บทที่ 12

ภูมิคุ้มกันของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง
(Invertebrate immunology)

Physical and chemical barriers

Physical barriers ส่วนใหญ่ใน arthropod คือ exoskeleton ซึ่งมีความแข็งป้องกันการเกิดความเสียหายทางร่างกาย และการติดเชื้อโรค แต่ก็ยังมีโอกาสที่จะติดเชื้อค่อนข้างง่ายในช่วงระหว่างการลอกคราบก่อนที่ cuticle ใหม่จะแข็งขึ้น จึงมีการเสริมการป้องกัน โดยการสร้างสาร antimicrobial factor เช่น fungitoxic guinones ผลิตขึ้นระหว่าง melanin synthesis, protease inhibitor เช่นที่พบใน cuticle ของ crayfish ยับยั้งการบุกรุกของ parasite

Horseshoe crab จะ secretes สาร glycoprotein ผ่าน canals ใน carapace เพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อ bacterial endotoxin นอกจากนั้น glycoprotein ยังมีคุณสมบัติในการทำให้เกิด erythrocyte และ algae-agglutinating

Asidians (sca squirts) จะอาศัยลักษณะของการ test หรือ tunic พ่นน้ำออกมา ซึ่งประกอบไปด้วย cellulose, protein และ organic compounds ไล่พวกจุลินทรีย์ต่าง ๆ ออกมา

Echinoderms จะอาศัย test

Molluscs จะอาศัย shell

สัตว์ที่มีร่างกายอ่อนนุ่มในกลุ่ม Coelenterates, Annelids, Molluscs และ Protochordates จะใช้ mucus ห่อหุ้มร่างกาย

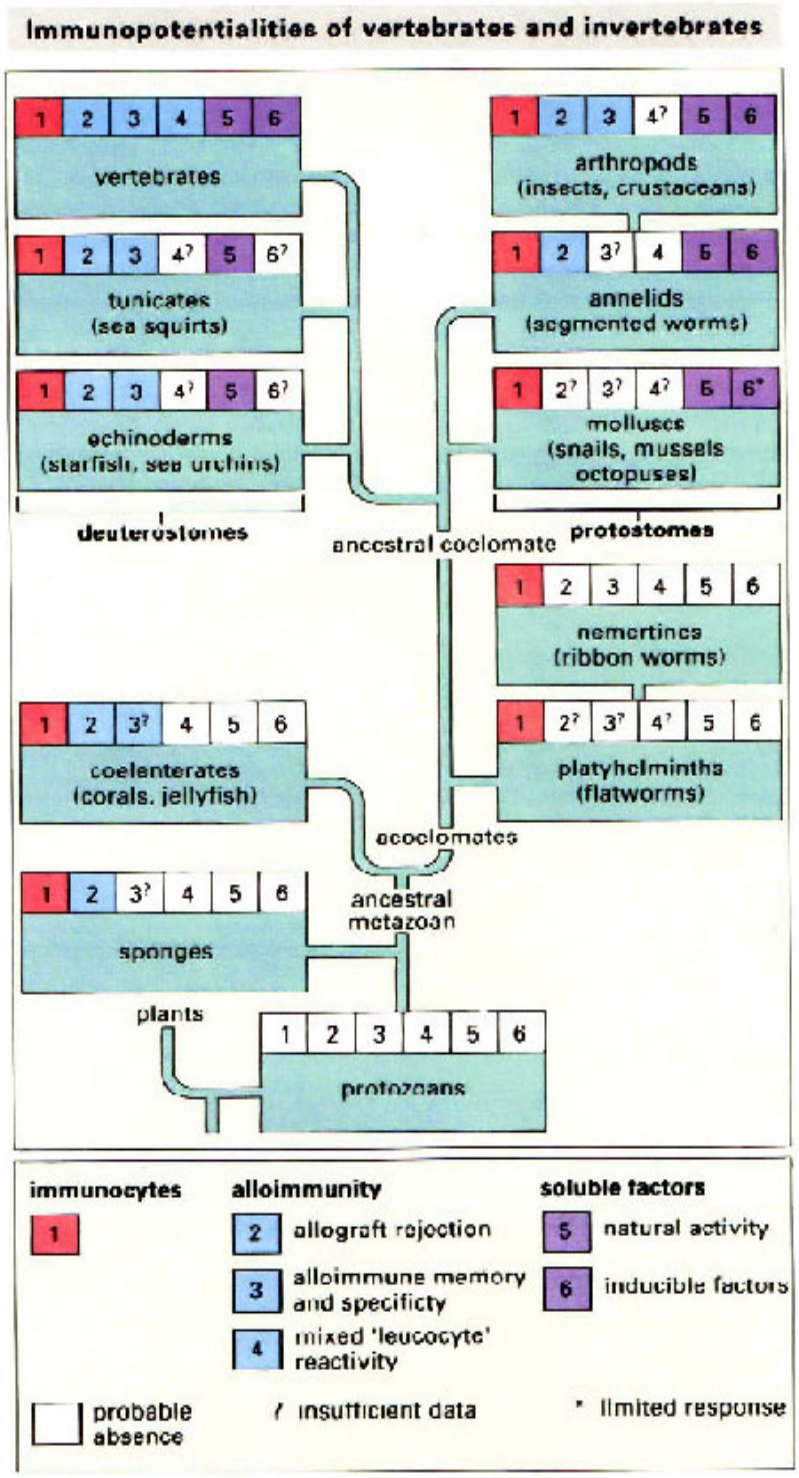
Invertebrate mucus ทำหน้าที่เป็น first line of defence ดักจับ particles, bacteria และ microorganism อื่น ๆ นอกจากนั้น สารพวก soluble molecules เช่น lectins, lysins, protease inhibitor และ antimicrobial factor จะถูก secreted ออกมาที่ mucus เพื่อจะทำหน้าที่สำคัญในการป้องกันโดยการฆ่าหรือดักจับ microorganism

