

[文章编号] 1007-7405(2013)06-0413-07

· 综 述 ·

鱼类 Cathelicidin 抗菌肽的研究进展

张东玲^{1 2}, 关瑞章^{1 2}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 福建 厦门 361021)

[摘要] 抗菌肽作为非特异性免疫因子, 在机体抵抗病原感染中发挥重要的作用. Cathelicidin 是目前发现的一个最大抗菌肽家族, 具有多重生物学功能. 鱼类 Cathelicidin 的研究虽比较滞后, 但国内外学者已取得了一些研究成果. 综述了前人鱼类 Cathelicidin 的研究成果, 如基因结构、蛋白酶酶切作用、体内表达状况和生物学活性, 以期后续研究提供一定的研究基础和思路.

[关键词] Cathelicidin; 基因结构; 蛋白酶酶切; 表达机制; 生物活性

[中图分类号] S 941

[文献标志码] A

Recent Advances on Cathelicidin Antimicrobial Peptide from Fish

ZHANG Dong-ling^{1 2}, GUAN Rui-zhang^{1 2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Engineering Research Center of Modern Eel Industry Technology, Ministry of Education, Xiamen 361021, China)

Abstract: Antimicrobial peptides are members of nonspecific immune factors that play essential roles in organism's immunity to pathogen. Cathelicidin is one of the major families of antimicrobial peptides that have multiple biological functions. Although the research on Cathelicidin in fish is less intensive than those in mammals, some significant progresses has been made recently. This article reviews some of these advances including new insights into gene structures, photolytic activation, gene expression mechanisms, and biological activities of Cathelicidin in fish. Finally, additional research questions and hypothesis are proposed for further investigation into fish Cathelicidin.

Key words: Cathelicidin; gene structures; proteolytic activation; gene expression mechanism; biological activities

0 引言

Cathelicidin 是目前发现的一个最大抗菌肽家族, 具有广谱抗病原微生物的作用, 对革兰氏阳性菌、阴性菌、真菌、病毒和原生动物都有很好的杀灭效果. 此外, Cathelicidin 还有其他一些生物学功能, 如抗肿瘤、促使血管的生成、趋化功能(使导致炎症的细胞聚集到病灶部位)、伤口修复和抑制机体过氧化物的生成等多重作用^[1]. 因此, Cathelicidin 抗菌肽的研究具有重要的科学意义和应用价

[收稿日期] 2013-05-24

[修回日期] 2013-09-23

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31302198); 福建省教育厅项目(JA09157); 李尚大基金项目(ZC2013003); 福建省海洋与渔业厅重点项目(201212140006)

[作者简介] 张东玲(1977—), 女, 博士生, 讲师, 从事鱼类免疫学方向研究. 通讯作者: 关瑞章, E-mail: rzguan@jmu.edu.cn.

值, 并已成为医学、免疫学和分子生物学等学科的研究热点. Cathelicidin 已在人^[2-3]、猴^[4]、牛^[5]、猪^[6]、马^[7]、羊^[8]、兔^[9]、鼠^[10]、鹿^[11]、袋鼠^[12]和熊猫^[13]等多种哺乳动物以及多种鱼类中被确认. 迄今, 哺乳类 Cathelicidin 抗菌肽的研究已较深入, 鱼类却相对滞后, 但各国学者也已取得一定的研究成果. 本文综述前人在鱼类 Cathelicidin 抗菌肽方面的前期研究成果, 以期后续研究提供一定的研究基础和研究思路.

