

棘皮动物免疫学研究进展*

孟繁伊 麦康森** 马洪明 张文兵

(中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 青岛 266003)

摘要 棘皮动物属原始后口动物、无脊椎动物的最高等类群, 它处于由无脊椎动物向脊椎动物开始分支进化的阶段。研究棘皮动物的免疫功能和作用机理, 对从比较免疫学角度探讨动物免疫系统进化过程有承前启后的重要意义。因此, 有必要对棘皮动物的免疫学研究进展作一个较全面的综述, 并理清未来的研究热点和方向。棘皮动物与其他无脊椎动物一样具有先天性免疫系统, 但未发现脊椎动物所具有的获得性免疫。其免疫应答是由参与免疫反应的效应细胞——体腔细胞和多种体液免疫因子共同介导的。比较免疫学分析表明, 棘皮动物存在脊椎动物补体系统的替代途径和凝集素途径, 但未发现经典途径和明确的终端途径。棘皮动物先天性免疫系统存在数量庞大的基因家族。今后应加强对未知免疫相关基因、蛋白质、信号传导途径及效应分子的研究, 回答免疫系统的起源、功能和进化等问题。

关键词 棘皮动物, 后口动物, 先天性免疫, 比较免疫学

学科分类号 Q959.26, S917

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00761

Metchnikoff 首次利用一种海星 (*Astropecten pentacanthus*) 幼体验证了当有异物插入无脊椎动物体内时中胚层细胞可产生包裹作用, 并指出吞噬作用是多细胞动物的一个基本特征。Metchnikoff 因此获得了 1908 年诺贝尔奖, 从此便开始了比较免疫学领域的研究^[1]。无脊椎动物的免疫机制属于先天性免疫, 即机体对各种外来入侵物的反应没有特异性。棘皮动物有宽阔的真体腔, 在体腔中有体腔液, 体腔液类似于淋巴, 在体腔液中具有参加免疫反应的细胞。免疫应答是由体腔细胞同多种体液免疫因子, 如凝集素、溶血素和调理素等共同并直接作用于入侵病原体的^[2]。随着脊椎动物的进化发展, 其免疫系统除了表现出类似无脊椎动物的非特异先天性免疫机制外, 还突出地表现出特异性的细胞免疫应答及体液免疫应答^[3]。从前人们认为复杂多样的分子免疫应答只存在于高等脊椎动物。然而, 近年来已证明了棘皮动物免疫应答同样具有多样性, 并存在数量庞大的基因家族^[4]。棘皮动物的免疫系统包括吞噬细胞、简单的补体系统和细菌诱导的转录因子等^[5]。另外, 海胆的基因组序列包含可编码 340 种不同蛋白质的庞大 Toll 样受体家族^[6]和脂多糖诱导的可编码 65 种不同蛋白质的基因家族^[7]。棘皮动物是高等的无脊椎动物, 又是最原始的后口动物。它起源于寒武纪之前, 位于无脊椎动

物与脊椎动物开始分支的进化阶段^[8]。研究棘皮动物的免疫系统及其与其他无脊椎动物和脊椎动物的异同, 不仅有利于我们对后口动物免疫系统进化过程的了解, 而且有助于我们对高等动物免疫机制研究的深入。

1 细胞免疫

1.1 体腔细胞的类型

国内外学者对棘皮动物体腔细胞的广泛研究已经进行了至少 30 年之久^[1]。大量研究表明, 具开放循环系统的棘皮动物体腔细胞是主要的免疫反应效应器。这些细胞能够合成和分泌多种免疫因子, 如凝集素、穿孔素、多种溶酶体酶、血清蛋白及抑制蛋白等, 对机体损伤或感染产生免疫应答^[7]。业已发现了棘皮动物体腔液中 6 种类型的体腔细胞: 吞噬细胞、桑椹细胞、振颤细胞、晶体细胞、祖原细胞和血细胞^[9]。研究结果表明, 吞噬细胞、桑椹细胞、祖原细胞和血细胞分别与低等脊椎动物的巨噬细胞、肥大细胞、淋巴细胞和有核红细胞功能相

* 国家高技术研究发展计划(863)资助项目(2006AA100313)。

** 通讯联系人。

Tel: 0532-82032038, E-mail: kmai@ouc.edu.cn

收稿日期: 2008-11-05, 接受日期: 2009-02-24

似^[9]。但并不是所有棘皮动物都存在这6种体腔细胞。依据种类的不同可在形态学上分为不同类型的体腔细胞。例如, Eliseikina等^[10]在研究仿刺参(*Apostichopus japonicus*)和瓜参(*Cucumaria japonica*)时发现, 体腔细胞可以分成祖原细胞、吞噬细胞、有空泡细胞、小(幼)桑椹细胞、桑椹细胞(I、II和III型)、晶体细胞和振颤细胞。海胆中球海胆属(*Strongylocentrotus*)具有4种类型的体腔细胞, 即吞噬细胞, 红色桑椹细胞, 白色桑椹细胞和振颤细胞^[11]。