Internal cellular defences

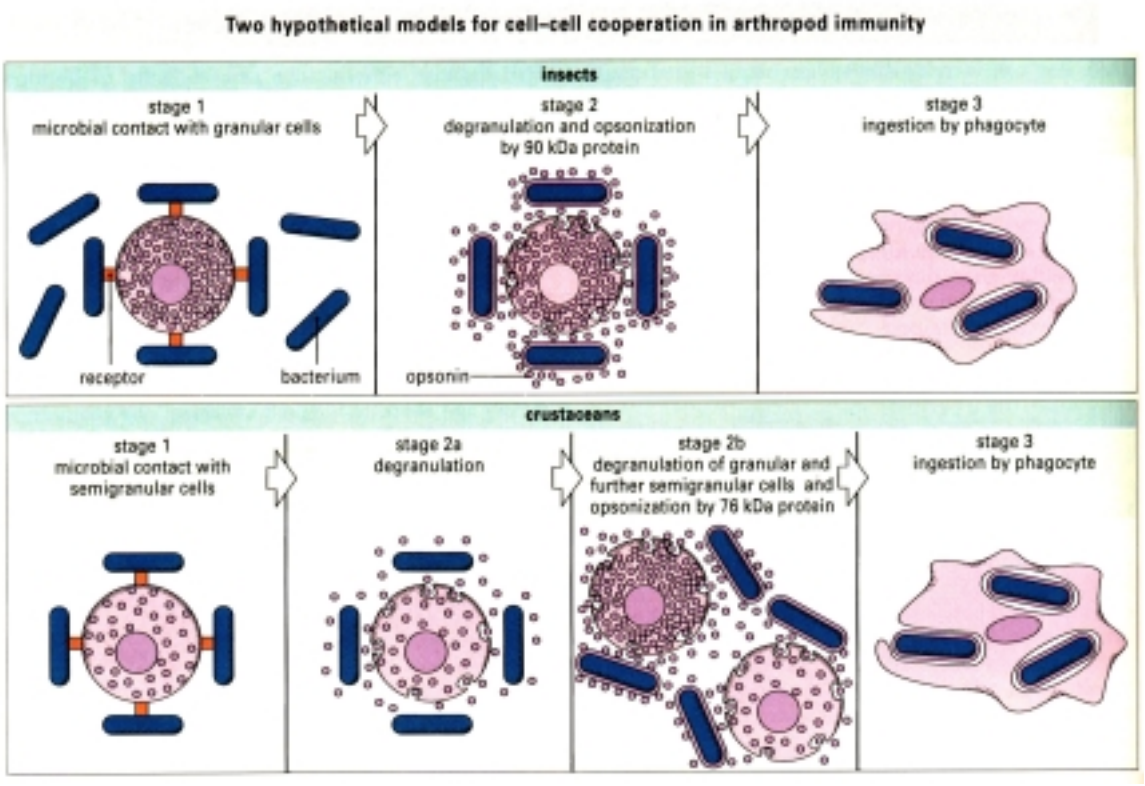
กลไกในการป้องกันตัวเองของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เกิดจากเซลล์ภายในร่างกาย จะเกี่ยวข้องกับเซลล์เม็ดเลือด ทำหน้าที่ wound repair, coaggulation, phagocytosis, nodule formation, encapsulation, cytotoxicity และ transplant rejection

เซลล์เม็ดเลือดของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง สามารถแบ่งออกตามหน้าที่ได้เป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ progenitor, phagocytic, haemostatic, nutritive และ pigmented cells และแบ่งตามตำแหน่งที่พบ จะแบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ haemocyte และ coelomocyte ซึ่งพบอยู่ที่ haemocoelic และ coelomic ตามลำดับ ในสัตว์ที่มี body cavities