1 鱼类 Cathelicidin 基因结构特征

迄今, 鱼类 Cathelicidin 已在盲鳗 (*Myxine glutinosa*)^[14]、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[15-16]、大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[16]、北极红点鲑 (*Salvelinus alpinus*)^[17]、大西洋鲟 (*Gadus morhua*)^[17-18]、美洲红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*)^[17]、大鳞大马哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*)^[19]、亚东鲑 (*Salmo trutta fario*)^[20]、茴鱼 (*Thymallus thymallus*)^[20]和香鱼中 (*Plecoglossus altivelis*)^[21]被确认 (如表 1). 人类仅有一个 Cathelicidin 基因, 其他哺乳动物和鱼类含有多个 Cathelicidin 基因. 鱼类 Cathelicidin 结构同哺乳动物一样, 包括 Pre、Pro 和 C 端成熟肽三个区域, 但所含氨基酸数目有所不同. Pre 区域 (也称信号肽) 含有 19~26 个 AA 残基的信号肽 (其他动物为 29 或 30 个), Pro 区域含有 60~128 个 AA 残基 (其他动物为 94~114 个), 且靠近 C 端有 4 个半胱氨酸形成两个分子内二硫键, 直接影响到整个分子的结构. 但是, 在北极红点鲑和美洲红点鲑却只有 2 个半胱氨酸, 是否鱼类 Cathelicidin 如同 Hecpidin 一样存在多个半胱氨酸结构, 且在环境的选择压力下, 是否受到达尔文正向选择作用, 还有待进一步研究考证^[22]. C 端的成熟肽是一个高度变异的抗菌区域, 含有 29~77 个 AA 残基.

用 Blast 在线软件分析迄今已发现的鱼类 Cathelicidin 基因, 发现除盲鳗外, 其他鱼类中的 Cathelicidin 并不像哺乳动物中的含有一段高度保守的 Cathelin 结构域. 基因组序列分析, 鱼类 Cathelicidin 包括 4 个外显子和 3 个内含子, 1~3 个外显子编码 Pro 区域, 第 4 个外显子编码成熟肽区域, 但是北极红点鲑和美洲红点鲑第 3 个外显子缺失, 这可能与北极红点鲑和美洲红点鲑生存环境息息相关^[17]. 笔者从日本鳗分离到两个 Cathelicidin 基因, 即 *ajcath1* (Genebank NO: AFP72291) 和 *ajcath2* (Genebank NO: AFP72292). *ajcath1* cDNA 全长 842 bp, 编码 189 个氨基酸; *ajcath2* cDNA 全长 633 bp, 编码 159 个氨基酸. 进化树分析日本鳗与其他鱼类 *ajcath1* 氨基酸序列同源性为 45%~53%, 与哺乳动物 Cathelicidin 氨基酸序列同源性仅为 24%~27%; 而 *ajcath2* 与哺乳动物 Cathelicidin 氨基酸序列同源性为 30%~48%, 与迄今已发现的鱼类 Cathelicidin 氨基酸序列没有同源性, *ajcath2* 可能为一种新的鱼类 Cathelicidin 基因.

根据 Cathelicidin 二级结构的不同, Cathelicidin 抗菌肽可分为以下四大类: 第一类是 α -螺旋结构 (如鼠的 CRAMP); 第二类是延伸螺旋结构 (如牛的 Indolicidin), 一般含有大量的脯氨酸 (13%~49%) 和精氨酸 (13%~33%), 通常富含脯氨酸和精氨酸的肽对革兰氏阴性菌比对阳性菌更有效; 第三类是环状结构 (如牛的 Bactenecin), 这一类分子由于含有一个二硫键而形成环状; 第四类是 β 折叠结构 (如猪的 Protegrin1), 这一类分子通常含有 2~3 个二硫键, 这些分类结构有利于抗菌肽与细菌细胞膜结合^[23-24]. 笔者应用在线软件预测鱼类 Cathelicidin 抗菌成熟肽二级结构, 结果如表 1 所示, 除盲鳗外, 其他鱼类 Cathelicidin 尽管可以形成 α -螺旋、 β 折叠和延伸结构, 但形成任意卷曲结构的可能性更大, 因此, 鱼类 Cathelicidin 抗菌机制有待进一步研究.

2 蛋白酶水解作用

Cathelicidin 的 propeptide 必须在蛋白酶水解作用下酶切释放抗菌成熟肽部分, 如图 1 所示. 首先 Cathelicidin 在信号肽引导下进入到细胞内部, 然后被信号肽酶切除信号肽, 剩余的部分称 propeptide. 这一部分是没有抗菌活性功能的, 必须把剩余部份的 Cathelin 切除, 这主要依靠某种蛋白酶的水解作用. 牛和猪的这一过程是通过嗜中性粒细胞的弹性蛋白酶来完成的^[25]. 弹性蛋白酶是丝氨酸蛋白酶

家族中的一员,对丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)或缬氨酸(V)等含羧基的多肽键起催化水解的作用.

