

溶菌酶

——先天性免疫系统中的重要防御物质

田 丹 杨元信

浙江康德权科技有限公司, 杭州 311107

摘要 先天性免疫系统被认为是机体的第一道防线,能抵抗多数病原菌。溶菌酶在生物体内普遍存在,其水平或活性是先天性免疫力的一个重要指标。溶菌酶存在于黏液、淋巴组织、血浆等体液中,也在多种组织中表达,可溶解革兰氏阳性菌和阴性菌细胞,本质上具有调理作用,能激活补体系统和吞噬细胞。随性别、年龄、季节、环境及疾病感染、压力程度的不同,溶菌酶活性也不同。本文综述了溶菌酶在先天性免疫系统中的作用。

关键词 溶菌酶;先天性免疫力;免疫增强剂;抗病力

流行病学研究表明母乳喂养婴儿有许多好处,例如对婴儿总体健康、生长、发育以及对大量急性慢性疾病的防护均有益处。特异性和非特异性防御因子均可介导疾病防护作用,其中抗菌蛋白溶菌酶是人乳中一种重要的非特异性免疫成分。溶菌酶是 1,4-β-乙酰胞壁质酶,可裂解细菌细胞壁肽聚糖的糖苷键,导致细菌细胞膜完整性受损,菌体溶解,是一种天然的抗菌物质。联合国粮农组织、世界卫

生组织和许多国家,如奥地利、澳大利亚、比利时、丹麦、芬兰、法国、德国、意大利、日本、西班牙和英国均认为溶菌酶没有毒性,并批准在某些食品、药物和治疗中使用溶菌酶,据估测,每年有 100 t 溶菌酶用于上述用途。在新鲜蔬菜、鱼、肉、水果、虾以及其他海产品的表面用溶菌酶进行包被可以防腐。在绿色健康养殖观念日益深入人心的今天,溶菌酶以其天然绿色的抗菌特性越来越受到人们的关注。

收稿日期:2014-12-16

田丹,女,硕士生,执业兽医师。

平均每天缺乏 28.5 g。研究显示,可通过提高母猪哺乳期蛋白质和赖氨酸的日摄入量来增加母猪蛋白质和赖氨酸的日摄入量。

试验结果表明,母猪产后 2~7 d 补充泌乳精(营养补充剂),仔猪平均日增重及断奶仔猪成活率得到了显著改善。

母猪的哺乳期失重与采食量和摄入的营养物质高度正相关,然而实际生产中,母猪产后采食量均有大幅度下降,严重缺乏泌乳所需的营养物质,就会动员机体组织营养来维持泌乳量,必然引起母猪失重增加,断奶后恢复时间延长,使发情时间推后。试验结果表明,母猪产后 2~7 d 饲喂泌乳精可降低母猪失重 14.98% ($P<0.05$),同时缩短了母猪断奶至发情的间隔期约 2.6 d ($P<0.05$)。增加饲料中赖氨酸含量可减少母猪体质量损失,缩短断奶发情间

隔期。同时试验结果还表明,母猪产后 2~7 d 饲喂泌乳精对泌乳期母猪采食量没有影响。

4 小 结

母猪泌乳期在基础日粮的基础上补充泌乳精(营养补充剂)可显著提高仔猪断奶成活率及平均日增重 ($P<0.05$);可显著降低母猪产后失重 ($P<0.05$),同时缩短母猪产后发情间隔时间 2.6 d ($P<0.05$)。添加泌乳精有改善仔猪腹泻的趋势,但差异不显著,但对哺乳母猪的采食量没有影响。

因此,该试验证明泌乳期补充泌乳精提高了母猪机体所需的蛋白质、氨基酸、维生素及矿物质等营养物质的摄入量,在生产实践中对母猪繁殖性能提高有促进作用,对预防母猪产后失重和提高仔猪成活率具有很好的使用效果。

1 溶菌酶及其功能

溶菌酶是先天性免疫系统中一种重要的防御物质,起调节作用,能保护机体不受微生物侵入。溶菌酶是一种白细胞源性的黏多糖酶,广泛分布于噬菌体、细菌、植物、无脊椎动物和脊椎动物体内,大量动物分泌物(如黏液和唾液)和组织(如血液和植物液泡)中也存在溶菌酶。它能破坏革兰氏阳性菌细胞壁中的 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之间的 β -1,4 糖苷键(肽聚糖层),从而保护机体免受细菌侵入。溶菌酶不能直接破坏革兰氏阴性菌细胞,当革兰氏阴性菌外层细胞壁由于补体的作用而受到破坏时,细菌内层肽聚糖在其他酶的作用下暴露出来,此时溶菌酶才能有效发挥作用。除抗菌作用外,溶菌酶还能直接激活多形核白细胞和巨噬细胞,或通过间接调理效应促进吞噬作用。同时它还能攻击含胞壁酸结构、降解部分几丁质(N-乙酰氨基葡萄糖的线性聚合物),其中几丁质是真菌和某些脊椎动物外骨骼细胞的主要成分。