Progenitor cells เป็นเซลล์ขนาดเล็ก มีความคล้ายคลึงกับ vertebrate lymphocyte มีหน้าที่เป็น stem cells สำหรับเซลล์ชนิดอื่น



ภาพที่ 12-1 ภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับเซลล์และสารที่ถูกสร้างขึ้นมา ของสัตว์ใน Phylum ต่าง (Roitt *et al.*, 1993)



ภาพที่ 12-2 กลไกการป้องกันตัวด้วยเซลล์ภายในร่างกาย ของ insect และ crustaceans (Roitt *et al*., 1993)

Phagocytic cells พบได้ใน invertebrate ทุก Phylum มีรูปร่างคล้ายคลึง granulocyte หรือ macrophage ของ mammal แต่ไม่มี surface marker มีบทบาทสำคัญมากใน internal defence ซึ่งประกอบด้วย phagocytosis, wound healing และ clotting reaction

Haemostatic cells มีหน้าที่ใน sealing wounds and preventing fluid loss ใน invertebrate ส่วนมาก ขบวนการง่าย ๆ ในการอุดบาดแผลจะทำโดย amoebocytic

Nutritive cells พบใน invertebrate บางชนิด ปกติจะมีอยู่น้อย แต่ในบางกรณีจะพบในเปอร์เซ็นต์ที่สูงประมาณ 70% ทำหน้าที่ encapsulation หน้าที่อื่นยังไม่ทราบแน่นอน

Pigmented cells พบใน invertebrate หลายชนิด มี respiratory pigment เช่น haemoglobin หรือ haemocyanin เชื่อว่าทำหน้าที่ respiratory เหมือนใน vertebrate erythrocyte ยังไม่พบหน้าที่ในการป้องกัน แต่มีการพบว่า pigmented cell ใน echinoderm มีสารที่มีคุณสมบัติเป็น antimicrobial or anti-algae properties ความแตกต่างนั้นอยู่ในต้นกำเนิดของ invertebrate blood cells ซึ่งประกอบด้วย progenitor cell type ในบางกลุ่ม เช่น annelids, echinoderms, cephalochordates และ hemichordates blood cells (coelomocytes) มาจาก coelomic linning (ดังรูป) โดยทั่วไปการเจริญของ invertebrate haemocytes หรือ coelomocytes จะเจริญมาจาก progenitor cells ที่อยู่ใน haemolymph หรือ coelomic fluid อย่างไรก็ดี freely circulating blood cells อาจจะไป

อยู่ที่ cell หรือ organs ตามที่ต่างๆ ซึ่งจะมีความสำคัญในการกำจัดพวก non-self material ออกจาก circulation

ตารางที่ 12-1 Cell and tissues of the invertebrate system (Cooper, 1976)

Cells/tissue	Role in immunity
Free and sessile Haemocyte/coelomocyte	Cellular response but may secrete Humoral factor (e.g. Agglutinins, Antimicrobial factors, Lysins, components of Prophenoloxydase system)
Progenitor cell	Stem cell for other cell types
Phagocytic cell	Phagocytosis, Nodule formation, Encapsulation, Wound closure, Clotting and Killing
Haemostatic cell	Blood coagulation, non-self recognition, lysozyme and agglutinin production
Nutritive cell	Role in defences uncertain. Encapsulation and wound healing?
Pigmented cell	Respiratory function? Antibacterial or Anti-algal?
Permanently fixed cell e.g. chloragogen cells of some annelids reticular and pore cells of mulluscs, Crustaceans, Nephrocytes of crustaceans, Insects and tunicates, midgut and sinus-lining	Phagocytosis, pinocytosis of colloid and Particulate material. Lysozyme synthesis (pericardial cells of insect) and antibacterial Factors. Clearance of foreign particle
Cell of Gastropod molluscs and crustaceans, fat body of insects	(sinus-lining cells). Synthesis of immune Protein (fat body)
Phagocytic organs of insects, echinoderms And urochordates	Phagocytosis. Production of humoral Antibacterial factors (?)
Haemopoietic organs	Haemopoiesis, phagocytosis, synthesis Of antimicrobial factors in some species

Wound repair and Coagulation

การป้องกันการเกิด blood loss จะอยู่ภายใต้การทำงานของ haemostasis และ reaction ในบริเวณที่เกิดบาดแผล ซึ่งประกอบด้วย vasoconstriction, blood cells accumulation และ haemolymph coagulation รวมกันเรียกว่า การเกิดการอักเสบ (inflammatory response) ใน invertebrate บางกลุ่มที่มีร่างกายอ่อนนุ่ม เช่น annelids, molluscs และ echinoderms บางชนิด การเกิด haemostasis response จะเกิดร่วมกับ muscle contraction ซึ่งจะไปลดขนาดแผลใน insects จะมีการขับ fat body ออกมาช่วยในการปิดบาดแผล รวมทั้งการเกิด haemolymph clot และมีการสะสมของ melanin ช่วยให้การปิดบาดแผลแน่นหนาขึ้น ใน molluscs การอุดบาดแผลจะถูกทำให้แน่นหนาโดย collagen

