为 380~400 kD。不同虾类的 CP 具有相似的氨基酸组成和 N 端序列^[32]。螯虾的 CP 由 2 个相同的亚基通过二硫键组成,每个亚基各含一个游离的赖氨酸和谷氨酰氨。CP 不与外界异物直接起作用,但当虾受伤,在血细胞(尤其是透明细胞和小颗粒细胞)释放的谷氨酰氨转移酶(TGases)和血浆钙离子存在时,不同 CP 分子之间的游离赖氨酸和谷氨酰氨之间形成共价键,从而使虾类的血淋巴发生凝固,防止机体血淋巴的流失。

2.4 细胞毒活性氧

虾类血淋巴细胞在吞噬侵入体内的病原微生物后,会产生呼吸暴发现象,释放有毒性的活性氧,包括过氧化氢,羟自由基和单线态氧等产物^[35,36]。这些物质具有强有力的杀菌作用。Bell 和 Smith^[36]认为透明细胞是产生细胞毒活性氧的场所,而小颗粒细胞和大颗粒细胞不产生活性氧。有关细胞毒活性氧产生的详细机理及体内的杀菌机制尚不甚清楚。呼吸暴发的活力与对虾的生存环境和抗病力均有关^[37]。

2.5 抗微生物多肽

抗微生物多肽是动物界中广泛存在的一种宿主防御机制。对虾素(Penaeidins)是虾类中研究最多的一类抗微生物多肽,血淋巴细胞是对虾素产生和存储的场所,机体产生应激反应时可将对虾素从血细胞中释放到血淋巴中。从南美白对虾中分离得到的 3 种对虾素由 50~62 个氨基酸残基组成,其氨基端有一富含脯氨酸的结构域并存在翻译后的修饰过程,羧基端含有由 6 个半胱氨酸残基形成的 3 个分子内的二硫键,这两个特征在 3 种对虾素中具有高度的保守性^[38]。有关这些结构域在对虾素分子内的详细功能不是很清楚。推测对虾素富含脯氨酸的氨基端结构域可能同对虾素与目标微生物的细胞膜的识别和相互作用有关^[39]。对虾素具有广泛的抗微生物作用,包括抗革兰氏阳性细菌和抗真菌^[40]。对虾素抗细菌作用表现为在细菌膜上形成孔洞从而使菌膜裂解的快速杀菌作用,而抗真菌作用则通过抑制丝状真菌的孢子的萌发和菌丝的生长而实现^[39]。此外,研究还表明,对虾素还具有结合几丁质的性能^[39]。

2.6 溶血素

在日本对虾和中国对虾的体内都曾发现能对鸡红细胞产生溶血作用的溶血素活性^[41,42]。这种溶血作用是由溶血素与血细胞表面的特异性糖链结合后,使细胞膜发生溶解造成的。机体溶血素活性的高低反映了机体识别和排除异种细胞能力的大小。其作用可能类似于脊椎动物的补体系统,可溶解破坏异物细胞,参与调理作用,能溶解革兰氏阳性菌,并可能与酚氧化酶原的激活系统有关^[43]。

2.7 溶酶体酶

溶酶体酶主要源于血淋巴细胞和血淋巴,研究较多的有溶菌酶,碱性磷酸酶和酸性磷酸酶,过氧化

物酶,超氧化物歧化酶等。这些酶的活性和水平在某种程度上与生物体的健康状况及免疫水平密切相关^[44-47]。因此其活性的变化可衡量动物的免疫状态。

2.8 消化酶

对虾的消化道内的消化酶对混杂在食物中的病菌及寄生虫也具有一定的杀灭降解作用。

虾类免疫学研究在近几年取得了较大的发展,但从分子水平阐述虾类的详细免疫机理,特别是免疫分子与异物之间的作用机制,仍是今后研究的重点。同时,客观准确的评价虾的免疫状况,筛选高效免疫刺激剂及其使用方法,也是开展虾类免疫防病的重要环节。

参考文献:

