

# 鱼源宿主防御肽生物学活性及其潜在应用

吴迪 王连生\*

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所,黑龙江省水生动物病害与免疫重点实验室,哈尔滨 150070)

**摘要:** 宿主防御肽(HDPs)是动物机体先天免疫系统的重要组成部分,具有分子质量小、热稳定性好和不易产生耐药性等特点。作为极具潜力的抗生素替代物,HDPs不仅具有抗细菌、抗真菌和抗病毒等生物学活性,还具有多种免疫调节功能。鱼类是HDPs的重要来源,然而除小部分鱼源HDPs被用于抗菌活性研究外,其余鱼源HDPs的潜在应用还未被深入研究。本文在查找已鉴定得到的鱼源HDPs数据的基础上,系统梳理并总结了鱼源HDPs的分类,探讨了其生物学活性、潜在功能与应用,以期鱼源HDPs的进一步应用提供理论参考,也为新型绿色功能饲料添加剂与抗菌药物的开发提供指导。

**关键词:** 鱼类;宿主防御肽;生物学活性;潜在应用

**中图分类号:** S816

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2021)09-4848-13

抗生素的广泛使用导致其在水生生物中大量积累,并严重威胁到动物甚至人类的健康。避免在水产养殖中使用抗生素已成为人类健康和兽医领域面临的主要挑战之一<sup>[1]</sup>。宿主防御肽(host defense peptides, HDPs),也称为抗微生物肽或抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs),是机体先天免疫系统的重要组成部分,具有抵抗细菌、真菌、病毒和寄生虫等多种微生物病原体的能力<sup>[2]</sup>。在大多数情况下,HDPs对病原体的特异性较低,不易产生耐药性<sup>[3]</sup>。此外,部分HDPs还具有中和内毒素、促进血管生成、促进伤口愈合等调节作用<sup>[4]</sup>。鱼类是HDPs的重要来源,目前已经在鱼类中发现了150余种HDPs。已经被分离出来的鱼源HDPs除了对其小部分进行抗菌活性研究外,其余鱼源HDPs的潜在应用还未被深入研究<sup>[5]</sup>。因此,阐明鱼源HDPs的分类、生物学活性、作用机制及其潜在的应用前景,不仅能为鱼源HDPs的产业化应用提供理论参考,也对畜牧及水产养殖业的饲料开发与资源利用具有重要意义。

## 1 鱼源 HDPs 的分类

### 1.1 具有 $\alpha$ -螺旋结构的鱼源 HDPs

具有 $\alpha$ -螺旋结构的鱼源HDPs一般含有13~50个氨基酸残基,主要包含piscidins、pardaxins和其他 $\alpha$ -螺旋鱼源HDPs。 $\alpha$ -螺旋鱼源HDPs的物种来源、氨基酸序列和活性特征等信息见表1。

#### 1.1.1 piscidins

piscidins是一类具有典型 $\alpha$ -螺旋结构的阳离子HDPs,一般由22~46个氨基酸残基组成,且序列中含有大量的苯丙氨酸(Phe, F)、组氨酸(His, H)和异亮氨酸(Ile, I)<sup>[6]</sup>。piscidins在软骨细胞、肝脏、皮肤和鳃等多种器官中均有表达,但不同亚型的piscidins表达量往往也不尽相同<sup>[7]</sup>。目前发现的piscidins主要有3类:I类piscidins具有22个氨基酸残基,即piscidin-1、piscidin-2和piscidin-3,对细菌和纤毛原生动物具有广泛的活性,仅在肥大细胞中被分离;II类piscidins通常含有44~46个氨基酸残基,对细菌和原生动物具有活性,但其活性水平处于I和III类之间;III类pisci-

收稿日期:2021-02-10

基金项目:国家重点研发计划(2019YFD0900200);财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系;中央级公益性科研院所基本科研业务费(2018HY-ZD0503)

作者简介:吴迪(1991—),女,黑龙江牡丹江人,研究实习员,硕士,主要从事水产动物营养与饲料安全研究。E-mail: wudi@hrfri.ac.cn

\*通信作者:王连生,副研究员,E-mail: wangliansheng@hrfri.ac.cn

dins 含有 55 个氨基酸残基,对原生动动物具有较高的活性<sup>[8]</sup>。piscidins 的抗菌活性主要依赖于氨基酸序列中含有的 His<sup>[9]</sup>。此外,部分 piscidins 还具有抗真菌及抗肿瘤的能力<sup>[6]</sup>。

moronecidins、pleurocidins 和 piscidins 之间具有相似的基因结构,同属于一类 HDPs<sup>[10]</sup>。moronecidins 和 piscidins 几乎是同时在条纹鲈 (*Morone saxatilis*) 中被发现。相比于 C-末端区域的氨基酸残基,pleurocidins 处于 N-末端区域的氨基酸残基往往对其抗菌活性具有更为重要的作用;其中,位于 N-端区域第 2 号位上的色氨酸 (Trp, W) 和第 5、6 号位上的 Phe 残基在 HDPs 插入细胞膜中起着主要作用<sup>[11]</sup>。

### 1.1.2 pardaxins

pardaxins 最初是从豹鲂 (*Pardachirus marmoratus*) 背鳍及臀鳍腺体中分离的一类离子型神经毒素,其序列中含有 33 个氨基酸残基<sup>[12]</sup>。目前发现的 pardaxins 主要有 5 种,各种类之间具有高度的序列同源性,其氨基酸残基仅在第 5、14 或 31 号位上存在不同<sup>[10]</sup>。除抗菌活性外, pardaxins 还可抑制各种癌细胞,包括人纤维肉瘤<sup>[13]</sup>、乳腺癌<sup>[14]</sup>和犬肛周腺瘤<sup>[15]</sup>等。此外, pardaxins 对绵羊红细胞表现出一定的溶血活性,且不同种类的 pardaxins 的溶血活性也不尽相同,如 pardaxin-1 的细胞毒性可达 pardaxin-2 的 5~10 倍<sup>[5]</sup>。

