

壳聚糖对水生动物免疫能力的影响 及其可能的调节机制

肖伟伟¹ 冯琳^{1,2} 刘扬^{1,2} 姜俊^{1,2} 李树红¹ 周小秋^{1,2*}

(1. 四川农业大学动物营养研究所,雅安 625014;2. 动物抗病营养教育部重点实验室,雅安 625014)

摘要: 壳聚糖能增强水生动物体内杀菌酶类的活性和吞噬细胞的吞噬能力,提高水生动物的非特异性免疫能力。壳聚糖还可以促进抗体生成,提高水生动物的特异性免疫能力。然而目前关于其调节水生动物免疫力的机制尚鲜有报道。根据在陆生动物方面的研究推断,壳聚糖调节动物免疫力的主要机制可能是通过调节免疫细胞中一氧化氮(NO)和前列腺素-2(PGE₂)的生成来增强机体的免疫功能。

关键词: 壳聚糖;水生动物;免疫力;调节机制

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2010)03-0544-07

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基和杂质后,脱乙酰度达75%以上的产物的总称,其基本结构单位包括葡萄糖胺和N-乙酰葡萄糖胺^[1]。法国科学家布拉克诺在1811年首次从蘑菇中提取了甲壳素,后来发现其广泛存在于虾、蟹的甲壳、昆虫的甲壳和藻类的细胞壁中。近年来,水产养殖中各种病害频繁发生,使用抗生素的负面影响越来越突出,通过营养手段提高水生动物疾病抵抗力成为学者们关注的焦点。壳聚糖作为一种免疫增强剂,已在水生动物上进行了广泛的研究^[2-5]。本文主要综述了壳聚糖对水生动物免疫能力的影响及其可能的调节机制。

1 壳聚糖提高水生动物疾病抵抗力

水生动物攻毒后成活率可以反映其疾病抵抗力的强弱,而疾病抵抗力可作为衡量营养物质对机体免疫调节作用的综合性指标。此研究表明,壳聚糖可以提高水生动物攻毒后成活率(表1)^[2-4]。但Anderson等^[3]的研究显示,给北美溪鱥注射和浸泡壳聚糖3d,攻毒成活率分别为100%和90%,注射和浸泡壳聚糖28d后攻毒成活率却分别下降到60%和50%。此研究结果表明,通过短期使用壳聚糖来增强水生动物疾病抵抗力的效果更好,原因可能为壳聚糖的结构类似于真菌或革兰氏阴性细菌细胞壁中的脂多糖(LPS)类物质,当水生动物受到壳

聚糖刺激后,类似于异物入侵而激活体内的免疫应答系统,从而使机体能更有效的抵抗即将入侵的病原体。由于LPS类物质属于非胸腺依赖性抗原,不能促使机体产生免疫记忆性,因此只能起到短期的保护作用^[6]。

2 壳聚糖提高水生动物疾病抵抗力的作用方式

2.1 提高非特异性免疫力

水生动物的非特异性免疫系统主要由吞噬细胞、具有杀菌活性的相关酶类以及抑制病原菌生长的物质等组成。因此,增强吞噬细胞的吞噬能力和提高杀菌相关酶类的活性可以提高水生动物的非特异性免疫力。

2.1.1 提高白细胞吞噬率

吞噬细胞负责吞噬进入体内的异物并进行消化,无法杀灭病原体时还可保留抗原信息并呈递给相关的淋巴细胞,从而激发机体的免疫应答。水生动物体内的吞噬细胞主要包括颗粒细胞和单核巨噬细胞,是白细胞的主要成分。因此,常用白细胞吞噬率和吞噬指数来反映机体的吞噬能力^[7]。Siwicki等^[2]在虹鳟上的研究发现,壳聚糖可以显著提高中性粒细胞的吞噬指数。随后的研究也显示,壳聚

糖可以显著或极显著地提高水生动物的白细胞吞噬率(表2)^[4,8-11]。白细胞吞噬率与白细胞向病原菌迁徙、对病原菌识别和黏附的能力密切相关。酚氧化酶在一定刺激下被激活的过程中可产生一系列生物活性物质,可以促进血细胞的吞噬和包裹作用^[7]。刘云等^[9]在鲫鱼上的研究显示,日粮添加壳聚糖可

