

综 述

# 贝类细胞和体液的防御机制研究进展

## PROGRESS ON RESEARCHES OF CELLULAR AND HUMORAL DEFENSE MECHANISMS IN MOLLUSCS

周永灿 潘金培

(中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301)

ZHOU Yong-Can, PAN Jin-Pei

(South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou 510301)

**关键词** 贝类, 细胞免疫, 体液因子

**KEYWORDS** Molluscs, Cellular immunology, Humoral factors

在自然条件下, 贝类和其他水生养殖动物一样, 在其生活的环境中存在大量的不同种类的病原生物。但在一般情况下, 并不是所有的这些病原生物都感染贝类并造成危害, 这主要是因为贝类具有一套比较完善的防御系统, 能够抵御外来病原生物的侵扰, 使其免受感染。不过, 对于贝类的免疫学研究, 相对于鱼类免疫学的基础研究和应用研究而言, 还处于初级阶段, 特别在我国, 迄今尚未开展起来。近年来, 病害对贝类养殖业造成的危害逐年加剧, 大多数贝病一直缺乏理想的防治办法[谢玉坎 1995]; 而免疫学防治技术在鱼病学研究中呈现日趋广泛的应用前景[杨先乐等 1995]。在国外, 对贝类特别是重要经济贝类的防御机制研究越来越关注, 相继做了大量工作, 为今后深一步的研究提供了许多文献。

### 1 贝类的细胞防御机制

#### 1.1 贝类细胞免疫的细胞类型

在贝类中, 参与细胞免疫的细胞为血细胞, 它是贝类体内抵御外来病原生物侵袭的主要“屏障”。近年来, 虽然对贝类特别是双壳类血细胞的形态和功能等已进行了大量的研究, 但由于分类标准不一, 特别是因为不同种贝类的血细胞在形态上存在较大的差异, 对贝类血细胞的分类迄今仍存在较大的分歧。Chenery [1971] 曾将双壳类软体动物的血细胞分为红细胞、普通白细胞、透明白细胞、成白细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞和褐色细胞共八大类, 其中, 红细胞仅大量存在于蚶属的血液中, 而其他双壳类软体动物中则很少见到。后来, Cheng [1981] 将血细胞的分类方法简化, 根据血细胞细胞器的性质、细胞核的形态及其染色亲和性, 以及血细胞的发生等将血细胞分为两大类: (1) 非颗粒细胞, 又称透明细胞; 其细胞质染色很淡, 极少或完全没有细胞器; (2) 颗粒细胞; 其细胞质中含有数量不等的染色颗粒。后者又因细胞内颗粒染色性质不同分为嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞两种。然而, 由于在颗粒细胞和非颗粒细胞之间还存在许多“中间类型”

的细胞亚群,特别是以这种分类方法得出的同种类型的细胞在免疫功能上却存在很大的差异,因此这种单纯依据形态学的分类方法“并不令人满意”。但由于形态学的分类方法比较简单实用,并且其他的分类方法也同样存在这样或那样的缺陷,鉴此,它依然是目前贝类血细胞研究中最常用的分类方法。近年来,由于不同研究目的的需要,许多新的技术方法已陆续应用到贝类血细胞的分类研究上,如外源凝集素标记法[Pipe 1990]、单克隆抗体技术[Morvan 等 1991, Noel 等 1994]、免疫探针技术[Hervio 等 1995]等。其中,单克隆抗体技术是以免疫反应中特异性的免疫功能为依据,反映了血细胞膜上抗原决定部位的组成,从而使血细胞分类能与其免疫功能联系在一起;免疫探针技术能准确地确定血细胞的血像,而血细胞的血像又能综合地反映血细胞自身的生理状态、血细胞所处的环境状态,以及血细胞对病原敏感性的差异,是一种比较准确、客观的血细胞分类手段。

## 1.2 炎症和伤口修复

贝类的炎症发生包括其机体的细胞和体液因素,通常是一种机体的自我保护性反应。它一般是由单纯的组织损伤或因之而引起的物理、化学或生物因子侵扰开始,继而产生三种可能结果:(1)组织坏死;(2)机体将入侵微生物隔离;(3)伤口修复[Feng 1988]。贝类的炎症反应与脊椎动物的炎症反应基本相似,不过,由于贝类为开放型的循环系统,使两者在细节上又存在较大的差异。在一般情况下,贝类从炎症开始到伤口修复主要经历几个过程:(1)大量的血细胞渗入受伤组织;(2)受伤约 44 小时后,血细胞聚集形成血栓;(3)病灶从内向外由变长的血细胞替代受伤组织;(4)成纤维细胞使胶原蛋白沉着;(5)巨噬性颗粒细胞清除坏死组织碎屑;(6)正常组织结构重建[Sparks 等 1988]。由此可见,在贝类的炎症反应和伤口修复过程中,血细胞起着十分重要的作用。