表1 鱼类 Cathelicidin 基因结构特征
Tab.1 Structure characteristics of fish Cathelicidin

名称 Name	种属 Genus	信号肽氨基酸 数目 Signal peptide AA amounts	Pro 区域氨 基酸数目 Pro peptide AA amounts	成熟肽氨基酸 数目 Mature peptide AA amounts	预测的成熟肽 二级结构 Prediction for second structure of mature peptide
<i>mgcath29</i>	盲鳗 <i>Myxine glutinosa</i>	26	116	37	70.27% α 螺旋 Alpha helix
<i>mgcath37</i>	盲鳗 <i>Myxine glutinosa</i>	26	116	29	48.28% α 螺旋 Alpha helix
<i>rtcath1</i>	虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	22	123	71	40.85% 任意卷曲 Random coil
<i>rtcath2</i>	虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	22	120	66	74.24% 任意卷曲 Random coil
<i>ascath1</i>	大西洋鲑鱼 <i>Salmo salar</i>	22	122	63	38.1% 任意卷曲 Random coil
<i>ascath2</i>	大西洋鲑鱼 <i>Salmo salar</i>	22	127	53	69.81% 任意卷曲 Random coil
<i>codcath1</i>	大西洋鲟 <i>Gadus morhua</i>	19	105	69	88.41% 任意卷曲 Random coil
<i>codcath2</i>	大西洋鲟 <i>Gadus morhua</i>	19	105	70	100% 任意卷曲 Random coil
<i>codcath3</i>	大西洋鲟 <i>Gadus morhua</i>	19	105	76	92.11% 任意卷曲 Random coil
<i>accath2</i>	北极红点鲑 <i>Salvelinus alpinus</i>	19	60	53	69.81% 任意卷曲 Random coil
<i>scath1</i>	亚东鲑 <i>Salmo trutta fario</i>	22	122	60	51.67% 任意卷曲 Random coil
<i>btcath1</i>	美洲红点鲑 <i>Salvelinus fontinalis</i>	22	123	77	67.53% 任意卷曲 Random coil
<i>btcath2</i>	美洲红点鲑 <i>Salvelinus fontinalis</i>	22	85	53	69.81% 任意卷曲 Random coil
<i>escath2</i>	大鳞大马哈鱼 <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	5'没测通	117	47	53.19% 任意卷曲 Random coil
<i>tcath2</i>	茴鱼 <i>Thymallus thymallus</i>	22	123	42	69.05% 任意卷曲 Random coil
<i>acath2</i>	香鱼 <i>Plecoglossus altivelis</i>	20	110	61	85.25% 任意卷曲 Random coil

多数鱼类尽管没有 Cathelin 区域,但也必须切除一部分 pro 区域,才能得到抗菌成熟肽部分. 有研究证明鱼类 Cathelicidin 可以通过人嗜中性粒细胞内的弹性蛋白酶酶切释放抗菌成熟肽^[15-16 21],如表2所示,苏氨酸(T)、缬氨酸(V)经常出现在这一酶切位点,甘氨酸(G)和异亮氨酸(I)也有出现. 但盲鳗 pro 区域和成熟肽之间为4个精氨酸,一些激原转化酶,如 Kex2 和 furin 蛋白酶可以特异性酶切这一位点,由此推断 Kex2 和 furin 蛋白酶可能为潜在的酶原^[26]. 因此,蛋白酶水解 Cathelicidin 释放抗菌成熟肽这一关键步骤,不同的物种所需的蛋白酶是不同的.