根据细胞形态不同, 可将吞噬细胞分为三种类型: 1型吞噬细胞、2型吞噬细胞和小吞噬细胞。1型吞噬细胞也叫做盘状细胞, 它含有从细胞中心发出的放射状排列的肌动蛋白丝。2型吞噬细胞又叫多边形细胞, 它的肌动蛋白丝沿着细胞膜排列, 形成了不规则的多边形^[12, 13]。在体外环境下, 盘状细胞是静止的, 而多边形细胞是运动的^[12]。这两种细胞类型的差别还表现在驱动蛋白、微管和肌球蛋白的亚细胞单位及其线粒体位置的不同^[13]。小吞噬细胞较其他两种类型吞噬细胞小, 细胞质含量少^[14]。这三种吞噬细胞亚型在发育上的关系至今尚未见报道。桑椹细胞有两种类型, 红色桑椹细胞和无色桑椹细胞。无色桑椹细胞体积较小, 且都是可以变形的^[15]。红色桑椹细胞较无色桑椹细胞密集^[14]。当组织损伤和感染时红色桑椹细胞可发生聚集, 参与机体免疫反应。无色桑椹细胞的功能至今尚未明确。振颤细胞是球状的, 并未表现出变形运动, 但其具有一根鞭毛, 可在体腔液中运动。振颤细胞可能参与凝血反应^[2], 凝血反应是机体受损伤时的重要免疫应答。

1.2 体腔细胞的免疫功能

1.2.1 体腔细胞的趋化作用。

“趋化作用”是指细胞沿浓度梯度向化学刺激物作定向移动。当病原微生物入侵机体后, 受损细胞会释放某些化学物质, 吸引大量的炎症细胞, 并表现为局部炎症反应, 此时镜下观察受损组织会见到大量的炎症细胞浸润现象^[16]。

已有研究表明, 棘皮动物的体腔细胞具有趋化性。拟球海胆^[17]和紫球海胆^[2]在体壁发生感染时, 可由大量红色桑椹细胞的聚集而引起感染部位变成黑色或暗红色环状组织。紫球海胆在发生机械外伤、感染和棘组织再生时, 可见到吞噬细胞和红色桑椹细胞浸润^[2]。斑点肛居吸虫(*Proctoeces maculatus*)后囊蚴感染的中间球海胆(*Strongylocentrotus*

intermedius)可由于红色桑椹细胞的浸润而在其性腺组织见到红斑^[18]。皮革海星(*Dermasterias imbricata*)异体排斥的组织学分析表明, 慢性排斥反应过程中会发生混合细胞浸润, 进而导致细胞密度增加^[19]。

1.2.2 细胞杀伤功能(细胞毒性)。Dales^[20]在海星和不同种类海胆的吞噬细胞毒性实验中并未检测到细胞毒性。这表明吞噬细胞并不具备细胞毒性作用, 或者是该方法在分析体腔细胞功能方面还存在一定的技术困难。空斑形成试验表明, 拟球海胆(*Paracentrotus lividus*)的无色桑椹细胞可对兔红细胞和K562肿瘤细胞系产生钙依赖型细胞毒性。当无色桑椹细胞和吞噬细胞共同作用于外源细胞时, 产生的细胞毒性更强, 说明吞噬细胞可增强细胞毒性^[21]。另外, 研究人员能够从拟球海胆的吞噬细胞中分离出溶细胞颗粒, 这表明吞噬细胞是通过释放这些溶细胞颗粒来增强细胞杀伤功能的^[22]。

1.2.3 吞噬功能。

吞噬过程在机体所有免疫应答中居于重要地位, 吞噬作用是机体内部防御的第一道防线^[23]。海胆免疫系统的主要功能是调理作用和吞噬作用。其胚胎、幼体和成体中介导免疫应答的主要细胞都是吞噬细胞。吞噬细胞是表达免疫基因的主要细胞类型, 可对外源粒子进行搜索、捕获和破坏^[2]。体腔液中的吞噬细胞能够有效地识别并吞噬外源粒子, 然后将其降解或直接排出体外^[11]。这些外源粒子包括外源细胞^[24~28]、细菌^[29]、惰性粒子^[30]等。紫球海胆、红海胆(*Strongylocentrotus franciscanus*)和一种深海刺参(*Stichopus tremulus*)的吞噬细胞对海洋微生物具有趋化性, 且均对革兰氏阳性细菌具有较强的吞噬作用。这是由于在海洋环境中, 革兰氏阳性细菌相对稀少, 因此对棘皮动物来讲该类细菌具有较强的外源性^[1]。Silva等^[27]研究了一种南极红海星(*Odontaster validus*)体腔细胞的体外吞噬功能, 发现其吞噬细胞能够吞噬酵母细胞。光棘球海胆(*Strongylocentrotus nudus*)的吞噬细胞在体外可在30 min内吞噬人类和绵羊的红细胞, 而且注射前使用体腔液对红细胞进行调理可增加其吞噬率^[29]。据报道, 脂多糖(LPS)刺激可以增强海参体腔细胞的吞噬活性^[24, 26, 29, 31]。虽然吞噬细胞具有识别外源物质的能力, 但这种能力还有赖于外源物质的大小和表面特性^[32]。玉足海参(*Holothuria leucospilota*)的吞噬细胞对直径为1 μm 的荧光乳胶微球的吞噬和排除能力较高, 且培养条件相同时, 吞噬细胞对受调理酵母细胞的吞噬率显著高于非调理酵母细胞^[30]。这说