ตารางที่ 12-2 Haemopoietic/lymphoid tissues in selected coelomate invertebrate (Cooper, 1976)

Group	Cell type	Haemopoietic site (s)
Annelids	Coelomocyts	Coelomic lining cells
	Chloragogen cell(eleocytes)	Chloragogen tissues around Intestine
	Haemocytes	"blood glands' in haemocoelic system
		From coelomic lining (?)
Molluscs	Haemocytes	Varies, some gastropods have localized
		Haemopoietics sites, although none
		Reported for bivalves
Group	Cell type	Haemopoietic site (s)
		Specialized haemopoeitic tissue, the
		White bodies, exists behind the eyes in
		Cephalopods
Insects	Haemocytes	Varies, either in distinct haemopoietic
		Areas or by division of freely circulating cells
Crustaceans	Haemocytes	Foci in various sites, including base of rostrum,
		Dorsal and lateral walls of forget and vicinity of
		Ophthalmic arter
Echinoderm	Coelomocytes	Coelomic lining cells, axial organ, liedemann's
		Bodies, polian vesicles
Hemichodrate	Coelomocytes	Coelomic lining cells
Cephalochordate	Coelomocytes	Coelomic lining cells
d		
Urochordates	Haemocytes	"Lymph nodules" in pharyngeal wall, Around
		digestive tract and in the body wall

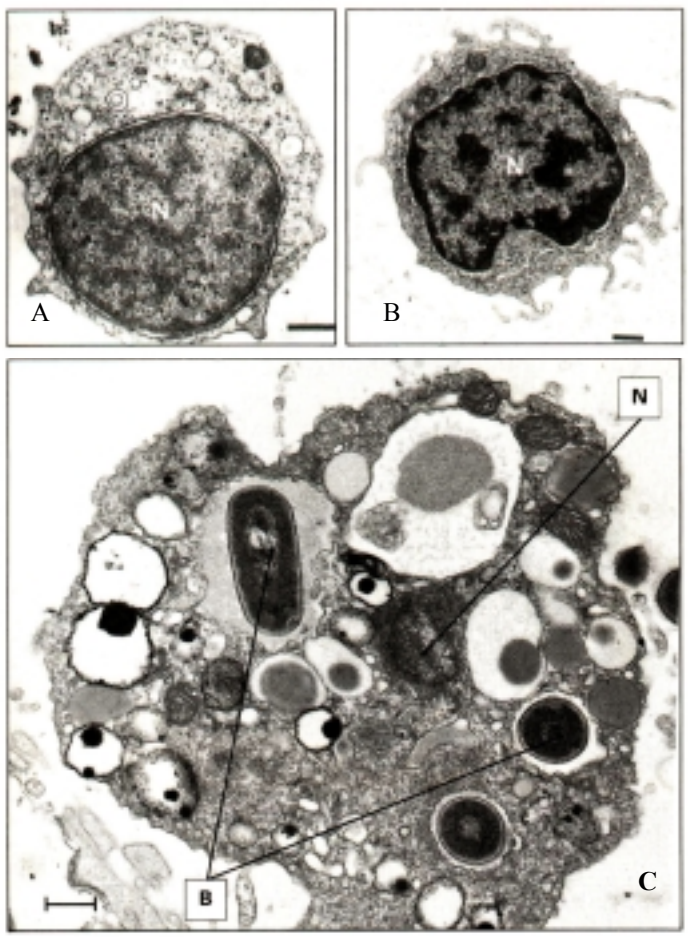
ใน invertebrate ทั้งหมดการเกิด wound healing จะเริ่มจากการเกิด migration ของ haemocytes หรือ coelomocytes ไปยังบริเวณที่เกิดบาดแผลเพื่อรวมตัวกันอุดบาดแผล ป้องกันการเกิด blood loss และ การดักจับพวก microorganism ที่เข้ามา การ migration ของ blood cells จะอยู่ภายใต้อิทธิพลของ chemotactic factors ที่ถูกขับออกมาจาก blood cells เอง หรือจากเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหาย

Coagulation ใน arthropods เป็น complex series ของการเปลี่ยน clotting proteins (coagulation) เป็น insoluble gel (coagulin) โดยปรากฏเป็น enzyme cascade ในทั้ง crustaceans และ insects coagulation จะประกอบด้วย melanization ซึ่งคาดว่า melanin และสารตั้งต้นของ melanin น่าจะเป็นพิษ และฆ่า microorganism ที่บุกรุกเข้ามา นอกจากนั้นองค์ประกอบของ

prophenoloxydase activating system ซึ่งเกี่ยวข้องกับ melanin synthesis และเป็นสาร opsonic ซึ่งน่าจะมีผลกระทบต่อ blood cells ในบริเวณที่เกิดบาดแผล ช่วยเสริม phagocytosis และ wound repair