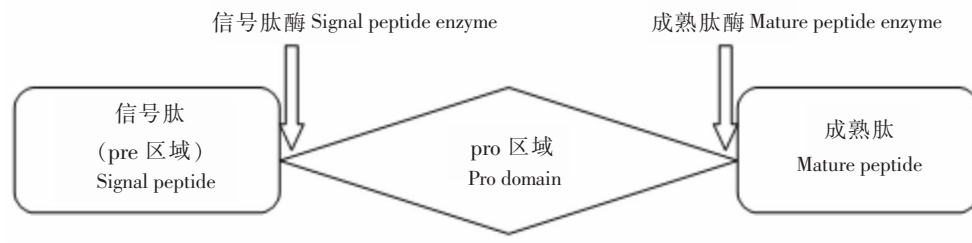


图 1 鱼类 Cathelicidin 抗菌肽前体结构

Fig.1 Structure of precursor of fish Cathelicidin

表 2 鱼类 Cathelicidin 成熟肽切割位点

Tab.2 Cleavage sites of fish Cathelicidin mature peptide

名称 Name	种属 Genus	成熟肽氨基酸序列 Mature peptide sequence	参考文献 Reference
<i>mgcath29</i>	盲鳗 <i>Myxine glutinosa</i>	RRRR ↓ GWFKKAWRKVKHAGRRVLDATAKGVGRHYLNNW LNRYRG	14
<i>mgcath37</i>	盲鳗 <i>Myxine glutinosa</i>	RRRR GWFKKAWRKVKNAGRVLKGVGIHYGVGLIG	14
<i>rtcath1</i>	虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	QKIRT RRSKVRICSRGKNCVSRPGVGSIIHRPGGSLIGRPGGGSVIGR PGGGSPPGGGSFNDEFIRDHSDGNRFA	15, 16
<i>rtcath2</i>	虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	QKIRT RRGKDSGCGPKMGRKDSKGGWRGRPGSGSRPGFCGSIAGASG VNHVGTLPASNSTHPLDNCKISPQ	15, 16
<i>ascath1</i>	大西洋鲑鱼 <i>Salmo salar</i>	QKIRT RRSQARKCSRNGGKIGSIRCRGGGTRLGGCSLIGRLRVALL LGVAPFLDLSQINVMEDIAFA	16
<i>ascath2</i>	大西洋鲑鱼 <i>Salmo salar</i>	QKIRT RRGKPSGGSRGSKMGSKDSKGGWRGRPGSGSRPGFCGSSIAGA SGRDQGGTRNA	16
<i>codcath1</i>	大西洋鲟 <i>Gadus morhua</i>	TLTRV RRSRSRGRSGKGGRRGSGSGSRGSKGPSRSGSSGSRGSKG SRGGRSGRSTIAGNGNRNNGGTRTA	17, 18
<i>codcath2</i>	大西洋鲟 <i>Gadus morhua</i>	TLTRV RRSRSRGRSGKGGRRGSGRESRGRSGSKGPSRSGSKGSRGSK GSRGGRSLRGSTIGRNLKRRRTVPVRPL	17, 18
<i>codcath3</i>	大西洋鲟 <i>Gadus morhua</i>	TLTRV RRSRSRGRSGKGGRRGSGSGSRGSKGPSRSGSSGSRGSK GSSGSRGSKGSRGGRSGRSTIAGNGNRNNGGTR	17, 18
<i>accath2</i>	北极红点鲑 <i>Salvelinus alpinus</i>	QKIRT RRGKASGSSDSNMGRRDSKGGRRRGRPGSGSRPGFCGSSIAG ASGVNHGGTRTA	17
<i>scath1</i>	亚东鲑 <i>Salmo trutta fario</i>	QKIRT RRSQARKCSRNGGGGIRCPGGGIRLGGGSLIGRPKGGSPGG GSFTAGFIRDQRDGNRFA	20
<i>btcath1</i>	美洲红点鲑 <i>Salvelinus fontinalis</i>	QKIRT RRSKARICSRGKDCKFRSNGRHGSGSRLGGGSLIGRPGGGS PGSSVIGRPGGGSRLGSGSLIGRPGGGSRTGVAP	17
<i>btcath2</i>	美洲红点鲑 <i>Salvelinus fontinalis</i>	QKIRT RRGKASGSSGSNMGRKDSKGGRRGRPGSGSRPGFCGSSIAGA SGVNHGGTRTA	17
<i>cscath2</i>	大鳞大马哈鱼 <i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	QKIRT RRGKDSGSGSRGSKMVGWRGRPGSRSRPGVGSIGASGGN HVGTTLTA	19
<i>tcath2</i>	茴鱼 <i>Thymallus thymallus</i>	QKFRT RRSKSSNGGRKSGKGGSKGRPGSGSSIAGASGVNHGGTR TA	20
<i>acath2</i>	香鱼 <i>Plecoglossus altivelis</i>	LKQKI RMRRSKSGKSGSKGSGKSGKSGKSGKSGKSGKSGKSGSRPG GSSIAGGGSKGKGGTQTA	21