明其体腔液中含有可增强吞噬作用的物质。

吞噬细胞和桑椹细胞均可产生并释放杀菌物质, 如脂肪酶, 过氧化物酶, 丝氨酸蛋白酶等, 分解被吞噬的外来物质^[11]。已证明一种海参(*Holothuria polii*)的吞噬细胞中富含多种溶酶体酶类, 包括酸性、碱性磷酸酶, β -葡萄糖苷酶, 氨基肽酶, 酸性、碱性蛋白酶和脂肪酶^[33]。Canicatti^[33]研究了海参(*Holothuria polii*)体腔细胞中的溶菌酶, 并阐明这些酶类具有降解不同种类生物的能力。其中, β -葡萄糖苷酶可能与细菌细胞壁和许多寄生虫被膜的主要组成成分——酸性粘多糖的水解有关。已证实在加州刺参(*Parastichopus californicus*)中存在溶菌酶和酸性磷酸酶^[34]。Haug等^[35]在叶瓜参(*Cucumaria frondosa*)体腔细胞中也检测到了溶菌酶活性。研究表明, 光棘球海胆的吞噬细胞在静息状态时可产生过氧化氢, 其强度可随非己物质的刺激而增大^[25]。

2 体液免疫

2.1 凝集素

凝集素是通过与细胞或细胞外基质结合来完成凝集反应的。现已从几种棘皮动物的体腔液中分离出凝集素。黄海产海燕(*Asterina pectinifera*)中三种凝集素具有不同的结合能力: 一种优先凝集兔红细胞, 第二种优先与人红细胞结合, 第三种是一种细菌凝集素^[36]。拟球海胆的红细胞凝集素是一种异源三聚混合体, 可能参与细胞-细胞、细胞-基质的相互作用如凝血作用、创面修复作用、调理作用和包裹作用^[37]。已在仿刺参中^[38]鉴定出两种钙依赖型凝集素(C型凝集素)。刺瓜参(*Cucumaria echinata*)中C型凝集素是一种红细胞凝集素, 它可溶解兔和人的红细胞, 并可能对外来微生物产生毒性^[39]。在棘皮动物中, 凝集素在进行调理作用和创伤修复等防御机制中起重要作用。

2.2 白细胞介素类似物、溶血素

研究表明, 赭石海星(*Pisaster ochraceus*)中存在高等动物白细胞介素-1(IL-1)类似物参与体腔吞噬细胞的吞噬过程^[40]。拟球海胆的溶血素可与红细胞、酵母多糖颗粒、脂多糖(LPS)和海带多糖表面结合, 但并不与自我细胞膜相结合^[41]。

2.3 酚氧化酶、反应氧中介物 (reactive oxygen intermediate, ROI)

酚氧化酶在无脊椎动物中起重要的免疫防御作用。酚氧化酶原激活系统激活后产生的黑色素及其

中间产物可通过多种方式参与宿主防御反应, 包括增强吞噬作用、包裹作用, 介导凝集反应, 产生杀菌物质等^[42]。已鉴定棘皮动物体腔液具酚氧化酶活力^[42]。有学者借鉴节肢动物的方法提出一种棘皮动物酚氧化酶激活模式, 即通过胰蛋白酶来激活酶原, 经过一系列中间反应, 在钙的刺激下, 形成活性酚氧化酶四聚体^[43]。动植物中另一种普遍的防御机制是产生反应氧中介物。光棘球海胆的吞噬细胞在体外与红细胞共同培养时可产生过氧化氢^[22]。

2.4 补体系统

研究表明, 在紫球海胆中存在起调理作用的蛋白质。对这些蛋白质的序列分析表明, 它们分别是脊椎动物补体成分C3和Bf的类似物, 因此命名为SpC3和SpBf^[2]。现已证实, SpC3和SpBf是原始补体系统替代途径的重要成分^[2]。