使血清酚氧化酶活性显著提高。Wang 等^[4]发现,给白虾注射 4 $\mu\text{g/g}$ 体重的壳聚糖后,血清酚氧化酶活性也明显增强。以上研究表明,壳聚糖可能通过提高水生动物的血清酚氧化酶活性来提高白细胞吞噬率。

表 1 壳聚糖对水生动物攻毒后成活率的影响

Table 1 Effects of chitosan on the vaccinated survival rate of aquatic animals

试验动物 Experimental animals	研究方法 Methods	试验期 Experimental period (d)	攻毒方式 Vaccinated methods	攻毒成活率 Vaccinated survival rate	资料来源 References source
虹鳟 Rainbow trout	基础日粮 + 0.5%壳聚糖	7	注射杀鲑气单胞菌 (1×10^7 CFU/尾)	40% \uparrow	Siwicki 等 ^[2]
北美溪鳟 Brook trout	腹腔注射壳聚糖 (100 μg /尾)	3	含杀鲑气单胞菌水中浸泡 1 min	60% \uparrow	Anderson 等 ^[3]
	浸泡壳聚糖 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	3	含杀鲑气单胞菌水中浸泡 1 min	50% \uparrow	
白虾 White shrimp	腹膜注射 4 $\mu\text{g}/\text{g}$ 体重壳聚糖	1	注射溶藻弧菌 (2×10^6 CFU/只)	35% \uparrow	Wang 等 ^[4]

\uparrow 表示试验组和对照组攻毒成活率之间的差值。 \uparrow indicated the difference of vaccinated survival rate between the control group and experimental group.

表 2 壳聚糖对水生动物白细胞吞噬率的影响

Table 2 Effects of chitosan on the phagocytic rate of leukocytes in aquatic animals

试验动物 Experimental animals	研究方法 Methods	白细胞吞噬率 The phagocytic rate of leukocyte	资料来源 References source
异育银鲫 Hybridized Prussian carp	基础日粮 + 1.0%壳聚糖	17.2% \uparrow **	王树芹等 ^[8]
鲫鱼 Crucian	基础日粮 + 1.0%壳聚糖	18.1% \uparrow *	刘云等 ^[9]
花鲈 Japanese sea bass	基础日粮 + 1.0%壳聚糖	8.4% \uparrow *	常青等 ^[10]
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	基础日粮 + 0.5%壳聚糖	13.4% \uparrow *	华雪铭等 ^[11]
白虾 White shrimp	注射 4 $\mu\text{g}/\text{g}$ 体重壳聚糖	50% \uparrow *	Wang 等 ^[4]

\uparrow 表示在对照组数值基础上提高的比例,* 表示试验组与对照组差异显著: * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$), *** ($P < 0.001$), 下表同。 \uparrow indicated the raised proportion compared with the control group, * means significantly difference between the control group and experimental group: * ($P < 0.05$), ** ($P < 0.01$), *** ($P < 0.001$), the same as below.

2.1.2 提高杀菌力

吞噬细胞吞入病原菌形成吞噬体后,对病原体进行杀灭的过程可分为氧依赖和非氧依赖两种方式,氧依赖方式主要依靠吞噬细胞产生的活性氧物质来破坏异物^[13]。因此,白细胞中 O_2^- 的产量越高,杀菌能力也越强,还原四唑氮蓝(NBT)的能力常用来反应白细胞中 O_2^- 的产量。研究发现,壳聚糖可以显著或极显著地提高水生动物白细胞还原 NBT 的能力(表3)^[2,4-5,14]。同时,体外细胞培养试验也得到相似的结果。James 等^[15]将大西洋鲑的

头肾白细胞用浓度为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的壳聚糖溶液培养,发现头肾白细胞还原 NBT 的能力显著提高。

吞噬细胞杀灭病原体的非氧依赖方式不依赖分子氧的参与,主要依靠粒细胞分泌的溶菌酶、髓过氧化物酶(MPO)、酸性磷酸酶和芳香基硫酸酯酶等杀灭和清除病原体^[7]。溶菌酶广泛存在于水生动物的黏液、血清和巨噬细胞中^[16]。研究发现,壳聚糖可以显著或极显著地提高水生动物体内的溶菌酶活性(表4)^[5,8,10-11,14]。MPO 可与中性粒细胞发生呼吸爆发时产生的大量 O_2^- 反应,在卤素的参与下生成