3 鱼类 Cathelicidin 基因的组织表达特性

大部分 Cathelicidin 的表达是在骨髓细胞分化的过程中进行的, 因此, Cathelicidin 主要存在于哺乳动物未成熟的嗜中性粒细胞, 在其他组织和器官也有表达. 盲鳗既没有脾脏也没有骨髓, *mgcath37* 仅表达在肠粘膜静脉管周围的造血细胞内, 这与哺乳动物中的 Cathelicidin 的表达是一致的^[14]. Cathelicidin 为非特异性免疫因子, 头肾和脾脏是鱼类免疫细胞的主要分布场所, 因此, 绝大多数鱼类

中的 Cathelicidin 在头肾和脾脏大量表达. Maier 等^[17]报道大西洋鲑中的 Cathelicidin 主要在脾脏和肾脏中表达, 鳃、肠、幽门垂表达量较少, 注射杀鲑气单胞菌无色亚种 (*A. salmonicida* ssp. *achromogenes*) 24 h 后, Cathelicidin 表达量显著增加. 这与 Broekman 等^[18]和 Shewring 等^[27]的报道是一致的. 北极红点鲑在注射 PBS 后, Cathelicidin 在所有组织均有表达, 头肾和脾脏表达量最高, 免疫刺激后, 各组织的表达量明显增加^[17]. Scocchi 等^[20]克隆得到 3 种鲑鱼属鱼类 *scath1* 或 *scath2*, 并以亚东鲑为例, 分析了 *scath1* 组成型表达情况, 结果显示, *scath1* 在头肾和体肾表达量最高, 其次为脾脏、鳃和皮肤. Chang 等^[15-16]应用 Northern-blot 方法分析虹鳟 *rtcath1* 组织表达情况, *rtcath1* 在健康鱼类组织和器官中没有表达, 在细菌的刺激下才会诱导表达, 这也许是因为 Northern-blot 方法不够灵敏, 也或者是因为不同鱼类的 Cathelicidin 组织表达图谱不一致. Lu 等^[21]报道给香鱼注射鳗利斯顿弧菌 (*Listonella anguillarum*), 头肾 Cathelicidin 表达量为对照组的 251.7 倍. Broekman 等^[28]应用细菌及其裂解产物免疫刺激大麻哈鱼胚胎细胞系 CHSE-214 和大西洋鲑幼鱼细胞系 ACL, 发现多种细菌及其裂解产物能够诱导 Cathelicidin 表达, 但进化距离较远的鱼类 Cathelicidin 表达水平差异较大. De 等^[29]研究表明, 水霉菌 (*Saprolegnia parasitica*) 能够诱导虹鳟 *rtcath1* 和 *rtcath2* 表达水平上调. Chettri 等^[30]研究发现, 飘游鱼波豆虫 (*Ichthyobodo necator*) 能够诱导虹鳟 *rtcath2* 表达水平上调. Gorgoglione B 等^[31]研究也表明, 粘孢子虫 (*Tetracapsuloides bryosalmonae*) 能够诱导虹鳟 *rtcath1* 和 *rtcath2* 表达水平上调. 这提示大范围的免疫刺激, 包括细菌及其裂解产物、真菌、病毒、寄生虫均能够提高鱼类中的 Cathelicidin 的表达水平, 那么鱼类中的 Cathelicidin 除了有杀灭或抑制细菌和真菌生长作用外, 是否还有杀灭或抑制寄生虫生长的作用, 有待考证.