## 1.3 血细胞聚集

血细胞聚集是贝类血液学研究中一种常见的现象,也是贝类防御反应中的一个重要过程。在贝类软组织受伤后,血细胞很快聚集在一起形成血栓。Bang[1961]描述了心内注射组织提取物后外周动脉血栓形成的过程,该血栓在形成 2 小时后自动溶解;给贻贝接种鸟红细胞后形成的血栓则至少可以持续 22 天[Feng 等 1974],该血栓包括三种细胞:吞噬或未吞噬鸟红细胞的血细胞、成纤维细胞状细胞和淋巴细胞状细胞[Feng 1988]。

血细胞聚集的形成因素目前还不清楚。从形态看,血细胞首先通过线状伪足连在一起,之后伪足变短变粗将细胞拉拢而形成血细胞聚集。不过,在血栓形成过程中可能同时牵涉到物理因素和化学因素的共同作用[Feng 1988]。由于血细胞聚集在贝类伤口修复过程中起着重要作用,对这一重要现象还有待进一步的研究。

## 1.4 吞噬作用

从原生动到后生动物吞噬作用普遍存在。低等的单细胞动物通过吞噬作用摄取食物;在较高等的动物中,吞噬作用则是控制和清除外来物质侵扰的一种重要手段。贝类的吞噬作用包括五个基本过程:外来物质的识别、粘附、摄入、降解、破坏、清除。外来物质的识别和粘附很可能是由该物质的表面性质和血细胞上的受体共同决定,而摄入物质在细胞内的降解破坏程度则由溶酶体酶对该物质的敏感程度来决定[Feng 1988]。

吞噬作用是贝类的一种主要防御方式,也是通过血细胞和一些体液因子共同完成的。实验表明,贝类可以快速清除人为注入的物质,甚至可以细胞内消化人为接种的处于营养期的细菌。不过,Tripp[1960]在实验连续进行了 60 天后,仍在实验贝类的粪便中发现了不能被消化的杆菌 *Bacillus mycoides* 的孢子;Feng[1966]还发现从死亡的贻贝中分离出的一种细菌在 22~27℃ 时可重新感染,但在 9℃ 时却不能。由此可见,细菌侵入贝类机体后能否经吞噬作用清除,除取决于贝体本身的吞噬能力外,还与该细菌的抗消化能力和贝类生活的环境温度有关。在细菌被巨噬性血细胞吞噬后进行细胞内降解时,血细胞释放的溶酶体酶起着主要作用。

在脊椎动物中,经适当刺激后,多型核白细胞、单核细胞和巨噬细胞可产生呼吸激增(respiratory burst),并

伴随产生四种活性氧: 过氧化物阴离子( $O_2^-$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、羟基( $-OH$ )和单线态氧( $^1O_2$ ) [Feng 1988, Bachere 等 1995]。这四种氧是微生物的潜在杀灭剂, 能独立地或与溶酶体酶一起杀灭入侵微生物。Nakamura 等[1985]的研究表明, 扇贝(*Patinopecten yessiensis*)的血细胞经伴刀豆球蛋白(ConA)或细菌刺激后, 也可以产生或释放活性氧; Dikkeboom 等[1987]也证实用外源凝集素或酵母聚糖等刺激静水椎实螺(*Lymnaea stagnalis*)可产生活性氧。Noel 等[1993]用化学发光技术(technique of chemiluminescence)对紫贻贝不同种类的血细胞的研究还表明, 在吞噬作用过程中, 嗜酸性粒细胞比嗜碱性粒细胞和透明细胞产生活性氧的能力更强。

## 1.5 血细胞增生

在贝类中, 机体受病原生物感染后伴随产生的循环系统血细胞数量的增加称为血细胞增生。在贝类机体受伤后, 在其血细胞得不到补充之前, 因血细胞转移到炎症区, 先可导致贝类循环系统血细胞的瞬时缺失, 在组织切片中, 可以很清楚地看到血细胞渗入病灶, 此时循环系统的血细胞数量减少; 但经过一段时间后, 循环系统的血细胞可恢复到正常水平甚至达到更高水平。对于这种血细胞增生的机制目前还不了解, 不过, Feng[1965]认为, 对于这种明显的血细胞增生应该慎重考虑, 因为循环系统的血细胞数量可随心律的增加而增加, 而心律又受温度的影响。