次卤酸。此过程不仅可以消除过多的 O_2^- 对细胞本身的毒害作用,而且产物次卤酸还具有杀菌作用^[17]。Siwicki 等^[2]报道,虹鳟摄入含壳聚糖的日粮后,血中性粒细胞中 MPO 活性显著提高了 27.8%。Cha 等^[14]给牙鲆饲喂壳聚糖包被的日粮

后,头肾中性粒细胞中 MPO 活性显著提高了 83.9%。以上结果表明壳聚糖可以通过促进白细胞中 O_2^- 的生成,增强体内溶菌酶和 MPO 活性而提高水生动物的杀菌能力。

表 3 壳聚糖对水生动物白细胞 NBT 还原力的影响

Table 3 Effects of chitosan on the NBT reducing power of leukocytes in aquatic animals

试验动物 Experimental animals	研究方法 Methods	NBT 还原力 NBT reducing power	资料来源 References source
虹鳟 Rainbow trout	基础日粮 + 0.5% 壳聚糖	32.6% ↑ *	Siwicki 等 ^[2]
鲤鱼 Cyprinus carpio	基础日粮 + 1.0% 壳聚糖	175.0% ↑ ***	Ayyaru 等 ^[5]
白虾 White shrimp	注射 4 μg/g 体重壳聚糖	23.8% ↑ *	Wang 等 ^[4]
牙鲆 Olive flounder	1.0% 壳聚糖包被日粮	23.9% ↑	Cha 等 ^[14]

表 4 壳聚糖对水生动物溶菌酶活性的影响

Table 4 Effects of chitosan on the lysozyme activity in aquatic animals

试验动物 Experimental animals	研究方法 Methods	测定部位 Detected position	溶菌酶活性 Lysozyme activity	资料来源 References
异育银鲫 Hybridized Prussian carp	基础日粮 + 1.0% 壳聚糖	血清	130% ↑ **	王树芹等 ^[8]
		头肾	93.8% ↑ **	
		脾脏	121% ↑ **	
花鲈 Japanese sea bass	基础日粮 + 1.0% 壳聚糖	血清	25% ↑ *	常青等 ^[10]
鲤鱼 Cyprinus carpio	基础日粮 + 1.0% 壳聚糖	血清	417% ↑ ***	Ayyaru 等 ^[5]
牙鲆 Olive flounder	1.0% 壳聚糖包被日粮	黏液	57% ↑ *	Cha 等 ^[14]
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idella</i>	基础日粮 + 0.5% 壳聚糖	头肾	26.7% ↑ *	华雪铭等 ^[11]
		脾脏	52% ↑ *	

2.2 提高特异性免疫力

抗体是在特异性免疫应答系统中发挥作用的重要体液因子,是反映水生动物特异性免疫力的主要指标。壳聚糖对水生动物抗体生成的影响有一些报道。Siwicki 等^[2]在虹鳟日粮中添加 0.5% 的壳聚糖,结果血清总蛋白水平和总抗体水平分别提高了 14.6% 和 36.8%。陆清儿等^[18]在三角鲂日粮中添加 0.1% 的壳聚糖复合物,血清总蛋白水平提高了 21.9%, IgA 和 IgG 分别提高了 71.4% 和 25.1%。华雪铭等^[19]给暗纹东方鲀饲喂含壳聚糖 0.2% 的日粮后,在体外用 LPS 刺激头肾 B 细胞,所产生的 IgM 量增加了 1.01 倍。这表明壳聚糖可以促进水生动物体内的抗体生成,从而增强机体的特异性免疫能力。

3 壳聚糖调节动物免疫力的可能机制

目前关于壳聚糖调节水生动物免疫能力的机制的报道还很少,相关研究主要集中在鼠免疫细胞上。

这些研究发现,壳聚糖可以与免疫细胞膜上的受体结合,调节细胞中的一氧化氮(NO)和前列腺素-2(PGE₂)合成,通过这 2 种生物活性物质影响机体的免疫功能。目前关于壳聚糖对鼠免疫细胞中 NO 和 PGE₂ 产量的影响及方式,已经有比较深入的研究。据此我们可以推断水生动物可能存在类似的调节机制。这些机制主要有以下几个方面。