肝脏和肝外组织均可合成溶菌酶,但溶菌酶合成和分泌的动力学特征尚不清楚。哺乳动物和鱼类溶菌酶主要存在于中性粒细胞、单核细胞和少量巨噬细胞中。肾脏中溶菌酶水平最高,接下来是消化道、脾脏、体表黏液、血清、鳃(鱼类)、肝脏和肌肉,脾脏中溶菌酶活性较低。溶菌酶同免疫细胞密切相关,这与其防御传染性疾病有一定关系。

在高等脊椎动物体内,溶菌酶广泛参与各种防御机制,包括溶菌作用、调理作用、免疫应答强化作用,此外还具有部分抗病毒抗肿瘤活性。除防御作用外,溶菌酶还参与消化作用。由于鱼生活的水体环境中病原菌特别多,这些与先天性免疫有关的物质尤其重要,对于维持鱼类自稳态具有关键作用。在鱼体内,溶菌酶由白细胞释放,具有抗菌作用,比哺乳动物的抗菌活性更广,常被用作非特异性免疫功能的指示剂,对于鱼类抵御传染病具有头等重要的作用。鱼类体表黏液中含有多种非特异性体液防御因子,例如溶菌酶、补体、干扰素、C 反应蛋白、凝集素、溶血素和转铁蛋白。

溶菌酶对特定革兰氏阳性菌的效果最为显著,如金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、嗜热脂肪芽孢杆菌、嗜热糖梭菌和酪丁酸梭菌,但对大部分革兰氏阴性菌无效。通过多种方法预处理靶微生物细胞,可以拓宽溶菌酶的抗菌谱。溶菌酶会攻击绿脓

杆菌的脂多糖层和其他细胞结构如细胞质膜,破坏外层细胞膜结构,使得更多溶菌酶接触并破坏深层细胞结构,细胞因此通透性增加,导致细胞丧失生存能力但不溶解。

有报道指出,鸡卵清溶菌酶所包含的肽序列可诱导细菌非催化性死亡,不同于细胞膜的酶裂解。梭菌蛋白酶消化溶菌酶可产生一个十五肽(98~112 号氨基酸),具有抗菌活性而没有溶菌酶活性^[9]。During^[10]等在 T4 和鸡卵清溶菌酶中鉴定得到两亲性肽段,并对两种合成肽 A23(126~141 号氨基酸)和 A4(143~155 号氨基酸)进行了分析。A4 肽具有较强的杀细菌和抑真菌作用,而 A23 肽只对真菌有活性,经检测,两种肽均不具有酶活性。不同于胃蛋白酶,某些蛋白酶不能水解溶菌酶,如胰蛋白酶、糜蛋白酶、木瓜蛋白酶,但能水解变性的溶菌酶。随着对溶菌酶认识的不断增加,人们了解到鸡卵清溶菌酶的抗菌作用不仅依赖其酶活性,更依赖于其结构相变和特异抗菌结构域。

Patrzykat 等^[11]指出,银鲑鱼体表提取物中含有溶菌酶和卵清溶菌酶,鳗弧菌通过组蛋白源性肽增强酶活性,而组蛋白源性肽本身并没有活性。在组蛋白源性肽的作用下,革兰氏阴性菌外膜被暂时或永久性破坏,使得溶菌酶得以与细胞壁反应从而破坏细菌,溶菌酶活性因而增强。组蛋白源性肽能够穿透鳗弧菌细胞膜,使得溶菌酶活性增强。

2 真正溶菌酶的标准

根据 Jolles^[12]提出的,真正的溶菌酶必须满足以下标准:1)可溶解溶壁小球菌(溶壁小球菌对溶菌酶敏感);2)易被几丁质包被的纤维素吸收;3)低分子质量蛋白;4)在酸性 pH 和高温条件下稳定,碱性条件下无活性。

3 益生菌和溶菌酶

益生菌是微生物细胞制剂或微生物细胞成分,对宿主的健康有积极作用。迄今为止关于益生菌对溶菌酶活性的作用了解还不是很多。Panigrahi 等^[13]研究表明饲喂鼠李糖乳杆菌的虹鳟体内溶菌酶活性显著升高。与此类似,鱼饲喂 *Carnobacterium maltaromaticum* B26 和 *Carnobacterium divergens* B33 后肠黏膜溶菌酶活性较高。罗非鱼饲喂益生菌活细胞或死亡细胞后溶菌酶水平增强,再用迟缓爱德华氏菌感染罗非鱼,其存活率提高。

4 溶菌酶与肠道健康

对于母乳喂养婴儿,溶菌酶起防御消化道病原菌的作用,可降低消化道疾病。与饲喂配方乳的婴儿相比,母乳喂养婴儿的共栖菌群更为完善,说明溶菌酶和其他乳成分一起可帮助宿主建立适宜的消化道微生物环境。母乳喂养建立的肠道菌群可防护消化道疾病,对肠道的发育和成熟起到有益作用。仔猪和山羊饲养试验表明,巴氏消毒溶菌酶转基因山羊奶可调节小肠菌群数量和种类,大肠菌群数降低而有益菌数量增加。研究表明,母乳喂养时感染大肠杆菌腹泻的几率降低。