SpC3蛋白包含保守的 α/β 切割位点, 其成熟蛋白质含有两个链, α 链上存在一个保守的硫酯键。研究表明, SpC3序列存在氮连接的糖基化位点、因子I切割位点、因子H结合位点和因子B结合位点, 与脊椎动物补体C3具有同源性。由此推测, SpC3与其他C3类似物功能相似^[45]。编码SpC3的基因(Sp064)在体腔细胞内发生特异性表达, 表达的蛋白质存在于体腔细胞内和体腔液中^[1]。

对含有硫酯键蛋白质家族的系统进化分析表明, SpC3是该家族的古老成员, 且SpC3可行使调理素功能^[25]。SpC3上硫酯位点的主要功能是调理功能^[25]。经鉴定, SpC3是后口动物C3, C4和C5家族的前体物质^[44]。在被囊动物真海鞘(*Halocynthia roretzi*), 褶瘤海鞘(*Styela plicata*)和玻璃海鞘(*Ciona intestinalis*)中均已鉴定出C3类似物^[45~47]。以往研究表明, 只有后口动物才具有补体样蛋白质, 然而, 近年来在原口动物马蹄形蟹(*Carcinoscorpius rotundicauda*)^[48]和刺柳珊瑚(*Swiftia exserta*)^[49]中也发现了C3类似物。在果蝇(*Drosophila*)^[50]和冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)^[51]中鉴定出了含有硫酯的蛋白质。但对这些含硫酯蛋白质的系统进化分析表明, 他们属于不同的进化枝, 既不是补体进化枝也不是 α_2 -巨球蛋白进化枝^[52]。许多后口动物中都存在B因子(Bf)^[53~55], Bf是含有几个短同源重复序列(SCRs), 一个von Willebrand因子(vWF)功能区和一个丝氨酸蛋白酶功能区的嵌合蛋白^[2]。紫球海胆中的SpBf是一个嵌合蛋白, 它包含5个SCRs、1个vWF和1个丝氨酸蛋白酶功能区^[54]。编码SpBf的基因(Sp152)

仅在体腔细胞内发生表达。SpBf与脊椎动物Bf或C2蛋白质的功能相近,不同的是,在大多数高等后口动物中Bf蛋白有3个SCRs,而紫球海胆和玻璃海鞘等低等后口动物的Bf蛋白有4个或5个SCRs^[55,56]。究竟是高等后口动物Bf蛋白在进化过程从含有5个SCRs的原始蛋白质结构中选择丢失SCRs,还是低等后口动物近年来经历了区域复制而导致Bf蛋白含有5个SCRs,系统进化分析法并不能得到明确的结论^[56]。

高等脊椎动物的补体系统由大约35个血清蛋白和细胞表面蛋白质组成^[57],分为三种激活途径:经典途径、替代途径和凝集素途径,最终与终端途径相连接^[58]。紫球海胆的补体系统含有三个编码C3类似物和三个编码Bf类似物的基因模型,呈现扩展的替代途径。然而,并没有明确的终端途径,此系统的主要功能可能是调理作用^[2]。SpC3和SpBf的系统发育分析表明,这些棘皮动物蛋白质分别是最原始的补体成员中的硫酯和Bf/C2家族^[44,54]。紫球海胆补体系统可能与高等后口动物补体系统相似^[44]。

2.5 Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)

TLR蛋白在原口动物、后口动物和脊椎动物中都具有免疫功能。一个由20~25个亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR)组成的螺旋形外功能区,一个跨膜区和一个细胞质Toll-白介素-1受体(Toll-interleukin-1 receptor, TIR)区组成了TLR蛋白^[59]。LRR可识别病原体分子,TIR在信号传导过程中起重要作用^[4,60]。果蝇具有8个Toll样基因,人类具有7个,然而,植物基因组具有上百个Toll样基因。与植物类似,紫海胆具有数量众多的Toll样基因^[60]。目前,其中大部分基因都是未知的,只有少数在体腔细胞中表达^[60]。

2.6 清道夫受体富半胱氨酸域(scavenger receptor cysteine-rich domain, SRCR)

SRCR具有110个氨基酸和6~8个半胱氨酸残基的保守间距^[61]。已在多种动物中鉴定出含有SRCR的蛋白质^[61]。从海胆一个庞大基因家族中得到了SRCR转录产物。复杂的杂交模式证明了SRCR基因可能存在多种形式^[61]。在未受到免疫刺激的海胆个体中SRCR转录产物存留是非常短暂的。在损伤、细菌或真菌刺激后会有很大改变^[62]。尽管这些基因的调节机制还未明确,但5'侧翼区的高度保守性表明,SRCR基因转录可能存在着协同调控。尽管单个基因编码蛋白质的特定功能还不