- [1] Smith V J, Chisholm J R S. Non-cellular immunity in crustaceans[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1992, 2: 1-31.
- [2] 罗日祥. 中国对虾凝集素活力及弧菌的诱导动力学[J]. *海洋学报*, 1997, (4): 117-120.
- [3] Johansson M W, Keyser P, Sritunyalucksana K, et al. Crustacean haemocytes and haematopoiesis[J]. *Aquaculture*, 2000, 191 (1-3): 45-52.
- [4] Jussila J, Jago J, Tsvetnenko El, et al. Total and differential haemocyte counts in western rock lobsters (*Paralimnodynastes cygnus* George) under post-harvest stress[J]. *Marine and Freshwater Research*, 1997, 48 (8): 863-867.
- [5] 李光友. 中国对虾疾病与免疫机制[J]. *海洋科学*, 1995, (4): 1-3.
- [6] 李光友, 王青. 中国对虾血淋巴细胞及其免疫研究[J]. *海洋与湖沼*, 1995, 26(6): 591-597.
- [7] Hose J E, Martin G, Gerard A S. A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function[J]. *Biol Bull*, 1990, 178: 33-45.
- [8] 徐海圣, 徐步进. 虾类细胞及体液免疫机理的研究进展[J]. *大连水产学院学报*, 2001, 16 (1): 49-56.
- [9] 王建平, 吴雄飞. 虾类血淋巴细胞及体液免疫的研究现状[J]. *浙江海洋学院学报(自然)*, 2000, 19 (4): 354-360.
- [10] Joheansson M W, Söderhäll K. Isolation and purification of a cell adhesion factor from crayfish blood cells[J]. *Cell Biology*, 1988, 106: 1795-1803.
- [11] Söderhäll K, Smith V J, Johansson M W. Exocytosis and uptake of bacteria by isolated haemocyte populations of two crustaceans: evidence for cellular cooperation in the defense reactions of arthropods[J]. *Cell Tissue Res*, 1986, 245: 43-49.
- [12] 陈楠生, 等(译). 对虾生物学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992. 31-35.
- [13] Ashida M, Söderhäll K. The prophenoloxidase activating system in crayfish[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1984, 77(1): 21-26.
- [14] 孟凡伦, 张玉臻, 孔健, 等. 虾类中的酚氧化酶原激活系统研究评价[J]. *海洋与湖沼*, 1999, 30(1): 110-116.
- [15] Masaaki A, K S. The prophenoloxidase activating system in crayfish[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1984, 77(1): 21-26.
- [16] Söderhäll K. β -1, 3-glucan enhancement of protease activity in crayfish hemocyte lysate[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1983, 74, (2): 221-224.
- [17] Barracco M A, Duvic B, Söderhäll K. The β -1,3-glucan-binding protein from the crayfish *Pacifastacus leniusculus*, when reached with a β 43 man, induces spreading and degranulation of crayfish granular cells[J]. *Cell Tissue Res*, 1991, 266: 491-497.
- [18] Duvic B, Söderhäll K. β -1,3-glucan-binding protein from plasma of the fresh water crayfishes *Astacus astacus* and *Procambarus clarkii* [J]. *J Crustacean Biology*, 13(3): 403-408.
- [19] Francisco V A, Gloria Y P. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response[J]. *Aquaculture*, 2000, 191(1-3): 13-21.
- [20] Cetenius L, Liang Z, Duvic B, et al. Structure and biological activity of a β -1,3-glucan-binding protein in crustacean blood[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269: 29462-29467.
- [21] Sritunyalucksana K, Söderhäll K. The proPO and clotting system in crustaceans[J]. *Aquaculture*, 2000, 191 (1-3): 53-69.
- [22] Aspán A, Söderhäll K. Purification of prophenoloxidase from crayfish blood cells, and its activation by an endogeneous serine proteinase[J]. *Insect Biochem*, 1991, 20: 709-718.
- [23] Gollas-Galván T, Hernández-López J, Vargas-Albores F. Prophenoloxidase from brown shrimp (*Penaeus californiensis*) hemocytes[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1999, 122 B: 77-82.
- [24] Sritunyalucksana K, Cerenius L, Söderhäll K. Molecular cloning and characterization of prophenoloxidase in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Dev Comp Immunol*, 1999, 23: 179-186.
- [25] Perazzolo L M, Barracco M A. The prophenoloxidase activating system of the shrimp, *Penaeus paulensis* and associated factors[J]. *Dev Comp Immunol*, 1997, 21: 385-395.
- [26] Ahmad S, Leake C J, Ketterman A J. Qualitative difference occur in phenol oxidase activity in anopheles mosquitos refractory to plasmodium[J]. *Biochem Soc Trans*, 1995, 23: 1105.
- [27] 尹丽红, 王琛柱, 钦俊德. 棉铃虫血淋巴酚氧化酶活性的微量测定[J]. *昆虫知识*, 2001, 38 (2): 119-122.