### 1.1.3 其他 $\alpha$ -螺旋鱼源 HDPs

目前还发现了几种与 piscidins 和 pardaxins 序列同源性较远的 HDPs,分别是 gaduscidins、grammistins、epinecidin 和 chrysophins。

gaduscidins 是一类富含 His 的 HDPs,最早在大西洋鲑鱼 (*Gadus morhua*) 中被分离,在头肾、血液、脑、鳃、肠道和脾脏中均可表达<sup>[16]</sup>。目前分离出的 gaduscidins 主要有 2 种: gaduscidin-1 和 gaduscidin-2。gaduscidin-1 对细菌具有广泛的活性,而 gaduscidin-2 对细菌则无活性,但 gaduscidin-2 表现出更高的抗寄生虫活性<sup>[17]</sup>。gaduscidins 与 moronecidins 的同源关系较远,这可能是其序列中缺少谷氨酰胺 (Gln, Q) 组成的基序导致的<sup>[16]</sup>。

grammistins 具有高度的两亲性,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有良好的抗菌活性。根据序列同源性,grammistins 可分为 3 个亚类: I 类 grammistins 通常含有 24~25 个氨基酸残基,即

Gs 1、Pp 4a (Gs 2) 和 Pp 4b; II 类 grammistins 含有 12~13 个氨基酸残基,即 Gs B、Pp 1 (Gs D)、Pp 2a、Pp 2b (Gs E); III 类 grammistins 含有 25~28 个氨基酸残基,即 Gs A、Gs C 和 Pp 3。除 Gs A、Gs B 和 Gs C 外,其余 grammistins 均具有不同程度的溶血活性<sup>[10]</sup>。

epinecidin 是从斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 的鳃和肠道中分离到的一类能够保护鱼类免受病原菌感染的 HDPs,通常含有 21 个氨基酸残基<sup>[18]</sup>。epinecidin 除对大多数水产病原菌具有很强的抑菌活性外,还能够促进伤口愈合、血管新生,抑制血液中细菌数量,降低免疫相关炎症因子的基因表达水平<sup>[19]</sup>。

chrysophins 最初是从真鲷 (*Pagrus major*) 鳃中分离纯化得到的,肽链长度一般为 19~25 个氨基酸残基<sup>[20]</sup>。目前已知的 chrysophins 主要有 3 种: chrysophsin-1、chrysophsin-2 和 chrysophsin-3。chrysophins C-末端区域由精氨酸 (Arg, R) 和 His 组成的 RRRH 氨基酸基序可以干扰细胞膜的磷脂双分子层,在 HDPs 插入脂质膜的过程中起着关键作用<sup>[21]</sup>。

## 1.2 含有二硫键的鱼源 HDPs

鱼源 HDPs 按照含有二硫键的数量不同可分为 cathelicidins、防御素 (defensins) 和 hepcidins。含有二硫键的鱼源 HDPs 的物种来源、氨基酸序列和活性特征等信息见表 2。

### 1.2.1 cathelicidins

cathelicidins 是一类具有 cathelin 结构域的高度保守的 N-末端前肽,分子质量通常在 12 ku 且含有单个二硫键<sup>[34]</sup>。大多数 cathelicidins 家族的 HDPs 都含有 4 个半胱氨酸 (Cys, C) 残基,主要在中性粒细胞和黏膜等部位表达。成鱼体内 cathelicidins 的表达存在高度变异,并随 cathelicidin 基因和鱼体组织的变化而变化<sup>[35]</sup>。盲鳗科 cathelicidins 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌具有很强的抑菌活性,但对白色念珠菌 (*Moniliaalbican*) 无抑菌活性<sup>[36]</sup>。而鳕科 cathelicidins 对革兰氏阴性菌及白色念珠菌具有一定的抑菌活性,对革兰氏阳性菌则无抑菌活性。另外,鲑科 cathelicidins 普遍存在 1 个包含 6 个氨基酸 (RPGGGS) 的重复基元,在遗传上具有不稳定性,呈现出与哺乳动物 cathelicidins 一定的相似性<sup>[37]</sup>。