## 1.6 包囊形成

贝类机体成功地将外来物质隔离后, 若其颗粒太大(直径大于  $10 \mu m$ ), 不能通过单个血细胞的吞噬作用摄入, 则通常在其周围包被数层成纤维细胞状细胞而形成包囊。根据 Cheng 等[1970]的研究结果, 包囊内层为成纤维细胞状细胞和酸性粘多糖; 外层为一厚层网状的纤维状物质, 其中含有糖蛋白或粘蛋白(或两者均有)以及中性粘多糖, 同时还有血细胞渗入。若被包围形成包囊的是寄生虫幼虫或成虫, 渗入其中的血细胞则能分泌  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶将它们降解破坏[Feng 1988]。

## 2 贝类的体液防御机制

相对于细胞免疫研究而言, 贝类的体液免疫研究得还不够。不过, 由于越来越多的研究表明体液因子在机体防御反应中起着十分重要的作用, 对贝类体液因子的研究也已逐渐引起了许多学者的兴趣, 并希望能在其中寻求突破, 为贝类的病害防治研究提供一条新的可能途径[Chu 1988]。

### 2.1 溶酶体酶

贝类的溶酶体酶主要来源于血细胞和血淋巴。在贝类中, 最为常见、研究最多的溶酶体酶为溶菌酶。它是一种碱性蛋白, 分子量约为 15 000 道尔顿, 具有以下性质: (1)能溶解多种细菌并释放氨基糖; (2)在低 pH 值高温时稳定, 但在高 pH 值高温时失活。在溶菌力及其它一些生化特性上, 贝类中发现的溶菌酶与鸟溶菌酶很相似[Cheng 等 1974]。

在贝类中除溶菌酶外, 还发现了其他一些溶酶体酶, 包括  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、脂肪酶、氨肽酶和淀粉酶等, 其中淀粉酶只在血淋巴中发现, 而其他各种溶酶体酶在血淋巴和血细胞中都有。Li [1960]还在牡蛎和蛤类的组织提取物中发现了一些抗菌物质, 这些物质也能阻止细菌的生长, 但其起源和性质不详。

贝类溶酶体酶的生物学作用迄今还未完全弄清楚, 一般认为它们具有防御和消化双重作用。有些贝类的溶酶体酶具有很强的抗菌作用, 从圆镜蛤(*Dosinia orbiculata*)中分离出的  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶可以水解细菌细胞壁的主要成分粘多糖。Cheng[1983]还认为溶酶体酶可以诱导产生, 起着与脊椎动物“获得性”体液免疫相似的作用。Cheng 等[1979]的实验表明, 有些贝类感染细菌后, 血清中溶酶体酶的含量能够提高, 他们把这一现象解释为一种抵御微生物侵袭的体液免疫机制。此外, McHenry[1979]认为贝类溶酶体酶的另一重要功能为消化作用, 他对 30 余种双壳类溶菌酶的组织分布研究表明, 在绝大多数情况下, 消化腺中该酶的含量比血液

和体液中都更高。

## 2.2 凝集素和外源凝集素

凝集素是贝类血淋巴的常见成分,由于它能凝集脊椎动物血细胞和细菌,因而在所有各种体液因子中,它一直倍受关注。在贝类凝集素中,比较常见的有血细胞凝集素和细菌凝集素。海洋贝类的血细胞凝集素和细菌凝集素具有很强的生物学和生物化学相似性;它们均为外源凝集素样的糖蛋白,能特异性地结合某些糖基决定簇的二价或多价受体;它们还有一种共同的结构,即具有一些分子量为 20 000 ~ 21 000 道尔顿的相同的亚单位,这些亚单位通常是通过非共价键连在一起,在每个亚单位上还有一个碳水化合物结合位点[Chu 1988]。Hardy[1977]等在多种双壳类的组织提取物和血淋巴中发现的血细胞凝集素可以凝集多种人类血细胞和多种脊椎动物血细胞。不过,有些海洋贝类的凝集素为异源性的,它们除能凝集血细胞外,还可以凝集脊椎动物精子和细菌等细胞。