3.1 对免疫细胞中 NO 合成的影响

NO 作为一种重要的气体信号分子,在机体的免疫应答系统中发挥着举足轻重的作用。生理浓度的 NO 可以促进以下免疫应答过程:1) 调节趋化因子和血管内皮细胞、吞噬细胞表面黏附分子的表达,影响吞噬细胞迁徙和血管渗出过程^[20]; 2) NO 很易形成 NO 自由基,并与吞噬细胞产生的大量 O_2^- 结合形成过氧化亚硝酸盐(ONOO⁻),可对病原细胞的脂质、DNA 和蛋白质造成氧化损伤而杀死细胞^[21]; 3) 抑制肿瘤细胞的生长并诱导其凋亡^[22]; 4) 促进 T 淋巴细胞增殖^[23]。当机体处于病理状态

时,体内 NO 会被大量合成^[24]。但 NO 水平过高将会产生许多负面效应,如:由于 ONOO⁻ 生成过多而引起机体本身发生氧化应激^[21],促进肿瘤细胞生长^[25],抑制 T 细胞增殖^[26]等。因此,在特定的生理条件下,保证体内适宜的 NO 水平是机体充分发挥免疫保护功能的重要前提。

3.1.1 通过核因子- κ B-诱导型 NO 合成酶途径,促进未活化免疫细胞的 NO 生成

壳聚糖对未活化免疫细胞中 NO 生成的研究主要集中在鼠巨噬细胞上,并且存在 2 种不同的看法。一部分学者认为,壳聚糖只能同干扰素- γ (IFN- γ)一起显著促进巨噬细胞中的 NO 生成。Hyun-Ja 等^[27]报道,只用壳聚糖或 IFN- γ 溶液培养鼠 RAW264.7 巨噬细胞时,NO 产量分别为 5 和 17 $\mu\text{mol/L}$ 。当二者一起培养细胞时,NO 的产量显著提高到 51.7 $\mu\text{mol/L}$ 。Won-Gil 等^[28]只用壳聚糖或 IFN- γ 溶液培养鼠腹膜巨噬细胞时,NO 产量仅为 5 $\mu\text{mol/L}$,当二者一起培养细胞时,NO 的产量为 32 $\mu\text{mol/L}$ 。而另一部分学者则认为,只用壳聚糖就可以显著提高巨噬细胞的 NO 产量。Carina 等^[24]发现,壳聚糖使鼠腹膜巨噬细胞的 NO 产量显著提高了 46.7%。Yu 等^[29]用壳聚糖培养鼠 RAW264.7 巨噬细胞,NO 的产量显著增加了 4 倍。这些研究结果不一致的原因可能有:1)二者的试验期不同:前者只用壳聚糖培养细胞的时间较短,而后者培养时间为前者的 4~8 倍。细胞受刺激使相应的基因表达可能需要一段时间;2)壳聚糖的形式不同:前者使用水溶性壳聚糖,而后者使用水不溶壳聚糖,可能更易激活巨噬细胞。

NO 主要由细胞内的 NO 合成酶(NOS)催化 L-精氨酸氧化脱氨基作用而生成,NO 合成酶有组成型 NOS(cNOS)和诱导型 NOS(iNOS)2 类。cNOS 主要存在于神经细胞和内皮细胞,持续催化少量 NO 释放,调节局部血流和作为神经递质。iNOS 存在于巨噬细胞、中性粒细胞和 T 细胞等多种细胞中,只在病原体、LPS 等刺激下被大量诱导表达,并且催化 L-精氨酸产生的 NO 量远高于 cNOS^[21]。因此,由 iNOS 催化生成的 NO 在调节机体的免疫功能方面发挥着非常重要的作用。Hyun-Ja 等^[27]发现,壳聚糖可使 IFN- γ 刺激的鼠 RAW264.7 巨噬细胞中 iNOS 的表达量和活性都增加。Won-Gil 等^[28]报道,IFN- γ 刺激的鼠腹膜巨噬细胞再用壳聚糖培养后,iNOS 的表达量也增加,并且还存在着剂量效应。iNOS 的表达与其基因转录过程密切相关,核因子- κ B(NF- κ B)在调控 iNOS