表 1 具有  $\alpha$ -螺旋结构的鱼源 HDPs

Table 1 HDPs isolated from fish with  $\alpha$ -helical structure

家族 Family	物种 Species	序列 Sequence	活性 Activity	参考文献 Reference
Piscidins				
Piscidin-1	<i>Morone saxatilis</i>	FFHHIFRGIVHVGGKTIHRLVTG	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[22]
Piscidin-2	<i>Morone saxatilis</i>	FFHHIFRGIVHVGGKTIHKLVTG	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌、病毒	[23]
Piscidin-3	<i>Morone chrysops</i> × <i>Morone saxatilis</i>	FIHHIFRGIVHAGRSIGRFLTG	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )	[24]
Piscidin-4	<i>Morone chrysops</i> × <i>Morone saxatilis</i>	FFRHLFRGAKAIFRGARQGXRAHKVV- SRYRNRDVPETDNNQEEP	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、寄生虫	[25]
Piscidin-5	<i>Morone chrysops</i> × <i>Morone saxatilis</i>	LIGSLFRGAKAIFRGARQGWRSKAV- SRYRARYVRRPVVIYHRVYP	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、寄生虫	[26]
Piscidin-6	<i>Morone chrysops</i> × <i>Morone saxatilis</i>	LFGSVKAWFKGGKKGFQDYRYQKDMAK- MNKRYGPNWQRRGGQEPADAAQANDQPP	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、寄生虫	[26]
Piscidin-7	<i>Morone chrysops</i> × <i>Morone saxatilis</i>	FFGRLKSMWRGARGGLKAYKYWKDMAKMNK- RYGPNWQGGGQEPADAAQANDQPP	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、寄生虫	[26]
Mononecidins				
Moronecidin	<i>Morone chrysops</i>	FFHHIFRGIVHVGGKTIHKLVTG	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[22]
Moronecidin	<i>Morone saxatilis</i>	FFHHIFRGIVHVGGKTIHRLVTG	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[22]
Dicentracin	<i>Dicentrarchus labrax</i>	FFHHIFRGIVHVGGKSIHKLVTG	—	[27]
Pleurocidins				
WF1/2	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	GWGSFFKKAHVGGKHVGKAALTHYL (G)	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )	[28]
WF1L	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	GKGRWLDRIGKAGGIIGGALDHL	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[29]
WFX	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	RSTEDIKKSISGGGFLNAMNA	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[29]
WFY	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	FLGFLFHGIRHGKAIHGMIH	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[29]
WF3	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	FLGALIKGAIHGGRFIHGMIQNH	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[30]
WF4	<i>Pseudopleuronectes americanus</i>	GWGSIFKHGRHAAKHIGHAAVNHYL	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[30]
Pardaxins				
Pardaxin	<i>Pardachirus marmoratus</i>	GFFALIPKIISPLFKTLLSAVGSALSSGGQE	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )、真菌	[13]
Gadaduscidins				
Gadaduscidin-1	<i>Gadus morhua</i>	FIHHIIGWISHGVRAIHRAIH	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )	[16]
Gadaduscidin-2	<i>Gadus morhua</i>	FLHHIVGLJHHGLSLFGDR	抗细菌 ( $G^+/G^-$ )	[16]

续表 1

家族 Family	物种 Species	序列 Sequence	活性 Activity	参考文献 Reference
Grammistsins				
Grammistin Pp 2b/Gs E	<i>Pogonoperca punctata</i>	FIGGIISFIKKLF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Grammistin Pp 2a	<i>Pogonoperca punctata</i>	FIGGIISLIKKLF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[32]
Grammistin Pp 4b	<i>Pogonoperca punctata</i>	LFGFLIPLLPHLIGAIPQVIGAIR	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[32]
Grammistin Pp 4a/Gs G	<i>Pogonoperca punctata</i>	LFGFLIPLLPHIIGAIPQVIGAIR	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[32]
Grammistin Pp 3	<i>Pogonoperca punctatas</i>	NWRKILGQIASVGAGLLGSLLAGYE	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Grammistin Pp 1/Gs D	<i>Pogonoperca punctatas</i>	FIGGIISFFKRLF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Grammistin Gs F	<i>Grammistes sexlineatus</i>	LFGFLIKLIPSLFGALSNIGRNRNQ	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Grammistin Gs C	<i>Grammistes sexlineatus</i>	NWRKILGKIAKVAAAGLLGSMLAGYQV	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Grammistin Gs A	<i>Grammistes sexlineatus</i>	WWRELLKKLAFTAAAGHLGSVLAACKQSGW	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Grammistin Gs B	<i>Grammistes sexlineatus</i>	IGGIISFFKRLF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[31]
Epinecidin				
Epinecidin	<i>Epinephelus coioides</i>	FIFHIUKGLFHAGKMIHGLVTRRRH	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[18]
Chrysophsins				
Chrysophsin-1	<i>Pagrus major</i>	FFGWLIKGAIHAGKAIHGLIHRRRH	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[20]
Chrysophsin-2	<i>Pagrus major</i>	FFGWLIRGAIHAGKAIHGLIHRRRH	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[33]
Chrysophsin-3	<i>Pagrus major</i>	FIGLLISAGK AIHDLIRRRH	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[33]

G<sup>+</sup>:革兰氏阳性菌 Gram-positive bacterium; G<sup>-</sup>:革兰氏阴性菌 Gram-negative bacterium。下表同 The same as below。  
*Morone saxatilis*: 条纹鲈; *Morone chrysops*: 金眼狼鲈; *Dicentrarchus labrax*: 欧洲舌齿鲈; *Pseudopleuronectes americanus*: 美洲拟鲈; *Pardachirus marmoratus*: 石纹豹鲷;  
*Gadus morhua*: 大西洋鳕鱼; *Pogonoperca punctata*: 斑点须鲷; *Grammistes sexlineatus*: 六带线纹鱼; *Epinephelus coioides*: 斜带石斑鱼; *Pagrus major*: 真鲷。



### 1.2.2 防御素

防御素一般含有 6~8 个 Cys, 可以形成  $\beta$ -折叠结构, 分子质量为 3~6 ku<sup>[38]</sup>。防御素按照 Cys 的位置及配对情况, 可以分为 3 个不同的构型:  $\alpha$ -防御素、 $\beta$ -防御素和  $\theta$ -防御素。截至目前, 仅在鱼类中发现一种构型的 HDPs, 即  $\beta$ -防御素<sup>[39]</sup>。鱼源  $\beta$ -防御素是一类长度为 60~77 个氨基酸残基的防御肽<sup>[40]</sup>。除对细菌有抑菌活性外, 鱼源  $\beta$ -防御素对鱼类特异性病毒, 如病毒性出血性败血症病毒 (VHSV)、病毒性神经坏死病毒 (VNNV) 和新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV) 等也具有抗病毒活性<sup>[41]</sup>。 $\beta$ -防御素的基因表达由  $\beta$ -葡聚糖、脂多糖 (LPS) 和肽聚糖诱导, 主要在皮肤中表达, 也可在肾脏、鳃、脾脏等多种组织中高水平表达<sup>[42]</sup>。 $\beta$ -防御素在鱼类组织中的广泛分布证明了  $\beta$ -防御素在先天免疫中的作用及其在抗感染中的重要性<sup>[43]</sup>。目前,  $\beta$ -防御素除被用作抗菌剂外, 也作为免疫应答因子在细胞信号活动、未成熟树突状细胞激活以及免疫调节等方面发挥作用<sup>[44]</sup>。