Phagocytosis

เป็น primary cellular response ที่ต่อต้านการบุกรุกของ microoganisms ซึ่งจะมีด้วยกัน 3 stage คือ recognition (attraction or chemotaxis and attachment), ingestion และ killing มีหลักฐานเมื่อไม่นานมานี้ว่า Lactins เป็นสารที่มีบทบาทในการ recognition molecules นอกจากนั้นใน arthropods บทบาทของ complement ใน activated prophenoloxydase (PpO) system มีส่วนเกี่ยวข้องใน recognition และ attachment



ภาพที่ 12-3 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน A. lymphocyte-like cell ของ Tunicate (*Ciona intestinalis*) และ C. lymphocyte ของ Tunicate ขณะกำลังกินแบคทีเรีย เปรียบเทียบกับ B. lymphocyte ของปลา Blennius pholis

Internalization หรือ endocytosis ส่วนมากเกิดขึ้นทั้ง invagination ของ haemocyte surface หรือโดย production ของ filopods หรือ pseudopods ที่มีรูปร่างต่างๆ รอบ foreign body เพื่อทำการโอบล้อมเข้าใน phagocytic vacuole หรือ phagosome ใน invertebrate haemocyte หลายชนิดมี lysozyme ซึ่งเป็นสาร antibacterial เป็นตัวช่วยในการ killed โดย lysosomal enzyme ประกอบด้วย

สาร เช่น acid และ alkaline phophatase, lipase, non-specific esterase, protease, amylase, และ glucosidase จะย่อยพวก enggulfed foreign particle ในกรณีส่วนมาก phagocytosis จะถูกกระตุ้นให้เพิ่มการผลิต lysosomal enzymes ซึ่งบางครั้งจะถูก released ออกสู่ haemolymph ในระหว่างหรือหลังจาก phagocytosis ไป kill และ degrade พวก unphagocytosed particle หรืออาจจะไปเปลี่ยนแปลง surface characteristic เพื่อที่จะทำให้สามารถ recognition และ ingestion ได้

ตารางที่ 12-3 Possible killing factors presentin invertebrated blood cells (Cooper, 1976)

Factor	Groups
Low pH	Molluscs, other invertebrate species (?)
Lysosomal enzyme including peroxidase	Most invertebrates
Lasozyme	Annelids, molluscs, insects, echinoderms
Immune protein e.g. cecropins, attacins	Insects
Toxic oxygen metabolites/hydrogen peroxide	Molluscs, probably other species
Components of the activated	Insects, crustaceans and other
Propheoloxidase system	Invertebrates (?)
Vanadium	Tunicates

Nodule formation

ใน invertebrate บางชนิด การเกิด phagocytosis ไม่สามารถที่จะกำจัด non-self particle เช่น bacteria ที่มีจำนวนมากๆ ได้ ซึ่งบริเวณนี้จะมีการเพิ่มจำนวนของ phagocyte แล้ว จะเกิด cellular aggregates เรียกว่า nodule การเกิดโครงสร้างนี้ใน phagocytosis จะมีความเกี่ยวข้องกับการ cell-cell co-operative การเกิด nodule เป็นผลจาก natural infections เช่น annelids, insects และ molluscs โดยทั่วไป nodule ประกอบด้วย central core ของ entrapped foreign particle ที่บริเวณ intracellulary หรือไม่ก็ extracellularly ซึ่งเกี่ยวข้องกับ degenerate และ necrotic haemocyte บริเวณรอบๆ เป็น normal และ flattened blood cells ในบางกรณีจะขึ้นอยู่กับชนิดของ invertebrate

การ attraction ของ haemocytes โดยตรงต่อ non-self particle เช่น ใน phagocytosis น่าจะเป็นการตอบสนองต่อ chemotactic factors ที่ released จาก foreign material เอง หรือจาก degranulating haemocytes ความเร็วและขอบเขตของ nodule formation ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และ nature ของ injected test particle และเกี่ยวกับชนิดของสัตว์ microoganism ที่อยู่ภายใน nodule จะตาย เพราะผลจาก physiological stress ที่เกิดขึ้นจากการขาด oxygen หรือ nutrients ถ้าติดอยู่ภายใน melanized nodule มันจะถูกฆ่าโดยผลจาก toxic effect ของ quinones และ melanin generated โดย phenoloxydase activity หรือโดยตัวของ phenoloxydase เอง

Encapsulation

Foreign body เช่น cestode, nematode insect parasitoids และ copepode ซึ่งมีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะทำ phagocytosed ได้ แต่จะมีการล้อมรอบ (enclosed) ของ multicellular เกิดเป็น sheath เรียกว่า capsule มีความคล้ายคลึงกับ nodule ทั้ง structure และ formation