基因的转录过程中发挥着至关重要的作用。NF- κ B 是一种存在于胞浆中由 P50 和 P56 组成的二聚体蛋白质因子,与抑制因子 I κ B 相连处于活性被抑制的状态。当细胞受到某种刺激而被激活后,I κ B 从复合物上水解,P50 和 P65 移向细胞核并与许多细胞因子启动区的同源位点结合,从而导致基因的转录^[30]。Yu 等^[29]报道,用 NF- κ B 抑制剂(PTDC)刺激壳聚糖溶液培养的鼠 RAW264.7 巨噬细胞,NO 的产量由 19 $\mu\text{mol/L}$ 下降到 10 $\mu\text{mol/L}$ 。Wu 等^[31]用壳聚糖培养 IFN- γ 刺激的鼠 RAW264.7 细胞后,再使用 NF- κ B 抑制剂(MG132),NO 的产量由 50 $\mu\text{mol/L}$ 下降到 2 $\mu\text{mol/L}$ 。进一步研究还发现,壳聚糖可以激活鼠 RAW264.7 巨噬细胞中的 NF- κ B,使胞浆中的 P65 活性降低而核中的 P65 活性增加,并且 NF- κ B 与 DNA 的结合能力也增强^[27,31]。以上结果表明,壳聚糖可以通过 NF- κ B 途径促进未活化巨噬细胞中 iNOS 基因的表达,使 NO 的产量增加,从而增强机体潜在的免疫能力。

3.1.2 通过增加精氨酸酶活性,抑制活化免疫细胞中 NO 过量生成

研究已经证实,机体在病理状态下许多免疫细胞已经被激活,NO 会被大量合成并且还会对机体产生有害影响^[23,26]。壳聚糖可以抑制活化免疫细胞中的 NO 生成。Hwang 等^[32]分别用浓度为 0、0.32、8 和 40 $\mu\text{g/mL}$ 的壳聚糖培养被 IFN- γ 和 LPS 处理活化的鼠 RAW264.7 巨噬细胞,NO 产量分别为 70、40、30 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 每 10^5 个细胞,此结果表明,壳聚糖可以显著降低活化巨噬细胞的 NO 产量,并存在剂量效应。L-精氨酸是 iNOS 和精氨酸酶的共同底物,前者催化 L-精氨酸转化为 L-瓜氨酸和 NO,而后者催化 L-精氨酸转化为 L-鸟氨酸和尿素。因此除 iNOS 外,精氨酸酶对于 NO 的产量也具有调节作用^[33]。Porporatto 等^[24]报道,壳聚糖可使静息和活化鼠巨噬细胞中精氨酸酶的表达量都增加,但活化细胞中增加的幅度更大。结果仅静息细胞中 NO 产量显著增加,而活化细胞中 NO 产量未发生显著变化。以上结果表明,免疫细胞已被激活的条件下,壳聚糖可能通过大量增加精氨酸酶的活性而防止 NO 过量产生,从而对机体的免疫应激反应起到一定的缓解作用。

3.2 防止活化免疫细胞中 PGE₂ 过量生成

PGE₂ 是游离的花生四烯酸(AA)在环氧化酶(COX)催化下生成的一种激素类物质。当机体处于病理状态如:氧化应激或炎症反应时,免疫细胞活化造成 AA 大量合成,同时经 COX 作用产生过量

的 PGE₂, 可能导致炎症反应过度或抑制机体的免疫力^[34]。COX 是限制 PGE₂ 生成的主要因素, 其中 COX-1 存在于绝大部分组织中, 其催化 AA 氧化生成的前列腺素可满足抗体产生等基本的生理需要^[35]。当细胞受到细菌等刺激时, COX-2 被诱导表达并造成 PGE₂ 大量生成, 抑制 COX-2 的过量表达可以有效地抵抗炎症并促进疾病恢复^[36]。Chou 等^[37]报道, 分别用浓度为 0、2.5、12.5 和 62.5 μg/mL 的壳聚糖处理 LPS 活化的鼠 RAW264.7 巨噬细胞, PGE₂ 的产量分别为 5.5、2.0、1.9 和 2.1 mg/mL, 对未活化细胞的 PGE₂ 产量却无明显影响, 并且壳聚糖还使活化的鼠 RAW264.7 巨噬细胞中 COX-2 的表达量也减少。COX-2 的表达同样受基因调控, 而 NF-κB 可以调控 COX-2 基因的转录^[38-39]。前面已经谈到, 壳聚糖可以激活静息巨噬细胞胞浆中的 NF-κB 并使其向核内迁移, 促使某些基因的转录。但壳聚糖对活化免疫细胞中 NF-κB 的影响方式还未见报道。由此推测, 壳聚糖通过抑制活化免疫细胞中 NF-κB 的活性而降低 COX-2 的大量表达, 防止 PGE₂ 过量生成可能是其调节免疫应答的另一条重要途径, 这还有待于进一步的研究。