### 1.2.3 hepcidins

hepcidins 是目前已知的含有最多 Cys 的阳离子 HDPs<sup>[45]</sup>。hepcidins 通常由 20~26 个氨基酸组成, 结构特点为 4 个二硫键形成的稳定  $\beta$ -折叠发夹结构<sup>[46]</sup>。hepcidins 主要在肝脏中表达, 少部分在皮肤、鳃、肾脏、性腺、心脏和血液中表达<sup>[47]</sup>。目前, 已经在鲑科、鲈科、鲷科及其他科中鉴定并分离出 30 多种 hepcidins。不同强度的病原体攻击、氧合水平和铁离子 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) 浓度是引起 hepcidins 表达变化的重要因素<sup>[48]</sup>。除了与运铁蛋白相互作用外, 二硫键在维持 hepcidins 的稳定构象中起着至关重要的作用<sup>[40]</sup>。hepcidins 具有很强的 DNA 结合能力, 利用亮氨酸 (Leu, L) 取代 Cys 后可导致 DNA 结合能力和抗菌活性完全丧失<sup>[49]</sup>。hepcidins 除了对原生动物寄生虫具有较强的活性外, 还对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌具有一定的抗菌活性<sup>[50]</sup>。此外, hepcidins 还能够促进肠内铁吸收, 促进巨噬细胞铁再循环。因此, hepcidins 也被称为铁调素<sup>[51-52]</sup>。

### 1.3 组蛋白衍生肽

组蛋白是核小体结构的主要组成部分, 它通过形成组蛋白衍生肽在生物体的防御系统中起着至关重要的作用<sup>[53]</sup>。组蛋白衍生肽已经在多种鱼

类中被鉴定, 并证明具有广谱抗微生物活性。除少部分组蛋白衍生肽在鳃、肠道和脾脏等组织中发现外, 其余均在皮肤中表达。最近, 一种来自于沃尔窄尾魮 (*Himantura walga*) 的组蛋白 H2A 衍生肽——hipposin 被鉴定并分离出来。同源性分析表明, hipposin 属于组蛋白 H2A 超家族, 与鱼类中其他组蛋白来源的 HDPs 具有序列同源性。作为一种 DNA 结合蛋白, 组蛋白是染色质的重要蛋白质组成部分, 也是细菌和病毒蛋白的受体, 主要与 DNA 稳定和基因表达调控有关<sup>[54]</sup>。因此, 组蛋白衍生肽除具有抗菌、抗癌和抗生物膜等生物学活性外, 还参与细胞的转录调控和凋亡, 在机体先天免疫中起着关键作用<sup>[55]</sup>。

## 2 鱼源 HDPs 的生物学活性

### 2.1 抗菌

HDPs 的抗菌活性研究的最为深入, 几乎所有的鱼源 HDPs 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌都具有抑制作用。对于革兰氏阴性菌, 鲶鱼 (*Silurus asotus*) 皮肤黏液提取出的 CF-14 在最小抑菌浓度 (MIC) 为 31.3  $\mu\text{g/mL}$  时, 表现出对大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的抑制作用<sup>[67]</sup>。伯氏肩孔南极鱼 (*Trematomus bernacchii*) 转录组获得的 trematocine 除对大肠杆菌具有抑制作用外, 还对短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*) 和枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 具有极强的抑制作用<sup>[68]</sup>。翘嘴鲌 (*Erythroculter ilishaeformis*) 肝脏中分离得到的 leap-2 在浓度为 5×MIC 条件时, 1 h 内即可杀死嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)<sup>[69]</sup>。组蛋白衍生肽 NK-lysin 截短得到的 NKL-24 通过膜活性细胞杀伤机制对副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 具有良好的抑制作用<sup>[70]</sup>; 同样的结果在大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 血红蛋白 LCH4 中被证实, 在 25  $\mu\text{g/mL}$  的 MIC 浓度条件下 LCH4 即可抑制副溶血性弧菌的生长<sup>[71]</sup>。对于革兰氏阳性菌, 从鲈鱼 (*Lates calcarifer*) 中分离得到的 moronecidins 在 1×MIC 浓度下作用 4~6 h 后表现出对鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 的杀菌作用<sup>[72]</sup>。盲鳗 (*Myxine glutinosa*) 肠道中提取的 HF-18 体外试验表明, 在 MIC 浓度为 4  $\mu\text{g/mL}$  时即可产生对耐药金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的抑制作用, 且在作用 1 h 内即可杀死细菌<sup>[73]</sup>。