Encapsulation responses ตรวจพบใน invertebrate ทั้งหมด capsule เป็น multicellular ประกอบด้วย 2 zone หรือมากกว่า ของ flattened ชนิดต่างๆ และโดยเฉพาะบริเวณใกล้ๆ foreign object-necrotic และ degenerate cells ใน dipteran insect เมื่อ blood cells มีจำนวนน้อย (<6000 cells/mm^3) capsule จะเป็น acellular และจะมองไม่เห็น participation ของ blood cells การเกิดรูปแบบนี้เรียกว่า humoral encapsulation จะเป็นการป้องกัน nematodes, fungi, bacteria และ microfilariae ส่วน cellular encapsulation จะปรากฏเมื่อมีการขาด nodule formation และ antibacterial activity

Cytotoxic Reaction

นอกจาก phagocytosis, nodule formation และ encapsulation แล้ว invertebrate blood cells ยังสามารถที่จะเกิด spontaneous cytotoxic reaction โดยตรงต่อ cell และเนื้อเยื่อแปลกปลอม รูปแบบการ killing โดย non-sensitized cells เป็นรูปแบบง่ายๆ ที่เรียกว่า natural killing ใน mammalian immune system และน่าจะเป็น primordial system ของ immunosurvillance การเกิด encapsulated metazoan parasites น่าจะถูกทำลายโดย cytotoxic factors ที่ released จาก haemocytes ภายใน capasule นอกจากนั้น non-fusion reaction ระหว่าง incompatible strain ของ colonial animals เช่น sponges, coelenterates และ tunicates ก็จะเกี่ยวข้องกับ cytotoxic interaction โดยที่จริงแล้ว cytotoxic น่าจะพิจารณาถึงการแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนของ graft rejection ในระดับ cellular

Transplant Rejection

การทำ graft ของเนื้อเยื่อบน allogeneic หรือ xenogeneic hosts เป็นสภาวะเทียม ที่จะเป็นตัวดำเนินการหลักในการกำหนด histoincompatibility และการปรากฏของ specific immunological memory อย่างไรก็ตามความสามารถในการ recognize และ reject foreign tissue น่าจะสะท้อนให้เห็นถึง early evolution ของ immune system ในการป้องกันและทำลายการคุกคามของ mulated, neoplastic หรือ virally transformed cells ในกรณีส่วนมากการรวม histoincompatibility ระหว่าง graft กับ host จะก่อให้เกิดการทำลาย graft โดยการแทรกซึมของ cytotoxic และ phagocytic blood cells ชนิดต่างๆ

ใน invertebrate ชนิดต่างๆ ชนิดของ blood cells จะเกี่ยวข้องและทำลาย graft เชื่อว่าใน solitaly ascidian, Styela plicata, lymphocyte-like cells เป็น cells เพียงชนิดเดียวเท่านั้นที่เกี่ยวข้อง

กับ allografted tunic tissue ขณะที่ใน insects *Blaberus craniifer* และ *Extatosoma tiaratum* cell หลักที่จะแทรกซึม foreign graft คือ plasmatocyte type

Transplantation experiments เผยให้เห็น immunological specificity และ short-term memory ที่ต่ำสุดใน coelenterates, sponges, annelids, insects, echinoderms และ tunicates

Humoral immunity

Lysin

Invertebrate lysin ตรวจพบได้โดยอาศัยคุณสมบัติในการ lyse vertebrate erythrocyte และมีพบทั่วไปในธรรมชาติ เป็นสารพวก protein, sensitive ต่อ proteolytic enzyme, inactivate ระหว่าง 50-60 องศาเซลเซียส susceptible ต่อ extremes ของ pH, ทำงานในช่วงอุณหภูมิกว้างและต้องการ divalent cations โดยเฉพาะ calcium สำหรับการทำงาน

Agglutinins

Agglutinins พบทั่วไปในธรรมชาติตั้งแต่ living organism ชนิดต่างๆ เช่น slime moulds, protozoans, algae, bacteria, fungi, plants และ mammals เช่น เดียวกับใน invertebrate เมื่อไม่กี่ปีมานี้ ความสนใจใน invertebrate agglutinin เพิ่มมากขึ้น เพราะว่ามีความเป็นไปได้ที่มันจะมีหน้าที่ในการ recognition molecule

Invertebrate agglutinin โดยปกติจะตรวจพบใน cell-free coelomic fluid หรือ haemolymph โดยมันสามารถที่ agglutinate particle เช่น vertebrate erytrocyte, bacteria, protozoa หรือ fungal cells ยังสามารถพบ agglutinin ได้ใน albumin gland ของ terrestrial snails, ใน mucus ที่ปกคลุมผิวนอกของ terrestrial และ marine invertebrate บางชนิด