能确定,但海胆中许多含有SRCR的基因都可能与免疫相关^[62]。

2.7 其他脂多糖刺激产生的表达序列标签(expressed sequence tags, EST)

为了鉴定在脂多糖刺激下体腔细胞产生的转录产物,采用净免疫和脂多糖刺激的海胆体腔细胞mRNA抑制消减杂交产生EST探针^[63]。脂多糖刺激后,体腔细胞cDNA文库中鉴定出约6000个克隆产物^[63]。其中,1247个克隆产物的EST分析鉴定出许多新表达的基因,如宿主防御、细胞表面受体、信号分子、细胞骨架修饰分子、蛋白酶、RNA连接酶、蛋白质合成、蛋白质加工、蛋白质降解、细胞增殖和编程性细胞死亡等相关基因^[63]。

目前研究最多的是与细胞骨架蛋白(包括 α 和 β 微管蛋白),动力蛋白重链,驱动蛋白轻链,凝集素和胸腺素- β 相匹配的EST。

2.8 185/333基因家族

185/333基因家族是海胆免疫应答中出现的一个庞大的基因家族^[64]。对基因组DNA进行定量聚合酶链反应(qPCR)分析表明,185/333基因家族包括80~120个等位基因^[5]。这些基因是紧密相连的,侧面存在二核苷酸和三核苷酸重复序列,当机体受到细菌^[65]、脂多糖^[63]和 β -1,3-葡聚糖^[65]免疫刺激时,185/333基因家族高度表达。185/333蛋白的功能还未知,但他们可集中到体腔细胞表面,可能形成合胞体来固定入侵病原体^[66]。对185/333表达蛋白进行Western blot分析表明,脂多糖和肽聚糖刺激后可表达不同的蛋白质,每个海胆可表达200多个不同蛋白质,这是由于185/333基因家族发生频繁的基因重组,基因复制和基因缺失,因此存在基因多样性^[67]。

3 小结与展望

研究表明,棘皮动物只存在非特异性免疫系统,其免疫应答是由体腔细胞和多种体液免疫因子共同介导的,主要是对进入体内的异物进行识别、降解、排除以及对伤口创面进行修复。棘皮动物的吞噬细胞和桑椹细胞是参与免疫反应的主要体腔细胞,它们参与的免疫反应有细胞识别、吞噬作用、体腔细胞的趋化作用、反应氧中介物的产生、细胞毒性、LPS刺激后C3类似物的表达及酚氧化酶前体的活化等^[34]。体液免疫因子包括不同类型的凝集素、溶血素、抗微生物因子、应急蛋白和酚氧化酶等。棘皮动物存在高等脊椎动物补体C3和Bf类

似物 SPC3 和 SPBf. 与高等脊椎动物相比, 棘皮动物补体激活途径缺少经典途径和明确的终端途径^[2]. 其他免疫相关蛋白包括 SRCR 蛋白、Toll 样受体及信号传导相关蛋白等^[59]. 尽管 185/333 蛋白质的功能尚未明确, 但脂多糖刺激后该基因表达的复杂性和多样性说明了这些蛋白质可能参与免疫反应^[60]. 棘皮动物先天性免疫系统存在数量庞大的基因家族, 并有意想不到的复杂性和多样性. 迄今为止, 棘皮动物免疫机制的研究已取得不少重要成果, 但仍有许多问题尚未明确, 如: a. 免疫相关基因家族的起源问题; b. 免疫相关基因组分析; c. 先天性免疫多样性的重要机制. 这些问题仍需做进一步的深入探讨.