Sharon 等[1972]认为,外源凝集素为一类可与表面具有糖链结构的成分起凝集反应的物质,在贝类血清中及血细胞膜的外表面均曾发现有它的分布。每种血清外源凝集素均有明显的血清学凝集特异性,血细胞膜表面的外源凝集素也能凝集某些脊椎动物的红细胞。

凝集素和外源凝集素的确切作用目前还不很清楚。不过,Chu[1988]对其作用提出了以下看法:(1)凝集作用可使细菌和寄生虫失去活动力甚至死亡,此后再通过吞噬作用和溶菌酶等使之降解,达到自我保护的目的;(2)可起调素的作用,将其受体与外来物质表面相似的糖基结合在一起;(3)结合在血细胞上的凝集素和外源凝集素起着细胞表面识别因子的作用,将具有相似糖基的外来颗粒结合在一起。Olafsen[1988]甚至认为贝类的外源凝集素与脊椎动物免疫球蛋白的早期前体有关,但这种看法还缺乏足够的证据,研究表明,贝类的外源凝集素与脊椎动物的免疫球蛋白没有相同的氨基酸序列。

## 2.3 溶血素

目前只在一些圆蛤和贻贝中发现了溶血素[Anderson 1981]。从圆蛤血淋巴及其贝壳溶解液中发现的溶血素能够溶解多种脊椎动物的红细胞,该溶血素具有热不稳定性(在 47℃ 时 30 分钟就失活)、不能透析、不能被红细胞吸收,以及其活性依赖于  $Ca^{2+}$  等特点。至于溶血素的确切作用及其溶解血细胞的机制目前仍不清楚。它们能溶解在系统发生上属于远源种类的红细胞,这对贝类的自身防御功能似乎没有太大实际意义,为此,Chu[1988]怀疑它可能属于贝类退化的补体系统。

## 2.4 免疫因子的诱导

虽然贝类的溶酶体酶、凝集素、外源凝集素和溶血素等免疫因子为先天的和非特性的;虽然已有足够的证据表明,可诱导的免疫反应应具备抗原特异性及记忆性等特点,但在贝类中,也有许多实验结果表明,它们的那种非特异性的免疫因子也存在一定程度的可诱导性,主要是通过诱导增加免疫因子的数量和活性。

Cheng 等[1975,1976]用一种灭活的杆菌 *Bacillus megaterium* 接种贝类后,结果其血清和血淋巴中脂酶的活性增加;将活的细菌加入牡蛎或圆蛤的养殖水体后,结果也显示牡蛎的血细胞和圆蛤血清中氨肽酶和溶菌酶的水平有所提高。然而,贝类和其他无脊椎动物一样,它们并不能合成抗体(免疫球蛋白),因此,Cheng[1983]认为在贝类中发现的那种提高的溶酶体酶实际上为可诱导的“保护性的”体液因子,是贝类机体在接触细菌后“超级合成”(Hypersynthesis)并释放到血清中的结果。尽管如此,由于贝类的溶酶体酶为先天性的,诱导只能提高其合成的数量和活性,并不是从无到有的诱导产生。此外,Feng 等[1988]认为,贝类血淋巴中这种溶酶体酶的提高除了是一种机体防御反应外,也可能是一种被动的病理显示。

## 3 有机污染物对贝类细胞和体液的防御机制的影响

贝类抵御外来生物感染首先是靠皮肤、外骨骼,以及体表的粘液和抗菌性分泌物等;一旦病原生物穿越这

—外部屏障进入机体内部,机体的保护则只能依靠血细胞和体液因子。只有这些内部的防御措施成功地发挥作用,机体才能免受病原生物的侵袭;如果这种内部防御失败,其结果则是产生对机体不利的病原生物感染。贝类的这种内部防御机制能否正常发挥作用与很多因素有关,其中之一为贝类栖息水域的有机污染物,因为它们直接影响贝类血细胞和体液因子的免疫活性[Anderson 1988]。

在贝类中,由于后天获得性免疫功能还未得到良好发育,它们对外来病原生物的防御主要是由巨噬性血细胞和多种非免疫球蛋白性的血清蛋白介导的非特异性免疫[Anderson 1988]。虽然在贝类中还没有发现象脊椎动物那样典型的适应性免疫反应,但一些预先的外来物质的刺激也能一定程度地、至少是瞬时地改变其血细胞的活性和体液因子的效价。当然,其中有的刺激能增加贝类的免疫活性,提高贝类自身的抗病能力;也有的刺激会降低贝类的免疫活性,使之更易受病原生物感染而患病。