表 2 含有二硫键结构的鱼源 HDPs

Table 2 HDPs isolated from fish with disulfide bond structures

家族 Family	物种 Species	序列 Sequence	活性 Activity	参考文献 Reference
Cathelcidins	<i>Myxine glutinosa</i>	GFFKKAWRKVKHAGRRVLDTAKGVGRHYVNNWLNRYRZ	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )、真菌	[56]
	<i>Myxine glutinosa</i>	GWFKKAWRKVKNAAGRRVLKGVGHHYGVGLI	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[56]
	<i>Brachymystax lenok</i>	RRSKARGSGSKMGRKDSKGGSRGSRPGSGSRPGGG- SSIAGASRGDRGGTRNA	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[37]
CodCath	<i>Gadus morhua</i>	SRSGRSGKGGRGSGSGSRGSKGPSGSGSGSGSRGSKG- SRGGRSGRGSTIAGNGNRNNGGTRTA	抗细菌 (G <sup>+</sup> )	[57]
aCath	<i>Plecoglossus altivelis</i>	RMRRSKSGKSGSGSGSGSKGSKGSGSGSGSGSGGSRP- GGGSSIAGGSGSKGKGQTQT	抗细菌 (G <sup>-</sup> )	[58]
Defensins				
Onβ-defensin <sup>*</sup>	<i>Oreochromis niloticus</i>	MFCYRVVVLLALLVLLLNVAQNEAASFWSCLSLSGV- CRKVCLPTLFFGLPGCGKGSCLCCVSHFL	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[59]
Scβ-defensin	<i>Siniperca chuatsi</i>	MKGLSLVLLVLLMLAVGEGNDPEMQYWTGTYRGLCRRFCY- AQEYIVGHHGCPRRYRCCAMRS	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[60]
zββ-defensin1	<i>Danio rerio</i>	MKPQSFILLVLVVLALHFKENEA	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[61]
zββ-defensin2	<i>Danio rerio</i>	MKKLGMIIIFTLLALFAGNVHN	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[61]
tnβ-defensin2	<i>Tetraodon nigroviridis</i>	MKGKSLVLLVLLMLAAG	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[61]
fuβ-defensin1	<i>Takifugu rubripes</i>	MASYRAVVALLVVLVLNAVENEA	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[61]
ecDefensin	<i>Epinephelus coioides</i>	NDPEMQYWTCTGYRGLCRRFCHAQEYIVGHHGCPRRYRCCAVRS	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[62]
Hepcidins				
Hepcidin	<i>Sparus aurata</i>	CRFCCRCCPRMRGCGLCRCRF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[63]
Hepcidin <sup>*</sup>	<i>Scophthalmus maximus</i>	MKCKFCCNCCNLNGCGVCCDF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[64]
Hepcidin	<i>Danio rerio</i>	LCRFCKCCRNKGGCYCCKF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[65]
Hepcidin	<i>Morone saxatilis</i> × <i>M. chrysops</i>	GCRFCCNCCPNMSGCGVCCRF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[66]
AS-hepc6 <sup>*</sup>	<i>Acanthopagrus schlegelii</i>	CRFCCRCCPRMRGCGLCRCRF	抗细菌 (G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup> )	[63]

<sup>\*</sup>: 该肽氨基酸序列由基因序列推测得出。The amino acid sequence of this peptide was supposed from the gene sequence。  
*Myxine glutinosa*: 盲鳗; *Brachymystax lenok*: 细鳞鲑; *Gadus morhua*: 大西洋鳕鱼; *Plecoglossus altivelis*: 香鱼; *Oreochromis niloticus*: 尼罗罗非鱼; *Siniperca chuatsi*: 翘嘴鲌; *Danio rerio*: 斑马鱼; *Tetraodon nigroviridis*: 暗绿鲳; *Takifugu rubripes*: 红鲷东方鲀; *Epinephelus coioides*: 斜带石斑鱼; *Sparus aurata*: 金头鲷; *Scophthalmus maximus*: 大菱鲆; *Morone saxatilis*×*M. chrysops*: 杂交条纹鲈; *Acanthopagrus schlegelii*: 黑鲷。

通常情况下,鱼源 HDPs 对细菌的抑制能力主要归功于其对细菌膜的破坏作用及形成孔洞的能力。带正电荷的 HDPs 与带有负电荷的细菌膜,通过调节线粒体的柔韧性,导致孔隙形成和线粒体解聚,最终导致细菌的死亡<sup>[2]</sup>。部分 HDPs 通过与 DNA 结合和竞争性抑制,穿透细菌膜并引起膜的扰动<sup>[67]</sup>。此外,组蛋白可以通过细胞膜渗透到细菌内,然后与其遗传物质结合或包裹病原体,形成中性粒细胞外网状陷阱 (NETs),从而展现出广泛的抗菌功能<sup>[74]</sup>。然而,尽管组蛋白干预 NETs 的机制尚不清楚,但当组蛋白被特异性抗体阻断时,其抗菌活性也受到了抑制,这也证明了组蛋白在中性粒细胞外网状陷阱的形成中发挥了重要作用<sup>[75]</sup>。

## 2.2 抗病毒

与抗菌活性相比,鱼源 HDPs 抗病毒活性的研究似乎还不够深入,但目前已经证明了鱼源 HDPs 的抗病毒活性。最近发现,从眼斑拟石首鱼 (*Sciaenops ocellatus*) TFPI-1 C-末端截取的 TO17 具有抗病毒活性,将 TO17 与传染性脾肾坏死病毒 (ISKNV) 共孵育后注射到眼斑拟石首鱼体内分别感染 3、5 和 7 d 后,眼斑拟石首鱼脾脏内的病毒数量均有明显下降<sup>[76]</sup>。Guo 等<sup>[62]</sup>从斜带石斑鱼的肝脏中分离出  $\beta$ -防御素,研究发现该  $\beta$ -防御素能够减少新加坡石斑鱼虹彩病毒 (SGIV) 和神经坏死病毒 (NNV) 的感染和复制,就像 EC-hepcidin-1 和 EC-hepcidin-2 能够减少 SGIV 的发生一样<sup>[77]</sup>。此外,就 hepcidins 而言,在利用抗沙门氏菌弹状病毒 (SCRV) 和沙门氏菌呼肠孤病毒 (MsReV) 对鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 上皮瘤细胞 (EPC) 和草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 鳃细胞 (GCF) 进行感染时发现,SA-hepcidin-2 具有抗病毒活性,而 SA-hepcidin-1 则不具有抗病毒活性。

尽管已经证明了鱼源 HDPs 的抗病毒活性,但其机制仍不清楚,但最可能的原因是 HDPs 通过与病毒粒子直接结合、促使病毒颗粒凝集成团以及抑制病毒增殖等途径实现其抗病毒活性<sup>[78]</sup>。