โครงสร้างของ invertebrate agglutinins ส่วนใหญ่เป็น protein หรือ glycoprotein มี multiple binding sites สำหรับ specific carbohydrate moieties ที่เรียกว่า lectins Invertebrate lectins ต้องการ divalent cation โดยเฉพาะ calcium สำหรับการทำงานบางที่ calcium น่าจะมีหน้าที่ในการรักษาโครงสร้างของ lectins molecules หรือ saccharide binding site Agglutinin specificity จะถูกกำหนดโดยชนิดของ carbohydrate ที่มันไปจับ

Invertebrate agglutinin ส่วนมากจะถูก synthesis และ secreted จาก blood cells ใน insects, fat body จะทำหน้าที่นี้ agglutinin ที่พบใน mucus อาจจะเกิดขึ้นใน haemolymph และ diffused ผ่าน body wall ไปสู่ mucus หรือถูก synthesized โดย cells ภายใน body wall เอง

Antimicrobial factors

External secretions เช่น mucus จะมี antimicrobial factors ซึ่งสามารถที่จะทำลาย entrapped bacteria ก่อนที่จะบุกรุกเข้าในเนื้อเยื่อหรือร่างกาย บริเวณทางบาดแผล ทั้ง naturally occuring และ induced antibacterial activity ตรวจพบใน invertebrate ทุก species

เรารู้น้อยมากเกี่ยวกับธรรมชาติ, physicochemical propreties และหน้าที่ของ factors เหล่านี้ อย่างไรก็ตาม chemical compound บางตัวที่เป็น antimicrobial activity สามารถแยกได้จาก marine organism ชนิดต่างๆ น่าจะใช้เป็น antiviral, antitumer หรือ antiprotozoan agent ได้

Bacteriolytic factor ที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง คือ enzyme lysozyme ซึ่งพบทั้ง vertebrate และ invertebrate หลายๆ species เช่น annelids, molluscs, insects และ echinoderm lysozyme มีบทบาทในการแยก bond ระหว่าง N-acetyl-glucosamine และ N-acetylmuramic acid ที่อยู่ใน cell wall ของ bacteria และ fungi

Invertebrate lysozyme (N-acetylmuramide glycanohydrolase) น่าจะถูก synthesized และ secreted จาก blood cell แม้ว่าในบาง invertebrate ระดับของ lysozyme ใน haemolymph จะต่ำ แต่ก็มีความเป็นไปได้ที่จะเพิ่ม activity โดยการ injection ของ bacteria

Humoral components เช่น agglutinins, lysins และ antibacterial factors การเหนี่ยวนำส่วนใหญ่เป็นแบบ non-specific และพบได้ง่ายๆ เสมอ โดย wounding อย่างไรก็ตามบางรายงานชี้ให้เห็นว่าใน invertebrate สามารถตอบสนองต่อ antigen ในลักษณะที่คล้ายคลึงกับใน vertebrate เชื่อว่า invertebrate บางชนิดดูเหมือนจะเริ่มต้นมี humoral response ในทำนองเดียวกับของ vertebrate ที่ผลผลิตจะเป็น short-lived แต่ใน invertebrate จะเป็น long-live

SELF/NON-SELF RECOGNITION

Invertebrate สามารถที่จะเลือกที่จะจำกัด non-self particle ต่างๆ ออกจาก circulation ในระดับที่แตกต่างกัน และวิธีการที่ blood cell สามารถแยกแยะระหว่าง foreign particle ที่แตกต่างกัน หน้าที่ในการ recognition molecule ใน invertebrate คือ agglutinin (lectins) และ factors associated โดย prophenoloxydase activity

บทบาทของ agglutinin ในฐานะ opsonin ก่อให้เกิดความขัดแย้ง ในบางรายงานล้มเหลวที่แสดงการเพิ่ม attachment หรือ internalization ของ test particle โดย haemocyte ที่อยู่ใน haemolymph หรือ purified lectins อย่างไรก็ตาม รายงานเหล่านี้ก็สนับสนุนได้อย่างชัดเจนในการเข้าไปเกี่ยวข้องของ invertebrate agglutinins ใน immune recognition lectins สามารถที่จะเกิด mediate attachment ของ foreign particle ต่อ blood cells ได้ 3 ลักษณะ

1. lectins น่าจะ associated กับ haemocyte membrane หรือ cytophilic haemolymp ที่นี่ membrane-bound lectins จับโดยตรงกับ carbohydrate moities บน non-self particle

2. lectins เป็น humoral และมีหน้าที่เชื่อมระหว่าง complementary carbohydrates บนทั้ง foreign particle และ immunocompetent cell

3. lectins ที่อยู่บน microorganism เช่น bacteria recoginze carbohydrate residues บน phagocyte surface