苯类和酚类是贝类生活水体常见的有机污染物,当贝类养殖水域的酚浓度超过 1 mg/L 时,可造成鳃和消化道上皮的损伤,使贝类易受细菌等病原生物感染[Fries 等 1976];但即使酚的浓度只有 10  $\mu\text{g}/\text{L}$  时,也发现有血细胞自溶及吞噬作用受阻等现象。其中,不同血细胞对酚的敏感性也不同,颗粒细胞影响较大,其细胞内颗粒性成分明显减少,而透明细胞则不受影响[Fries 等 1980]。为了进一步了解有机污染物对细胞免疫和体液因子的影响,Anderson[1981]检测了不同浓度的五氯酚(PCP)和六氯苯(HCB)对圆蛤免疫力的影响,结果表明:低浓度的 PCP(50~100  $\mu\text{g}/\text{L}$ )或 HCB(40~130  $\mu\text{g}/\text{L}$ )可使血细胞活性增加,细胞的吞噬能力及细胞内溶酶体酶的浓度增加,不过,这种血细胞活性的增加和酶浓度的提高并不完全对贝类有利,因为在这种情况下,溶酶体酶和抗菌因子的释放对贝类自身的组织也会造成一定的损伤;高浓度的 PCP(1 000~2 000  $\mu\text{g}/\text{L}$ )或 HCB(1 500~2 000  $\mu\text{g}/\text{L}$ )则会明显抑制贝类机体的防御功能,使其血淋巴清除细菌等病原生物的能力部分或完全受阻。

## 4 研究前景

对各种养殖动物而言,免疫生物学研究的主要目的是病害防治。在鱼病学研究领域,免疫诊断与免疫防治技术已得到了前所未有的发展,被认为是最具发展前景的研究方向之一。特别是近年来,由于免疫增强剂的研究取得了重大进展,合适的免疫增强剂可大大激活鱼类的非特异性免疫功能,普遍提高其防病抗病能力。在软体动物中,由于不存在免疫球蛋白,缺乏抗体介导的免疫反应,因而它不可能象脊椎动物那样通过接种来达到自我保护的目的[Mialhe 等 1995]。尽管如此,由于贝类的防御系统具有非特异性免疫的性质,适当的诱导可提高贝类血细胞的吞噬能力及多种免疫因子的数量和活性,因此,研究选择合适的免疫增强剂来提高贝类机体的防御功能,将成为今后贝类病害及其防治研究的重要方向。

贝类免疫生物学的另一重要发展方向为与遗传学结合,特化出防御反应效应基因,并通过定量遗传学或基因转换等手段选择具免疫基因的抗病个体[Bachere 等 1995]。在软体动物中,血像、血细胞的化学发光活性,以及对病原的易感性等都存在重要的个体变异性,通过连续选择便可获得具免疫基因的抗病株[Hervio 等 1995]。另外,异源免疫效应基因的研究和单克隆抗体的研究也为贝类免疫生物学研究提供了新的手段,使之呈现出更广泛的应用前景。

## 参 考 文 献

- 杨先乐,贺路,柯福思. 1995. 鳖病研究的现状及其展望. 中国水产科学, 2(4): 71~77.
- 谢玉坎编著. 1995. 珍珠科学. 北京: 海洋出版社. 281~284.
- Anderson R S. 1981. Inducible hemolytic activity in *Mercenaria mercenaria* hemolymph. Dev Comp Immunol, 5: 575~585.
- Anderson R S. 1988. Effects of anthropogenic agents on bivalve cellular and humoral defense mechanisms. Am Fish Soc Spec Public, 18: 238~242.
- Bachere E. 1995. Knowledge and research prospects in marine mollusc and crustacean immunology. Aquaculture, 132(1/2): 17~32.
- Bang F B. 1961. Reaction to injury in the oyster (*Crassostrea*). Biol Bull (Woods Hole), 121: 57~68.
- Chenery D P. 1971. A summary of invertebrate leucyte morphology with emphasis on blood elements of the Manila clam, *Tapes semidecus-*