参 考 文 献

- Gross P S, Al-Sharif W Z, Clow L A, *et al.* Echinoderm immunity and the evolution of the complement system. *Dev Comp Immunol*, 1999, **23**(4~5): 429~442
- Smith L C. The sea urchin immune system. *J Immunol*, 2006, **3**(1): 25~39
- Coteur G, Mellroth P, Lefortery C D, *et al.* Peptidoglycan recognition proteins with amidase activity in early deuterostomes (Echinodermata). *Dev Comp Immunol*, 2007, **31**(8): 790~804
- Pancer Z, Cooper M D. The evolution of adaptive immunity. *Annu Rev Immunol*, 2006, **24**(4): 497~518
- Terwilliger D P, Buckley K M, Mehta D, *et al.* Unexpected diversity displayed in cDNAs expressed by the immune cells of the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Physiol Genomics*, 2006, **26**(2): 134~144
- Dornbos S Q. Evolutionary palaeoecology of early epifaunal echinoderms: Response to increasing bioturbation levels during the Cambrian radiation. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 2006, **237**(2~4): 225~239
- Plytycz B, Seljelid R. Bacterial clearance by the sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Dev Comp Immunol*, 1993, **17**(3): 283~289
- Chia F S, Xing J. Echinoderm coelomocytes. *Zool Stud*, 1996, **35**(4): 231~254
- Ratcliffe N S, Millar D A. Comparative aspects and possible phylogenetic affinities of vertebrate and invertebrate blood cells. In: Rowley A F, Ratcliffe N A, eds. *Vertebrate Blood Cells*. New York: Cambridge University Press, 1988. 1~17
- Eliseikina M G, Magarlamov T Y. Coelomocyte morphology in the holothurians *Apostichopus japonicus* (Aspidochirota: Stichopodidae) and *Cucumaria japonica* (Dendrochirota: Cucumariidae). *Russian J Marine Biol*, 2002, **28**(3): 197~202
- Smith V J. The echinoderms. In: Ratcliffe N A, Rowley A F, eds. *Invertebrate Blood Cells*. New York: Academic Press, 1981. 513~562
- Henson J H, Nesbitt D, Wright B D, *et al.* Immunolocalization of kinesin in sea urchin coelomocytes: association of kinesin with intracellular organelles. *J Cell Sci*, 1992, **103**(2): 309~320
- Henson J H, Svitkina T M, Burns A R, *et al.* Two components of actin-based retrograde flow in sea urchin coelomocytes. *Mol Biol Cell*, 1999, **10**(12): 4075~4090
- Gross P S, Clow L A, Smith L C. SpC3, the complement homologue from the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*, is expressed in two subpopulations of the phagocytic coelomocytes. *Immunogenetics*, 2000, **51**(12): 1034~1044
- Matranga V, Pinsino A, Celi M, *et al.* Impacts of UV-B radiation on short-term cultures of sea urchin coelomocytes. *Mar Biol*, 2006, **149**(1): 25~34
- David A R, Jennifer R, Rebecca A N, *et al.* A complement component C3-like peptide stimulates chemotaxis by hemocytes from an invertebrate chordate, the tunicate, *Pyura stolonifera*. *Comp Biochem Physiol*, 2003, **134**(2): 377~386
- Hoëbaeus E. Coelomocytes in normal and pathologically altered body walls of sea urchins. In: Jangoux M, ed. *Proceedings of The European Colloquium on Echinoderms*. Rotterdam, The Netherlands: Balkema A A, 1979. 247~249
- Shimizu M. Histopathological investigation of the spotted gonad disease in the sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*. *J Invert Pathol*, 1994, **63**(2): 182~187
- Varadarajan J, Karp R D. Histological versus morphological assessment of graft rejection in invertebrates. *Transplantation*, 1983, **35**(6): 629~631
- Dales R P. Phagocyte interactions in echinoid and asteroid echinoderms. *J Marine Biol Assoc UK*, 1992, **72**(2): 473~482
- Arizza V, Giaramita F T, Parrinello D, *et al.* Cell cooperation in coelomocyte cytotoxic activity of *Paracentrotus lividus* coelomocytes. *Comp Biochem Physiol*, 2007, **147**(2): 389~394
- Pagliara P, Canicatti C. Isolation of cytolytic granules from sea urchin amoebocytes. *Eur J Cell Biol*, 1993, **60**(1): 179~184
- Greenberg S, Grinstein S. Phagocytosis and innate immunity. *Curr Opin Immunol*, 2002, **14**(1): 136~145
- Clow L A, Raftos D A, Gross P S, *et al.* The sea urchin complement homologue, SpC3, functions as opsonin. *J Experimental Biology*, 2004, **207**(12): 2147~2155
- Ito T, Matsutani T, Mori K, *et al.* Phagocytosis and hydrogen peroxide production by phagocytes of the sea urchin *Strongylocentrotus nudus*. *Dev Comp Immunol*, 1992, **16**(4): 287~294
- Clow L A, Gross P S, Shih C S, *et al.* Expression of SpC3, the sea urchin complement component, in response to lipopolysaccharide. *Immunogenetics*, 2000, **51**(12): 1021~1033
- Silva J R M C, Peck L. Induced *in vitro* phagocytosis of the Antarctic starfish *Odontaster validus* (Koehler 1906) at 0°C. *Polar Biology*, 2000, **23**(4): 225~230
- Smith L C. Thioester function is conserved in SpC3, the sea urchin homologue of the complement component C3. *Dev Comp Immunol*, 2002, **26**(7): 603~614
- Smith L C, Britten R J, Davidson E H. Lipopolysaccharide activates