- [28] Marques M R F, Barracco M A. Lectins, as non-self-recognition factors, in crustaceans[J]. Aquaculture, 2000, 191 (1-3) : 23-44.
- [29] 彭其胜, 郭文场, 杨振国, 等. 中国对虾血淋巴液中的凝集素[J]. 中国水产科学, 2001, 7 (4) : 14-18.
- [30] 彭其胜, 郭文场, 杨振国, 等. 中国对虾血淋巴凝集素的血凝活性与促噬活性[J]. 水产学报, 2001, 25 (3) : 197-202.
- [31] 陈皓文, 孙丕喜, 宋庆云. 外源凝集素 - 水产动物御敌的有力兵器[J]. 黄渤海海洋, 1995, 13(3) : 61-71.
- [32] Kopacek P, Hall M, Soderhall K. Characterization of a clotting proteins isolated from plasma of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* [J]. Eur J Biochem, 1993, 213 (1) : 591-597.
- [33] Yeh M S, Chen Y L, Tsai I H. The hemolymph clottable proteins of tiger shrimp, *Penaeus monodon*, and related species[J]. Comp Biochem Physiol, 1998, 121: 169-176.
- [34] Komatsu M, Ando S. A very-high-density lipoprotein with clotting ability from hemolymph of sand crayfish, *Ibacus ciliatus* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1998, 62 (3) : 459-463.
- [35] Munoz M, Cedeno R, Rpdriquez, J, et al. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2000, 191: 89-107.
- [36] Bell K L, Smith V J. *In vitro* superoxide production by hyaline cells of the shore crab, *Carcinus maenas* (L) [J]. Dev Comp Immunol, 1993, 17 : 211-219.
- [37] Moullac L G, Soyez C, Saulnier D, et al. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris* [J]. Fish and Shellfish Immunology, 1998, 8 (8) : 621-629.
- [38] Destoumieux D, Bulet P, Loew D, et al. Penaeidins: a new family of antimicrobial peptides in the shrimp, *Penaeus vannamei* (Decapoda) [J]. J Biol Chem, 1997, 272 : 28398-28406.
- [39] Bachere E, Destoumieux D, Bulet P. Penaeidins, antimicrobial peptides of shrimp: a comparison with other effect of innate immunity [J]. Aquaculture, 2000, 191: 71-88.
- [40] Destoumieux D, Bulet P, Strub J. M, et al. Recombinant expression and range of activity of penaeidins, antimicrobial peptides from penaeid shrimp [J]. Eur J Biochem, 1999, 266 : 335-346.
- [41] 牟海津, 江晓路, 刘树清, 等. 日本对虾溶血素的活性测定及性能研究 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(4) : 362-367.
- [42] 刘 岩, 江晓路, 吕 青, 等. 聚甘露糖酸对中国对虾免疫相关酶活性和溶菌溶血活性的研究 [J]. 水产学报, 2000, 24(6) : 549-553.
- [43] 王 雷, 李光友. 虾类的体液免疫研究进展 [J]. 海洋科学, 1992, (3) : 18-19.
- [44] 丁美丽, 林 林, 李光友, 等. 有机污染对中国对虾体内外环境影响的研究 [J]. 海洋与湖沼, 1997, 28 (1) : 7-11.
- [45] 刘树青, 江晓路, 牟海津, 等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 30 (3) : 278-283.
- [46] 雷质文, 黄 健, 杨 冰, 等. 感染白斑综合症病毒 (WSSV) 对虾相关免疫因子的研究 [J]. 中国水产科学, 2001, 8 (4) : 46-51.
- [47] 刘晓云, 张志峰, 马洪明. 中国对虾血细胞酶细胞化学的初步研究 [J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(2) : 259-265.