4 鱼类 Cathelicidin 生物活性

迄今, 对于鱼类 Cathelicidin 生物活性的研究只限于抗菌活性的检测, 鱼类 Cathelicidin 具有广谱的抗菌活性, 对革兰氏阳性菌、阴性菌和真菌具有抑制或杀灭作用. 对于不同的菌株, Cathelicidin 抗菌能力不同, 不同鱼类的 Cathelicidin 的抗菌活性也不尽相同. 虹鳟 *rtcath1* (R146 - P181) 和 *rtcath2* (R143 - I178) 对革兰氏阴性菌 (副溶血弧菌 *Vibrio anguillarum* M1741 和 M1742、大肠杆菌 *Escherichia coli*、美人鱼发光杆菌 *Photobacterium damsela* MT1415 和 EPOY8803II) 最小抑菌浓度 (MIC) 为 0.5 ~ 4 $\mu\text{mol/L}$, 而对鲁氏耶尔森菌 (*Yersinia ruckeri* MT252) MIC 为 8 $\mu\text{mol/L}$, 对杀鲑气单胞菌 (*Aeromonas salmonicida* MT004) MIC 为 5 ~ 10 $\mu\text{mol/L}$, 对革兰氏阳性菌 (4 株格氏乳球菌 *Lactococcus garvieae* MT2055、MT2059、MT2290 和 MT2291) MIC 为 0.1 ~ 8 $\mu\text{mol/L}$ ^[16]. 虹鳟 *rtcath1* (R151 - V186) 对这些菌的抑制能力却远远不如 *rtcath1* (R146 - P181), MIC 为 5 ~ 20 $\mu\text{mol/L}$ ^[15]. 而虹鳟 *rtcath2* (R143 - I178) 在浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 尽管不能杀灭水霉游动孢子 (*Saprolegnia zoospores*), 但能推迟水霉菌孢子 (*S. parasitica*) 的形成^[29]. 香鱼 *acath2* 对革兰氏阴性菌 (嗜水气单胞菌 *A. hydrophila*、鳗利斯顿氏菌 *Listonella anguillarum* Ayu - H080701、铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*、鲑鱼爱德华氏菌 *Edwardsiella ictaluri*、大肠杆菌、副溶血性弧菌、哈维氏弧菌 *V. harveyi*、溶藻弧菌 *V. alginolyticus*) MIC 为 0.3 ~ 4.6 $\mu\text{mol/L}$, 对杀鲑气单胞菌 MIC 为 9.20 $\mu\text{mol/L}$, 而对海豚链球菌 *Streptococcus iniae*, 即使浓度达到 18.4 $\mu\text{mol/L}$ 仍然没有抗菌活性^[21]. 盲鳗 *mgcath37* 对革兰氏阴性菌 (拟杆菌 *Bacteroides* spp. ATCC29771、43935 和 12290、宋内氏志贺菌 *Shigella sonnei*、嗜麦芽黄单胞菌 *Xanthomonas maltophilia*、沙门氏菌 *Salmonella* Group B、产气肠杆菌 *Enterobacter aerogenes*) MIC 为 0.5 ~ 16 $\mu\text{mol/L}$, 对革兰氏阳性菌 (疮疱丙酸杆菌 *Propionibacterium acnes* ATCC11827 和 33179、表皮葡萄球菌 *Staphylococcus epidermidis*、化脓链球菌 *S. pyogenes*、屎肠球菌 *Enterococcus faecium*、产气荚膜梭菌 *Clostridium perfringens* ATCC9081 和 13124) MIC 为 2 ~ 32 $\mu\text{mol/L}$, 而对革兰氏阴性菌 (奇异变形杆菌 *Proteus mirabilis* 和粘质沙雷菌 *Serratia marcescens*) 及真菌 (白色念珠菌 *Candida albicans*) MIC 达到 256 $\mu\text{mol/L}$ 以上^[14]. 大西洋鲑 *codcath1* 对一株革兰氏阳性菌巨大芽孢杆菌 (*B. Megaterium* Bm11) MIC 为 5 $\mu\text{mol/L}$, 而对另外一株

革兰氏阳性菌乳酸杆菌 (*Lactobacillus sp.*) MIC 为 80 $\mu\text{mol/L}$, 对革兰氏阴性菌 (大肠杆菌、粘放线菌 *Moritella viscosa*、鲁氏耶尔森氏菌、鳃弧菌、温和气单胞菌、嗜水气单胞菌、杀鲑气单胞菌、铜绿假单胞菌) MIC 为 5~10 $\mu\text{mol/L}$, 对真菌白色念珠菌 MIC 为 2.5 $\mu\text{mol/L}$ ^[18-32].