## 2.3 抗肿瘤

近年来,已经证实了某些来源于鱼类的 HDPs 能够诱导肿瘤细胞的凋亡。piscidins 对肿瘤细胞具有良好的抑制作用。利用来自于尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 的 piscidin-3 对人骨肉瘤细胞 MG-63 进行处理后发现,浓度为 1  $\mu\text{mol/L}$  的

piscidin-3 可显著抑制细胞活力,诱导 DNA 片段化并通过上调线粒体裂变蛋白表达和下调融合蛋白表达来有效地增加线粒体网络的断裂,导致 MG-63 细胞的线粒体功能障碍与内源性凋亡<sup>[79]</sup>。piscidin-4 可以通过激活外源性 Fas/FasL 受体途径介导 MG-63 细胞凋亡<sup>[80]</sup>。作为  $\alpha$ -微管蛋白的主要相互作用伴侣,HDPs 还可以通过影响微管蛋白-微管平衡达到杀死肿瘤细胞的目的。例如,piscidin-4 可以与微管蛋白结合,破坏 A549 细胞中的微管网络,引起癌细胞中微管细胞骨架的缺陷<sup>[81]</sup>。最近,人们还发现斜带石斑鱼中鉴定出的 epinecidin-1 能够诱导线粒体超极化并产生活性氧 (ROS),触发半胱天冬酶 (Caspase) 依赖途径,造成恶性胶质母细胞瘤细胞 U87MG 的死亡和 DNA 损伤<sup>[19]</sup>。同样地,来源于杂交条纹鲈 (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*) 的 piscidin-1 在对正常细胞不产生副作用的同时,对骨肉瘤 OSA 细胞表现出较强的细胞毒性作用<sup>[82]</sup>。

## 2.4 其他活性

尽管研究的较少,但鱼源 HDPs 对真菌和寄生虫也具有一定的抑制作用。piscidin-2 对白色念珠菌 (*Moniliaalbican*) 和马拉色菌 (*Pityrosporum*) 具有有效的抗真菌活性,而合成的 ecPi-2S、ecPi-3S 和 ecPi-4S 则具有较强的抗毕赤酵母菌 (*Pichia pastoris*) 活性<sup>[5]</sup>。关于抗寄生虫活性,Umasuthan 等<sup>[83]</sup>证明了从条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*) 分离出的 Of-Pis1 $\beta$  具有抗寄生虫活性。同样,piscidin-1 和 piscidin-2 及其衍生肽 piscidin-2 $\beta$  在最低寄生浓度下显示出对梨形四膜虫 (*T. pyriformis*) 的抗寄生虫活性<sup>[84]</sup>。

鱼源 HDPs 对寄生虫的抑制机理与其抑菌机理相似,主要是通过破坏寄生虫细胞膜,破坏膜电势平衡和干扰细胞正常代谢,进而达到抗寄生虫的目的<sup>[85]</sup>。

## 3 鱼源 HDPs 的潜在功能及应用

目前,已有小部分新型鱼源 HDPs 被研发成功并应用于动物生产与实践之中。将鱼源 HDPs 作为饲料添加剂使用,不仅可以提升动物的生长性能,还可以抑制动物肠道内病原菌的产生,调节动物机体微生态平衡<sup>[3]</sup>。此外,充分了解并应用鱼源 HDPs 的其他潜在功能,将更好地促进我国水产及畜牧行业的健康发展。



### 3.1 免疫原性药物的开发

全世界对鱼卵和幼虫的运输需求日益增加,这不仅使得养殖业疾病的传播速度难以控制,也导致药物化合物的使用增加,从而导致了细菌对抗生素耐药性的产生<sup>[86]</sup>。目前,水产养殖业使用的疫苗并没有达到预期效果,这严重阻碍了渔场的经济发展和动物福利。鱼源 HDPs 因其广泛的生物学活性和独特的作用机制,被认为是理想的水产养殖或临床开发抗病原微生物的工具。目前,已有相关研究关注鱼源 HDPs 作为免疫活性化合物的可能性。Pan 等<sup>[87]</sup>以杂交罗非鱼(*Oreochromis* spp.)为研究对象,研究了 tilapia piscidin-3 (TP3)和 tilapia piscidin-4 (TP4)对创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)感染的保护作用,当病原菌与 TP3 和 TP4 共处理后,罗非鱼的存活率分别提高到 95.3% 和 88.9%。此外,有研究也证实了尼罗罗非鱼鱼腥蛋白样肽能够通过 1 型免疫应答(Th1)分子途径增强哺乳动物和鱼类的免疫应答<sup>[88]</sup>。

鱼源 HDPs 还可作为改进疫苗的潜在佐剂。目前,福尔马林灭活疫苗导致了严重过敏反应、皮疹、呼吸困难及肿胀等问题,亟需寻找降低疫苗灭活剂毒性的替代品。鱼源 HDPs 可以通过中和毒性因子或诱导细菌改变结构与形状降低其毒性,这可能为灭活细菌病原体提供了一种绿色安全的新方法。在注射 Epi-1 灭活的日本脑炎病毒(JEV)后,小鼠的存活率提高到 100%。将 pleurocidin (PLE)、哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)抗原和重组甘油三磷酸脱氢酶(rGAPDH)蛋白包裹于聚丙交酯-乙交酯共聚物(PLG)中生产出的微粒(PLG-PLE/rGAPDH MP)能够稳定地释放 PLE 和 rGAPDH,并且在疫苗接种 2 次后,对哈维氏弧菌产生了长期的保护性免疫<sup>[89]</sup>。目前,基于鱼源 HDPs 的灭活疫苗在水产养殖中的应用报道还十分有限,但在未来,鱼源 HDPs 有望成为一种较好的福尔马林替代品。