- the sea urchin immune system. *Dev Comp Immunol*, 1995, **19**(3): 217~224
- 30 Xing J, Chia F S. Opsonin-like molecule found in coelomic fluid of a sea cucumber, *Holothuria leucospilota*. *Marine Biology*, 2000, **136**(6): 979~986
 - 31 Pedro G S, César A B, Francisco R, *et al.* Lipopolysaccharides induce intestinal serum amyloid A expression in the sea cucumber *Holothuria glaberrima*. *Dev Comp Immunol*, 2003, **27**(2): 105~110
 - 32 Tabata Y, Ikada Y. Phagocytosis of Polymer Microspheres by Macrophages. In: Takekoshi Irie T M, Boutevin B, Tabata Y, Ikada Y, eds. *New Polymer Materials*. Berlin: Springer-Verlag, 1990. 107~141
 - 33 Canicatti C. Lysosomal enzyme pattern in *Holothuria polii* coelomocytes. *J Invert Pathol*, 1990, **56**(1): 70~74
 - 34 Dybas L, Frankboner P V. Holothurian survival strategies: mechanisms for the maintenance of bacteriostatic environment in the coelomic cavity of the sea cucumber, *Parastichopus californicus*. *Dev Comp Immunol*, 1986, **10**(3): 311~330
 - 35 Haug T, Kjuul A K, Styrvoid O B, *et al.* Antibacterial activity in *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucumaria frondosa* (Holothuroidea), and *Asterias rubens* (Asteroidea). *J Invert Pathol*, 2002, **81**(2): 94~102
 - 36 Kamiya H, Muramoto K, Goto R, *et al.* Lectins in the hemolymph of a starfish, *Asterina pectinifera*: purification and characterization. *Dev Comp Immunol*, 1992, **16**(2~3): 243~250
 - 37 Canicatti C, Pagliara P, Stabili L. Sea urchin coelomic fluid agglutinin mediates coelomocyte adhesion. *Eur J Cell Biol*, 1992, **58**(2): 291~295
 - 38 Matsui T, Ozeki Y, Suzuki M, *et al.* Purification and characterization of two Ca^{2+} -dependent lectins from coelomic plasma of sea cucumber, *Stichopus japonicus*. *J Biochem*, 1994, **116**(5): 1127~1133
 - 39 Hatakeyama T, Nagatomo H, Yamasaki N. Interaction of the hemolytic lectin CEL- III from the marine invertebrate *Cucumaria echinata* with the erythrocyte membrane. *J Biol Chem* 1995, **270**(8): 3560~3564.
 - 40 Burke R D, Watkins R F. Stimulation of starfish coelomocytes by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **180**(2): 579~584
 - 41 Canicatti C. Binding properties of *Paracentrotus lividus* (Echinoidea) hemolysin. *Comp Biochem Physiol*, 1991, **98**(3~4): 463~468
 - 42 Roch P, Canicatti C, Sammarco S. Tetrameric structure of the active phenoloxidase evidenced in the coelomocytes of the echinoderm *Holothuria tubulosa*. *Comp Biochem Physiol*, 1992, **102B**(2): 349~355
 - 43 Soferhael I K, Smith V J. Prophenoloxidaes-activating cascade as a recognition and defense system in arthropods. In: Gupta AP, ed. *Hemolytic and Humoral Immunity in Arthropods*. New York: John Wiley, 1986. 251~285
 - 44 Al-Sharif W Z, Sunyer J O, Lambris J D, *et al.* Sea urchin coelomocytes specifically express a homologue of the complement component C3. *J Immunol*, 1998, **160**(6): 2983~2997
 - 45 Nonaka M, Azumi K. Opsonic complement system of the solitary ascidian, *Halocynthia roretzi*. *Dev Comp Immunol*, 1999, **23**(4~5): 421~427
 - 46 Marino R, Kimura Y, De Santis R, *et al.* Complement in urochordates: Cloning and characterization of two C3-like genes in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Immunogenetics*, 2002, **53**(12): 1055~1064
 - 47 Raftos D A, Nair S V, Robbins J, *et al.* A complement component C3-like protein from the tunicate, *Styela plicata*. *Dev Comp Immunol*, 2002, **26**(4): 307~312
 - 48 Zhu Y, Thangamani S, Ho B, *et al.* The ancient origin of the complement system. *EMBO J*, 2005, **24**(2): 382~394
 - 49 Dishaw L J, Smith S L, Bigger C H. Characterization of a C3-like cDNA in a coral: Phylogenetic implications. *Immunogenetics*, 2005, **57**(7): 535~548
 - 50 Lagueux M, Perrodou E, Levashina E A, *et al.* Constitutive expression of a complement-like protein in TOLL and JAK gain-of-function mutants of *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(21): 11427~11432
 - 51 Levashina E A, Moita L F, Blandin S, *et al.* Conserved role of a complement-like protein in phagocytosis revealed by dsRNA knockout in cultured cells of the mosquito, *Anopheles gambiae*. *Cell*, 2001, **104**(5): 709~718
 - 52 Blandin S, Levashina E A. Thioester-containing proteins and insect immunity. *Mol Immunol*, 2004, **40**(12): 903~908
 - 53 Nakao M, Fushitani Y, Fujiki K, *et al.* Two diverged complement factor B/C2-like cDNA sequences from a teleost, the common carp (*Cyprinus carpio*). *J Immunol*, 1998, **161**(9): 4811~4818
 - 54 Smith L C, Shih C S, Dachenhausen S G. Coelomocytes express SpBf, a homologue of factor B, the second component in the sea urchin complement system. *J Immunol*, 1998, **161**(12): 6784~6793
 - 55 Azumi K, Santis R D, Tomaso A D, *et al.* Genomic analysis of immunity in a urochordate and the emergence of the vertebrate immune system: "Waiting for Godot". *Immunogenetics*, 2003, **55**(8): 570~581
 - 56 Terwilliger D P, Clow L A, Gross P S, *et al.* Constitutive expression and alternative splicing of the exons encoding SCRs in Sp152, the sea urchin homologue of complement factor B. Implications on the evolution of the Bf/C2 gene family. *Immunogenetics*, 2004, **56**(7): 531~543
 - 57 Volanakis J E, Frank M M. *The Human Complement System in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, 1998. 9~32
 - 58 Dodds A W, Law S K. The phylogeny and evolution of the thioester bond-containing proteins C3, C4 and alpha 2- macroglobulin. *Immunol Rev*, 1998, **166**(1): 15~26
 - 59 Hibino T, Loza-Col I M, Messier C, *et al.* The immune gene repertoire encoded in the purple sea urchin genome. *Developmental Biology*, 2006, **300**(1): 349~365
 - 60 Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: Linking innate and adaptive immunity. *Microbes and Infection*, 2004, **6**(15): 1382~1387
 - 61 Sarrias M R, Gronlund J, Padilla O, *et al.* The scavenger receptor