5 小结与展望

综上所述,近年来对鱼类 Cathelicidin 抗菌肽的研究已取得一些研究成果,如获得 Cathelicidin 基因结构,确认成熟肽、机体内表达状况和抗菌谱。但是,鱼类 Cathelicidin 抗菌肽还有其他一些方面值得深入研究。首先要探究鱼类 Cathelicidin 抗菌肽抗菌以外的功能。近几年,国内外学者陆续研究发现 Cathelicidin 抗菌肽具有许多新的功能^[33-34]。鱼类 Cathelicidin 除抗菌以外的功能还未发现,因此下一步研究的重点是探索其多重功能。其次要探明鱼类 Cathelicidin 抗菌肽抗菌作用机理。Cathelicidin 是一种阳离子抗菌肽,一般采用“地毯”模式或“桶板”模式抗菌^[35-36],但鱼类与哺乳动物 Cathelicidin 二级结构不同,多为延伸结构,因此,抗菌机理有待进一步探讨。

此外,鱼类重组 Cathelicidin 抗菌肽的开发应用也是一个重点研究的内容,随着耐药菌群的出现,鱼类 Cathelicidin 成熟肽的确认,真核和原核表达 Cathelicidin 抗菌肽应该有广阔的开发前景。

[参考文献]

- [1] 王中强,汪以真. Cathelicidin 类抗菌肽研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2003, 37(11): 30-34.
- [2] COWLAND J B, JOHNSEN A H, BORREGAARD N. hCAP-18, a Cathelin/probactenecin like protein of human neutrophil specific granules [J]. FEBS Lett, 1995, 368: 173-176.
- [3] SIGURDARDOTTIR S L, THORLEIFSDOTTIR R H, GUZMAN A M, et al. The antimicrobial peptide LL-37 modulates immune responses in the palatine tonsils where it is exclusively expressed by neutrophils and a subset of dendritic cells [J]. Clinical Immunology, 2012, 142: 139-149.
- [4] ZHAO C, NGUYEN T, BOO L M, et al. RL-37, an alpha-helical antimicrobial peptide of the Rhesus monkey [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001, 45(10): 2695-2702.
- [5] MOOKHERJEE N, WILSON H L, DORIA S, et al. Bovine and human Cathelicidin cationic host defense peptides similarly suppress transcriptional responses to bacterial lipopolysaccharide [J]. Journal of Leukocyte Biology, 2006, 80: 1563-1574.
- [6] SCOCCHI M, ZELEDZETSKY I, BENINCASA M, et al. Structural aspects and biological properties of the Cathelicidin PMAP-36 [J]. FEBS J, 2005, 272(17): 4398-4406.
- [7] KERLAVAJ B, SCOCCHI M, GENNARO R, et al. Structural and functional analysis of horse Cathelicidin peptides [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001, 45(3): 715-722.
- [8] GIACOMETTI A, CIRIONI O, GHISELLI R, et al. Cathelicidin peptide sheep myeloid antimicrobial peptide-29 prevents endotoxin-induced mortality in rat models of septic shock [J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2004, 169: 187-194.
- [9] ZAREMBER K A, KATZ S S, TACK B F, et al. Host defense functions of proteolytically processed and parent (unprocessed) Cathelicidin of rabbit granulocytes [J]. Infection and Immunity, 2002, 70(2): 569-576.
- [10] DÖRING Y, DRECHSLER M, WANTHA S, et al. Lack of neutrophil-derived CRAMP reduces atherosclerosis in mice [J]. Circ Res, 2012, 110(8): 1052-1056.
- [11] TREFFERS C, CHEN L, ANDERSON R C, et al. Isolation and characterisation of antimicrobial peptides from deer neutrophils [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2005, 26(2): 165-169.
- [12] CARMAN R L, OLD J M, BAKER M, et al. Identification and expression of a novel marsupial Cathelicidin from the tamar wallaby (*Macropus eugenii*) [J]. Vet Immunol Immunop, 2009, 127: 269-276.
- [13] YAN X W, ZHONG J, LIU H, et al. The Cathelicidin-like peptide derived from panda genome is a potential antimicrobial peptide [J]. Gene, 2012, 492: 368-374.
- [14] UZZELL T, STOLZENBERG E D, SHINNAR A E, et al. Hagfish intestinal antimicrobial peptides are ancient Catheli-