- sarta. Biol Bull, 140(3):353 ~ 368.
- Cheng T C. 1981. Bivalves. In: Ratcliffe N A, Rowley A F, ed. Invertebrate blood cells. London: Academic Press. (2): 231 ~ 300.
- Cheng T C. 1983. The role of lysosomes in molluscan inflammation. Am Zool, 23: 129 ~ 144.
- Cheng T C, et al. 1970. Cellular reactions in marine molluscs in response to helminth parasitism. Am Fish Soc Spec Public, 5: 443 ~ 496.
- Cheng T C, et al. 1974. Identification and characterization of lysozyme from the hemolymph of the soft-shelled clam. Biol Bull (Woods Hole), 147: 311 ~ 320.
- Cheng T C, et al. 1975. Release of lysozyme from hemolymph cells of *Mercoenaria mercoenaria* during phagocytosis. J Invert Pathol, 25: 261 ~ 265.
- Cheng T C, et al. 1976. Lipase activity in the serum and hemolymph cells of the soft-shelled clam during phagocytosis. J Invert Pathol, 27: 243 ~ 245.
- Cheng T C, et al. 1979. Experimentally induced elevations of acid phosphatase activity in hemolymph of *Biomphalaria glabrata*. J Invert Pathol, 34: 119 ~ 124.
- Chu F E. 1988. Humoral defense factors in marine bivalves. Am Fish Soc Spec Public, 18: 178 ~ 188.
- Dikkeboom R, et al. 1987. Hemocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis* generate reactive forms of oxygen. J Invert Pathol, 49: 321 ~ 331.
- Feng S Y. 1965. Heart rate and leucocyte circulation in *Crassostrea virginica*. Biol Bull (Woods Hole), 128: 198 ~ 210.
- Feng S Y. 1966. Experimental bacterial infections in the oyster *Crassostrea virginica*. J Invert Pathol, 8: 505 ~ 511.
- Feng S Y. 1988. Cellular defense mechanism of oysters and mussels. Am Fish Soc Spec Public, 18: 153 ~ 168.
- Feng S Y, et al. 1974. The effect of temperature on cellular reaction of *Crassostrea virginica* to the injection of avian erythrocytes. J Invert Pathol, 23: 22 ~ 37.
- Fries C R, et al. 1976. Effects of phenol on clams. US Nat Mar Fish Ser Mar Fish Rev, 38(10): 10 ~ 11.
- Fries C R, et al. 1980. Depression of phagocytosis in *Mercoenaria* following chemical stress. Dev Comp Immunol, 4: 233 ~ 244.
- Hardy S W. 1977. A haemagglutinin in the tissue fluid of the Pacific oyster, with specificity for sialic acid residue in glycoproteins. Experimentia (Basel), 33: 767 ~ 769.
- Hervio D, et al. 1995. Establishment of an experimental infection protocol for the flat oyster *Ostrea edulis* with the intrahaemocytic protozoan parasite; application to parasite resistant oyster selection. Aquaculture, 132(1/2): 183 ~ 194.
- Li C P. 1960. Antimicrobial activity of certain marine fauna. Pro Soc Exp Biol Med, 104: 366 ~ 368.
- McHenry J H. 1979. The occurrence of lysozyme in marine bivalves. Comp Biochem Physiol B Comp Biochem, 63: 25 ~ 28.
- Mialhe E, et al. 1995. Strategy for research and international cooperation in marine invertebrate pathology, immunology and genetics. Aquaculture, 132(1/2): 33 ~ 41.
- Morvan A, et al. 1991. Monoclonal antibodies against hemocytes of the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. Dev Comp Immunol, Suppl 15: 73 ~ 75.
- Nakamura N, et al. 1985. In vitro production of hydrogen peroxide by the amoebocytes of the scallop, *Patinopecten yessoensis* (Jay). Dev Comp Immunol, 9: 407 ~ 417.
- Noel D, et al. 1993. Chemiluminescence activity of normal and neoplastic hemocytes in *Mytilus edulis* (Bivalvia). Dev Comp Immunol, 17: 483 ~ 493.
- Noel D, et al. 1994. Antigenic characterization of hemocyte subpopulations in the mussel *Mytilus edulis* using monoclonal antibodies. Mar Biol, 119: 549 ~ 556.
- Olafsen J A. 1988. Role of lectins in invertebrate humoral defense. Am Fish Soc Spec Public, 18: 189 ~ 205.
- Pipe R K. 1990. Differential binding of lectins to hemocytes of the mussel *Mytilus edulis*. Cell Tiss Res, 261: 216 ~ 268.
- Sharon N, et al. 1972. Lectins; cell agglutinating and sugar-specific protein. Science, 177: 949 ~ 959.
- Sparks A K, et al. 1988. Inflammation and wound repair in bivalve molluscs. Am Fish Soc Spec Public, 18: 139 ~ 152.
- Tripp M R. 1960. Mechanisms of removal of injected microorganisms from the American oyster. Biol Bull (Woods Hole), 119: 273 ~ 282.