Immunological ที่เกิดใน arthropods ที่เกี่ยวข้องกับ melanin production ที่กระตุ้น prophenoloxydase (PpO) system เป็น responsible ของ melanization น่าจะมีส่วนประกอบที่สำคัญในการป้องกันของสัตว์ บทบาทของ PpO activating system และ melanization ใน immune responses

ของ arthropods ระหว่าง melanization สาร substrates เช่น tyrosine และอนุพันธ์, DOPA และ dopamine จะถูก metabolized เป็น melanin phenoloxydase

ในระหว่างการ activation ของ PpO system foreign particle ต่างๆ ก่อให้เกิด cascade ของ serine protease ทำให้หยุด convertion ของ PpO ที่จะเปลี่ยนเป็น PO โดย limited proteolysis Elictors ของ cascade ประกอบด้วย bacteria และ fungi รวมทั้งปริมาณในช่วงเวลาสั้นๆ ของ B-1, 3-glucans จาก fungal และ algal cell wall LPS และ peptidoglycan จาก bacteria cell wall และ capsular polysaccharides ใน activation stage แรกของ PpO system พวก non-self microbial factors มีผลกระทบต่อ haemocyte membrane ทั้งโดยตรงและโดยอ้อมผ่าน specific receptor ใน plasma เป็นผลมาจากการ release สาร inactive components ของ PpO system จาก cell โดย exocytosis, Elictiors หรือ elictors/receptor complex ทำให้เกิด cascade ของ serine protease 2 ชนิด ที่มีจำนวนน้อย แสดงโดย zymogens ซึ่งหยุดด้วย limited proteolysis ของ PpO

ใน insects, PpO activating enzyme โดยตัวเอง ซึ่งอยู่ภายใน cuticle และ plasma, inhibitor ที่มีอยู่ ซึ่งบทบาทขึ้นอยู่กับ serine protease และขอบเขตของปฏิกิริยา นอกจากนั้น self-regulating mechanism นับตั้งแต่ serine protease เช่นเดียวกับ PO ที่เปรียบเทียบกันแล้วเป็น short lived และ unstable นอกจาก PO แล้ว activated systecm จะผลิตสาร sticky proteins 4 ชนิด ปริมาณน้อยๆ ซึ่งจะไปเกาะกับ foreign surfaces เหล่านี้เป็น factors responsible สำหรับ regulating immune responses เช่น phagocytosis, nodule formation และ encapsulation

จากการทดลองใน in vitro และ in vivo ชี้ให้เห็นถึงบทบาทสำหรับ components ของ PpO activating system ใน arthropod immunity

ตารางที่ 12-4 Components of invertebrate immune systems (Cooper, 1976)

Defence reaction	Role in immunity
Physico chemical barriers To invasion e.g.	
Arthropod exoskeleton	Impenetrable barrier sometimes associated with Antimicrobial factors (e.g. fungitoxic quinones), Protease inhibitors and glycoprotein exudates
Test	Barrier with more flexibility than exoskeleton
Mucus	Entraps microorganisms which may be removed by muco-ciliary mechanism. Sometimes contains lectins, protease inhibitors and antibacterial factors
Mainly cellular:	
Clotting/coagulation	Prevent fluid loss at site of injury
Wound healing	Seals wounds and prevents fluid loss and intrusion of in fectious agents Cytokines may be involved

ตารางที่ 12-4 Components of invertebrate immune systems (Cooper,1976) (ต่อ)

Defence reaction	Role in immunity
Phagocytosis	Ingests small numbers of invading microorganisms. Chemotactic and reconition factors (lectins, components of activated prophenol-oxidase?) involved
Nodule formation	Augments phagoncytosis if high numbers of invasive microorganisms present
Encapsulation response	Deals with parasites, etc. too large to be phagocytosed. In a few insect species. capsules are acellular (humoral encapsulation) and blood cells may not participate
Cytotoxic reaction	Eestroys encapsulated parasites and is involved in non-fusion reactions between incompatible strains of colonial animals (sponges, coelenterates, tunicates)
Transplant rejection	Prevention of fusion between incompatible colonial forms
Mainly humoral:	Naturally-occurring and antimicrobial in serum of many
Lysins	Invetebrate group. E.g. lysozyme
Agglutinins (lectins)	Self/non/self recognition, killing and development of insect vectorparasites, protease inhibition, aids of foreign cells activator of insect haemocyte coagulation and prophenoloxidase
	kill or neutralize invading microorganism. naturally-occurring or induced
Antimicrobial factors	Antibody-like molecules in insects, earthworms and echinoderms. Function (s) uncetian
Other inducible factors	Inannelids, Eorseshoe crabs, molluscs, insects and echinoderms.
	opsonic (?) antimicrobial (?)
Complement-like factors	Opsonization, killing, cell movement, and cell-degranulation
Components of activated Prophenoloxidase system	