- cidin [J]. *Peptides*, 2003, 24: 1655-1667.
- [15] CHANG C I, PLEGUEZUELOS O, ZHANG Y A, et al. Identification of a novel Cathelicidin gene in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Infect Immun*, 2005, 73: 5053-5064.
- [16] CHANG C I, ZHANG Y A, ZOU J, et al. Two Cathelicidin genes are present in both rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Antimicrob Agents*, 2006, 50: 185-195.
- [17] MAIER V H, DORN K V, GUDMUNSDOTTIR B K, et al. Characterisation of Cathelicidin gene family members in divergent fish species [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45: 3723-3730.
- [18] BROEKMAN D C, FREI D M, GYLFASSON G A, et al. Cod Cathelicidin: Isolation of the mature peptide, cleavage site characterization and developmental expression [J]. *Dev Comp Immunol*, 2011, 35: 296-303.
- [19] MAIER V H, SCHMITT C N, GUDMUNSDOTTIR S, et al. Bacterial DNA indicated as an important inducer of fish Cathelicidin [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45: 2352-2358.
- [20] SCOCCHI M, PALLAVICINI A, SALGARO R, et al. The salmonid Cathelicidin: A gene family with highly varied C-terminal antimicrobial domains [J]. *Comp Biochem Physiol B*, 2009, 152: 376-381.
- [21] LU X J, CHEN J, HUANG Z A, et al. Identification and characterization of a novel Cathelicidin from ayu, *Plecoglossus altivelis* [J]. *Fish Shell Immunol*, 2011, 31(1): 52-58.
- [22] PADHI A, VERGHESE B. Evidence for positive Darwinian selection on the hepcidin gene of Perciform and Pleuronectiform fishes [J]. *Mol Divers*, 2007, 11: 119-130.
- [23] RAMANATHAN B, DAVIS E G, ROSS CR, et al. Cathelicidin: microbicidal activity, mechanisms of action, and roles in innate immunity [J]. *Microbes and Infection*, 2002, 4: 361-372.
- [24] HANCOCK R E W. Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials [J]. *Lancet*, 2001(1): 156-164.
- [25] GENNARO R, ZANETTI M. Structural features and biological activities of the Cathelicidin-derived antimicrobial peptides [J]. *Biopolymers*, 2000, 55(1): 31-49.
- [26] ROCKWELL N C, KRYSAN D J, KOMIYAMA T, et al. Precursor processing by kex2/furin proteases [J]. *Chem Rev*, 2002, 102(12): 4525-4548.
- [27] SHEWRING D M, ZOU J, CORRIPIO-MIYAR Y, et al. Analysis of the Cathelicidin1 gene locus in Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. *Peptides*, 2011(32): 2044-2051.
- [28] BROEKMAN D C, GUEMUNDSSON G H, MAIER V H. Differential regulation of Cathelicidin in salmon and cod [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013(35): 532-538.
- [29] DE BRUIJN I, BELMONTE R, ANDERSON V L, et al. Immune gene expression in trout cell lines infected with the fish pathogenic oomycete *Saprolegnia parasitica* [J]. *Dev Comp Immunol*, 2012, 38: 44-54.
- [30] CHETTRI J K, KUHN J A, JAAFAR R M. Epidermal response of rainbow trout to *Ichthyobodo necator*: immunohistochemical and gene expression studies indicate a Th1 - /Th2 - like switch [J]. *J Fish Dis*, 2013. DOI: 10.1111/jfd.12169.
- [31] GORGOGNONE B, WANG T, SECOMBES C J. Immune gene expression profiling of Proliferative Kidney Disease in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reveals a dominance of anti-inflammatory, antibody and T helper cell-like activities [J]. *Vet Res*, 2013, 44(1): 55.
- [32] BROEKMAN D C, ZENZB A, GUDMUNSDOTTIR B K, et al. Functional characterization of codCath, the mature Cathelicidin antimicrobial peptide from Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. *Peptides*, 2011(32): 2044-2051.
- [33] CURRIE S M, FINDLAY E G, MCHUGH B J, et al. The human cathelicidin LL-37 has antiviral activity against respiratory syncytial virus [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e73659.
- [34] TIAN Y, WANG H, LI B, et al. The Cathelicidin-BF Lys16 mutant Cbf-K16 selectively inhibits non-small cell lung cancer proliferation in vitro [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(5): 2502-2511.
- [35] EPAND R M, VOGEL H J. Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1999, 1462(1/2): 11-28.
- [36] SHAI Y, OREN Z. From "carpet" mechanism to de-novo designed diastereomeric cell-selective antimicrobial peptides [J]. *Peptides*, 2001, 22(10): 1629-1641.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 张子平)