另外一些研究表明溶菌酶可调节炎症反应。尽管炎症反应对于清除某些感染十分重要,但对于肠道上皮来说是不正常的,长时间的炎症反而会导致组织受损。病原菌感染引起肠道长期发炎使得肠道上皮细胞大量受损,并导致幼儿营养不良,以致生长受损。

5 结 论

溶菌酶是一种水解酶,广泛分布于生物体内,在生物防御系统中起重要作用,可以抗病毒、抗菌及抗炎症。溶菌酶广泛分布于体表、皮肤、鳃、肠道和血清中,可防止细菌感染,有效杀灭或溶解革兰氏阴性菌和阳性菌。季节、性别、性成熟、水温、营养物质、应激和感染均会影响血清溶菌酶水平。抗原免疫使得鱼体抗体水平和溶菌酶水平增加,而抗体形成的强度与溶菌酶活性呈正比。溶菌酶水平反映了免疫应答发展的过程中白细胞数量的变化。感染引起白细胞数量变化,从而影响溶菌酶浓度,因此估测溶菌酶含量可用来诊断动物患病状态。溶菌酶还可作为免疫标记用来筛选抗细菌性疾病的个体进行选择育种。今后需要深入研究溶菌酶的抗菌活性,以加深对宿主-病原菌互作和免疫力的理解。

参 考 文 献

- [1] W G. Breastfeeding and the use of human milk[J]. American Academy of Pediatrics. Pediatrics, 1997(100): 1035-1039.
- [2] ODDY W H. The impact of breastmilk on infant and child health[J]. Breastfeed Rev, 2002(10): 5-18.
- [3] ELLISON R T III, GIEHL T J. Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme [J]. J Clin Invest, 1991(88): 1080-1091.
- [4] BAYNE C J, GERWICK L. The acute phase response and innate immunity of fish[J]. Dev Comp Immunol, 2001, 25(8-9): 725-743.
- [5] TAKADA K, OHNO N, YADOMAE T. Binding of lysozyme to lipopolysaccharide suppresses tumor necrosis factor production in vivo[J]. Infect Immun, 1994(62): 1171-1175.
- [6] DOBSON D E, PRAGER E M, et al. Stomach lysozymes of ruminants. I. Distribution and catalytic properties [J]. J Biol Chem, 1984, Sep 25, 259(18): 11607-11616.
- [7] DEMERS N E, BAYNE C J. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout [J]. Dev Comp Immunol, 1997, 21(4): 363-373.
- [8] MASSCHALCK B, MICHIELS C W. Antimicrobial properties of lysozyme in relation to foodborne vegetative bacteria [J]. Crit Rev Microbiol, 2003(29): 191-214.
- [9] DURING K, PORSCH P, et al. The non-enzymatic microbicidal activity of lysozymes [J]. FEBS Lett, 1999, 449(2-3): 93-100.
- [10] DURING A. A tightly regulated system for overproduction of bacteriophage T4 lysozyme in *Escherichia coli* [R]. Protein Expr Purif, 1993, 4(5): 412-416.
- [11] PATRZYKAT A, FRIEDRICH C L, et al. Sublethal concentrations of pleurocidin-derived antimicrobial peptides inhibit macromolecular synthesis in *Escherichia coli* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, Mar, 46(3): 605-614.
- [12] JOLLES P. LYSOZYMES, a chapter of molecular biology [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 1969, Apr, 8(4): 227-239.
- [13] PANIGRAHI A, KIRON V, et al. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136 [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2004, 102(4): 379-388.
- [14] WHARTON BA, BALMER SE, SCOTT PH. Faecal flora in the newborn. Effect of lactoferrin and related nutrients [J]. Adv Exp Med Biol, 1994(357): 91-98.
- [15] SCHIFFRIN E J, BLUM S. Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa [J]. Eur J Clin Nutr, 2002, 56 Suppl 3: S60-64.
- [16] MAGA E A, WALKER R L, ANDERSON G B, et al. Consumption of milk from transgenic goats expressing human lysozyme in the mammary gland results in the modulation of intestinal microflora [J]. Transgenic Res, 2006(15): 515-519.
- [17] VALENTINER-BRANTH P, STEINSLAND H, FISCHER TK, et al. Cohort study of Guinean children: incidence, pathogenicity, conferred protection, and attributable risk for enteropathogens during the first 2 years of life [J]. J Clin Microbiol, 2003(41): 4238-4235.
- [18] TAKADA K, OHNO N, YADOMAE T. Binding of lysozyme to lipopolysaccharide suppresses tumor necrosis factor production in vivo [J]. Infect Immun, 1994(62): 1171-1175.
- [19] FAGUNDES-NETO U, SCALETSKY I C. The gut at war: the consequences of enteropathogenic *Escherichia coli* infection as a factor of diarrhea and malnutrition [J]. Sao Paulo Med J, 2000(118): 21-29.