### 3.2 抗氧化剂的开发

抗氧化化合物存在于每一种生物体内,可保护机体免受 ROS 对 DNA、脂质膜和膜蛋白的损害。具有抗氧化性能的 HDPs 通常含有 3~20 个氨基酸残基,此类鱼源 HDPs N-端区域通常含有疏水性氨基酸残基或酸性残基。通常条件下,HDPs 不具有抗氧化特性,一旦其在胃肠道消化或发酵后,便释放出其抗氧化功能<sup>[5]</sup>。鱼源 HDPs 的

功能往往取决于其结构、组成和具体序列。研究表明,富含 Cys 残基、硫化物键、疏水残基甚至 His 残基的阳离子短肽,往往被认为是具有超强抗氧化功能的候选物质。因此,某些来自鱼类的 HDPs 可能比其他来源的肽具有更强的抗氧化效果<sup>[90]</sup>。此外,尽管 ROS 造成的损害与许多影响公共健康的疾病有关,但适量的 ROS 能够影响 DNA 甚至脂质膜,增强鱼源 HDPs 的抗菌功能<sup>[5]</sup>。虽然鱼源 HDPs 具有成为抗氧化剂的潜力,但 HDPs 作为抗氧化剂的潜在能力在鱼类中还未被深入探索。未来可在水产养殖、人类医学等领域将鱼源 HDPs 作为抗氧化剂进行应用。

## 4 小结与展望

基于其自身广泛的生物学活性,鱼源 HDPs 在畜牧、食品,甚至是医药领域均展现出巨大的潜在用途,但鱼源 HDPs 的相关研究仍存在问题,这些问题限制了它们在生产应用中的进一步发展。鱼源 HDPs 的局限性包含以下几点:一是生产成本高。目前,绝大部分鱼源 HDPs 的获取仍是通过分离提取,发酵工程技术的广泛应用或许是解决该问题的有效途径。二是大部分天然鱼源 HDPs 细胞选择性差。现阶段常用的鱼源 HDPs 分子改造手段主要有氨基酸残基替换、肽链截取及活性中心杂合与结构优化;此外,也可利用脂肪酸修饰合成脂肽、运用纳米技术自组装或亲水性聚合形成纳米自组装肽或水凝胶肽,提高 HDPs 的细胞选择性。三是鱼源 HDPs 在体内易失活且对蛋白酶消化极具敏感性。目前,许多学者也在开发新策略以延长鱼源 HDPs 的半衰期,包括引入非天然氨基酸、肽链环化和 N-末端酰胺化等,以防止其在体内酶解。随着研究的不断深入,新发现的天然鱼源 HDPs 及人工合成的 HDPs 种类会越来越多,经济、高效、广谱的 HDPs 无疑具有巨大的应用潜力和广阔的发展前景。

### 参考文献:

- [1] CHATURVEDI P, BHAT R A H, PANDE A. Antimicrobial peptides of fish: innocuous alternatives to antibiotics [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(1): 85-106.
- [2] PATEL S, AKHTAR N. Antimicrobial peptides (AMPs): the quintessential 'offense and defense'



- molecules are more than antimicrobials [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 95: 1276–1283.
- [ 3 ] 王鑫, 张萌萌, 姜宁, 等. 宿主防御肽调节动物肠道屏障功能的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2018, 30 (9): 3410–3416.  
WANG X, ZHANG M M, JIANG N, et al. Research progress in regulation of animal intestinal barrier function by host defense peptides [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30 (9): 3410–3416. (in Chinese)
  - [ 4 ] 齐志涛, 徐杨, 邹钧, 等. 水产动物抗菌肽研究进展 [J]. *水产学报*, 2020, 44 (9): 1572–1583.  
QI Z T, XU Y, ZOU J, et al. Review of antimicrobial peptides from aquatic animals [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44 (9): 1572–1583. (in Chinese)
  - [ 5 ] VALERO Y, SARAIVA-FRAGA M, COSTAS B, et al. Antimicrobial peptides from fish: beyond the fight against pathogens [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12 (1): 224–253.
  - [ 6 ] RAJU S V, SARKAR P, KUMAR P, et al. Piscidin, fish antimicrobial peptide: structure, classification, properties, mechanism, gene regulation and therapeutic importance [J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2021, 27 (1): 91–107.
  - [ 7 ] ZHUANG Z R, YANG X D, HUANG X Z, et al. Three new piscidins from orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*): phylogeny, expression and functional characterization [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 66: 240–253.
  - [ 8 ] CETUK H, MARAMBA J, BRITT M, et al. Differential interactions of piscidins with phospholipids and lipopolysaccharides at membrane interfaces [J]. *Langmuir*, 2020, 36 (18): 5065–5077.
  - [ 9 ] MIHAILESCU M, SORCI M, SECKUTE J, et al. Structure and function in antimicrobial piscidins: histidine position, directionality of membrane insertion, and pH-dependent permeabilization [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141 (25): 9837–9853.
  - [ 10 ] TALANDASHTI R, MAHDIUNI H, JAFARI M, et al. Molecular basis for membrane selectivity of antimicrobial peptide pleurocidin in the presence of different eukaryotic and prokaryotic model membranes [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2019, 59 (7): 3262–3276.
  - [ 11 ] HSU W H, LAI Y J, WU S C. Effects of the anti-microbial peptide pardaxin plus sodium erythorbate dissolved in different gels on the quality of Pacific white shrimp under refrigerated storage [J]. *Food Control*, 2017, 73: 712–719.
  - [ 12 ] CIPOLARI O C, DE OLIVEIRA NETO X A, CONCEIÇÃO K. Fish bioactive peptides: a systematic review focused on sting and skin [J]. *Aquaculture*, 2020, 515: 734598.
  - [ 13 ] PAN C Y, LIN C N, CHIOU M T, et al. The antimicrobial peptide pardaxin exerts potent anti-tumor activity against canine perianal gland adenoma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (4): 2290–2301.
  - [ 14 ] 尹航. 非溶酶体途径脂质体用于干细胞转染和肿瘤细胞基因编辑的研究 [D]. 硕士学位论文. 苏州: 苏州大学, 2019.  
YIN H. Non-lysosomal pathway liposomes for stem cell transfection and gene editing in cancer cells [D]. Master's Thesis. Suzhou: Suzhou University, 2019. (in Chinese)
  - [ 15 ] 马萍. 鲈鱼、石斑鱼、豹鲷鱼、泥鳅和臭蛙抗菌肽在毕赤酵母 SMD1168 中的高效表达 [D]. 硕士学位论文. 兰州: 兰州交通大学, 2018.  
MA P. High-level expression in *Pichia pastoris* SMD1168 of moronecidin, epinecidin-1, pardaxin-4, misgurin and smelly frog antibacterial peptide [D]. Master's Thesis. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2018. (in Chinese)
  - [ 16 ] BROWNE M J, FENG C Y, BOOTH V, et al. Characterization and expression studies of gaduscidin-1 and gaduscidin-2; paralogous antimicrobial peptide-like transcripts from Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35 (3): 399–408.
  - [ 17 ] SANDHU G, BOOTH V, MORROW M R. Role of charge in lipid vesicle binding and vesicle surface saturation by gaduscidin-1 and gaduscidin-2 [J]. *Langmuir*, 2020, 36 (33): 9867–9877.
  - [ 18 ] PAN C Y, CHEN J Y, CHENG Y S E, et al. Gene expression and localization of the epinecidin-1 antimicrobial peptide in the grouper (*Epinephelus coioides*), and its role in protecting fish against pathogenic infection [J]. *DNA and Cell Biology*, 2007, 26 (6): 403–413.
  - [ 19 ] SU B C, WU T H, HSU C H, et al. Distribution of positively charged amino acid residues in antimicrobial peptide epinecidin-1 is crucial for *in vitro* glioblastoma cytotoxicity and its underlying mechanisms [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2020, 315: 108904.