4 小 结

壳聚糖可以增强水生动物的免疫功能, 可能的作用机制是调节免疫细胞中 NO 和 PGE₂ 2 种生物活性物质的生成。目前, 壳聚糖对水生动物免疫能力影响的研究还存在以下问题: 1) 目前主要是定性和表现现象的认识, 对作用的分子机制还很少涉及; 2) 壳聚糖的给予方式、剂量、服用时间长短与作用效果的确切关系还存在许多的疑问, 有待深入研究。

参考文献:

- [1] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 1-10.
- [2] Siwicki A K, Anderson D P, Rumsey G L. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1994, 41: 125-139.
- [3] Anderson D P, Siwicki A K. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion[J]. The Progressive Fish Culturist, 1994, 56: 258-261.
- [4] Wang S H, Chen J C. The protective effect of chitin and chitosan against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2005, 19: 191-204.
- [5] Ayyaru G, Venkatesan A. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds[J]. Aquaculture, 2006, 255: 179-187.
- [6] Sakai M. Current research status of fish immunostimulants[J]. Aquaculture, 1999(172): 63-92.
- [7] 肖克宇, 邓时铭, 向建国. 水生动物免疫与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 139-142.
- [8] 王树芹, 周洪琪. 壳聚糖对异育银鲫溶菌酶和白细胞吞噬活性的影响[J]. 上海水产大学学报, 2004(2): 121-125.
- [9] 刘云, 孙峰, 王丹. 免疫增强剂对鲫鱼非特异性免疫功能的影响[J]. 海洋科学, 2004, 28(9): 42-45.
- [10] 常青, 梁萌青, 王家林. 壳聚糖对花鲈生长和非特异性免疫力的影响[J]. 海洋水产研究, 2006(5): 17-22.
- [11] 华雪铭, 周洪琪. 壳聚糖和抗生素对暗纹东方鲀疾病抵抗力及免疫能力的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 31: 115-160.
- [12] Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system[J]. Immunology, 2001, 357: 1 777-1 789.
- [13] 林飞卿, 余传霖, 何球藻. 医学基础免疫学[M]. 第1版. 上海: 上海医科大学出版社, 1992: 280-298.
- [14] Cha S H, Lee J S, Song C B, et al. Effects of chitosan-coated diet on improving water quality and innate immunity in the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Aquaculture, 2008, 278: 110-118.
- [15] James H, Audny J, Kari S, et al. Chitooligosaccharides stimulate Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) head kidney leukocytes to enhanced superoxide anion production *in vitro* [J]. Comparative and Biochemical Physiology B: Biochemical and Molecular Biology, 1997, 118: 105-115.
- [16] Ellis A E. Immunity to bacteria in fish[J]. Fish and Shellfish Immunology, 1999(9): 291-308.
- [17] Bruce B. Innate immunity: an overview[J]. Molecular Immunology, 2004, 40: 845-859.
- [18] 陆清儿, 李行先, 杨仲景, 等. 壳聚糖及其复合物对三角鲂血清生化指标及免疫功能的影响[J]. 水产学报, 2007(7): 73-77.
- [19] 华雪铭, 周洪琪. 壳聚糖和抗生素对暗纹东方鲀疾病抵抗力及免疫能力的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 31: 115-160.
- [20] Spiecker M, Darius H, Kaboth K, et al. Differential regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by nitric oxide donors and antioxidants