- cysteine-rich (SRCR) domain: An ancient and highly conserved protein module of the innate immune system. *Crit Rev Immunol*, 2004, **24**(1): 1~37
- 62 Pancer Z. Dynamic expression of multiple scavenger receptor cysteine-rich genes in coelomocytes of the purple sea urchin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(24): 13156~13161
- 63 Nair S V, Valle H D, Gross P S, *et al.* Macroarray analysis of coelomocyte gene expression in response to LPS in the sea urchin. Identification of unexpected immune diversity in an invertebrate. *Physiol Genomics*, 2005, **22**(1): 33~47
- 64 Buckley K M, Smith L C. Extraordinary diversity among members of the large gene family, 185/333, from the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *BMC Mol Biol*, 2007, **8**(68): 1~20
- 65 Terwilliger D P, Buckley K M, Brockton V, *et al.* Distinctive expression patterns of 185/333 genes in the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*: an unexpectedly diverse family of transcripts in response to LPS, beta-1,3- glucan, and dsRNA. *BMC Mol Biol*, 2007, **8**(16): 1~16
- 66 Brockton V, Henson J H, Raftos D A, *et al.* Localization and diversity of 185/333 proteins from the purple sea urchin—unexpected protein-size range and protein expression in a new coelomocyte type. *J Cell Sci*, 2008, **121**(3): 339~348
- 67 Buckley K M, Munshaw S, Kepler T B, *et al.* The 185/333 gene family is a rapidly diversifying host-defense gene cluster in the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *J Mol Biol*, 2008, **379**(4): 912~928

The Evolution of Echinoderm Immunology*

MENG Fan-Yi, MAI Kang-Sen**, MA Hong-Ming, ZHANG Wen-Bing

(Key Laboratory of Mariculture, Education Ministry of China, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract Echinoderms are deuterostome, and occupy the top taxonomic position of invertebrates, where is the evolutionary linkage between invertebrates and vertebrates. This is a critical phylogenetic vantage point to infer both the early evolution of bilaterian immunity and the underpinnings of the vertebrate adaptive immune system. The available published literatures on echinoderm immunological mechanisms are compiled and discussed here to understand its evolution process and the hot spots or directions in future investigations. Echinoderms have an innate immune system like vertebrates but their adaptive attributes have not been observed. Its immune responses are based on coelomocytes activity working in parallel with a variety of humoral factors that react directly with invading pathogens. Comparative studies of immune functions in echinoderms have demonstrated that there is a complement system in echinoderms that appears to have alternative pathway and lectin pathway but lack classical pathway and terminal pathway. The sea urchin innate immune system has a number of large gene families. Further investigations are needed to understand the unknown immune-associated genes, proteins, immune signaling pathways and effector molecules, and to know the origin, the underlying mechanisms and evolution of innate immune system.

Key words echinoderm, deuterostome, innate immunity, comparative immunology

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00761

*This work was supported by a grant from Hi-Tech Research and Development Program of China (2006AA100313).

**Corresponding author.

Tel: 86-532-82032038, E-mail: kmai@ouc.edu.cn

Received: November 5, 2008 Accepted: February 24, 2009