- [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 1998, 63: 732-739.
- [21] Bogdan C. Nitric oxide and the immune response[J]. *Nature Immunology*, 2001, 10: 907-916.
- [22] Kwak J Y, Choi K S, Park I H, et al. Cytokines secreted by lymphokine-activated killer cells induce endogenous nitric oxide synthesis and apoptosis in DLD-1 colon cancer cells[J]. *Cell immunology*, 2000, 203: 84-94.
- [23] Liew F Y. Regulation of lymphocytes function by nitric oxide[J]. *Current Opinion in Immunology*, 1995, 7: 396-400.
- [24] Porporatto C, Bianco ID, Riera CM, et al. Chitosan induces different *L*-arginine metabolic pathways in resting and inflammatory macrophages[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 304: 266-272.
- [25] Xu W, Liu L, Smith G C M, et al. Nitric oxide up-regulates expression of DNA-PKcs to protect cells from DNA-damaging anti-tumor agents[J]. *Nature Cell Biology*, 2000(2): 339-345.
- [26] Badovinac V, Trajkovic V, Mostarica S M. Nitric oxide promotes growth and major histocompatibility complex-unrestricted cytotoxicity of interleukin-2-activated rat lymphocytes[J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2000(1): 62-70.
- [27] Hyun-Ja J, Hyun-Na K. Nitric oxide production by high molecular weight water-soluble chitosan via nuclear factor- κ B activation[J]. *International Journal of Immunopharmacology*, 2000, 22: 923-933.
- [28] Won-Gil S, Hyun-Ock P. Synergistic cooperation between water-soluble chitosan oligomers and interferon- γ for induction of nitric oxide synthesis and tumoricidal activity in murine peritoneal macrophages[J]. *Cancer Letters*, 2000, 159: 189-195.
- [29] Yu Z J, Zhao L H, Ke H P. Potential role of nuclear factor- κ B in the induction of nitric oxide and tumor necrosis factor- α by oligochitosan in macrophages[J]. *International Immunopharmacology*, 2004(4): 193-200.
- [30] Karin M, Ben N Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF- κ B activity[J]. *Annual Reviews in Immunology*, 2000, 18: 621-663.
- [31] Wu G J, Tsai G J. Chitinous saccharides in combination with interferon- γ increase nitric oxide production via nuclear factor- κ B activation in murine RAW264.7 macrophages[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45: 250-258.
- [32] Hwang S M, Chen C Y, Chen S S. Chitinous materials inhibit nitric oxide production by activated RAW 264.7 macrophages[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 271: 229-233.
- [33] Mori M T, Gotoh T. Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 275: 715-719.
- [34] Balboa M A, Balsinde J. Oxidative stress and arachidonic acid mobilization[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2006, 1761: 385-391.
- [35] O'Neill G P, Hutchinson A F. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues[J]. *FEBS Letter*, 1993, 334: 156-160.
- [36] Reddy B S, Rao C V, Seibert K. Evaluation of cyclooxygenase-2 inhibitor for potential chemopreventive properties in colon carcinogenesis[J]. *Cancer Research*, 1996, 56: 4 566-4 569.
- [37] Chou T C, Fu E, Shen E C. Chitosan inhibits prostaglandin E₂ formation and cyclooxygenase-2 induction in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 macrophages[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 308: 403-407.
- [38] Wadleigh D J, Reddy S T, Kopp E, et al. Transcriptional activation of the cyclooxygenase-2 gene in endotoxin-treated RAW 264.7 macrophages[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275: 6 259-6 266.
- [39] Faith Z D, Ying L, Jerry T T, et al. Nuclear factor- κ B mediates over-expression of cyclooxygenase-2 during activation of RAW 264.7 macrophages in selenium deficiency[J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2002, 32: 890-897.

Effects of Chitosan on Immune Function of Aquatic Animals and Its Possible Regulation Mechanism

XIAO Weiwei^{1,2} FENG Lin^{1,2} LIU Yang^{1,2} JIANG Jun^{1,2} LI Shuhong^{1,2} ZHOU Xiaoqi^{1,2*}

(1. *Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China*; 2. *Key Laboratory for Animal Disease-resistance Nutrition of China Ministry of Education, Ya'an 625014, China*)

Abstract: It was found that chitosan could improve the non-specific immune function of aquatic animals through enhancing the activities of antimicrophyte enzymes and the phagocytosis ability of phagocyte. Chitosan could also promote the production of antibody, thus improved the specific immune function of aquatic animals. However, there were few studies on its regulation mechanism in the aquatic animals. The studies in the terrestrial animals field indicated that the improvement of immune function by adding chitosan might result mainly from regulating the NO and PGE₂ production in immune cells. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(3):544-550]

Key words: Chitosan; Aquatic animal; Immune function; Regulation Mechanism