- [20] MASON A J, BERTANI P, MOULAY G, et al. Membrane interaction of chrysopsin-1, a histidine-rich antimicrobial peptide from red sea bream [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(51): 15175–15187.
- [21] ALEXANDER T E, SMITH I M, LIPSKY Z W, et al. Role of lipopolysaccharides and lipoteichoic acids on C-chrysopsin-1 interactions with model Gram-positive and Gram-negative bacterial membranes [J]. *Biointerphases*, 2020, 15(3): 031007.
- [22] LAUTH X, SHIKE H, BURNS J C, et al. Discovery and characterization of two isoforms of moronecidin, a novel antimicrobial peptide from hybrid striped bass [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(7): 5030–5039.
- [23] CAMPAGNA S, SAINT N, MOLLE G, et al. Structure and mechanism of action of the antimicrobial peptide piscidin [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(7): 1771–1778.
- [24] SILPHADUANG U, NOGA E J. Peptide antibiotics in mast cells of fish [J]. *Nature*, 2001, 414(6861): 268–269.
- [25] NOGA E J, SILPHADUANG U, PARK N G, et al. Piscidin 4, a novel member of the piscidin family of antimicrobial peptides [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 152(4): 299–305.
- [26] SALGER S A, CASSADY K R, READING B J, et al. A diverse family of host-defense peptides (piscidins) exhibit specialized anti-bacterial and anti-protozoal activities in fishes [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0159423.
- [27] SALERNO G, PARRINELLO N, ROCH P, et al. cDNA sequence and tissue expression of an antimicrobial peptide, dicentracin; a new component of the moronecidin family isolated from head kidney leukocytes of sea bass, *Dicentrarchus labrax* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 146(4): 521–529.
- [28] COLE A M, WEIS P, DIAMOND G. Isolation and characterization of pleurocidin, an antimicrobial peptide in the skin secretions of winter flounder [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(18): 12008–12013.
- [29] DOUGLAS S E, PATRZYKAT A, PYTYCK J, et al. Identification, structure and differential expression of novel pleurocidins clustered on the genome of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum) [J]. *European Journal of Biochemistry*, 2003, 270(18): 3720–3730.
- [30] DOUGLAS S E, GALLANT J W, GONG Z, et al. Cloning and developmental expression of a family of pleurocidin-like antimicrobial peptides from winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Walbaum) [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2001, 25(2): 137–147.
- [31] SUGIYAMA N, ARAKI M, ISHIDA M, et al. Further isolation and characterization of grammistins from the skin secretion of the soapfish *Grammistes sexlineatus* [J]. *Toxicon*, 2005, 45(5): 595–601.
- [32] KAJI T, SUGIYAMA N, ISHIZAKI S, et al. Molecular cloning of grammistins, peptide toxins from the soapfish *Pogonoperca punctata*, by hemolytic screening of a cDNA library [J]. *Peptides*, 2006, 27(12): 3069–3076.
- [33] SAITOH T, SETO Y, FUJIKAWA Y, et al. Distribution of three isoforms of antimicrobial peptide, chrysopsin-1, -2 and -3, in the red sea bream, *Pagrus (Chrysophrys) major* [J]. *Analytical Biochemistry*, 2019, 566: 13–15.
- [34] SCHEENSTRA M R, VAN HARTEN R M, VELDHUIZEN E J A, et al. Cathelicidins modulate TLR-activation and inflammation [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1137.
- [35] BRIDLE A, NOSWORTHY E, POLINSKI M, et al. Evidence of an antimicrobial-immunomodulatory role of Atlantic salmon cathelicidins during infection with *Yersinia ruckeri* [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23417.
- [36] TOMASINSIG L, ZANETTI M. The cathelicidins—structure, function and evolution [J]. *Current Protein & Peptide Science*, 2005, 6(1): 23–34.
- [37] 厉政. 细鳞鱼 Cathelicidins 的鉴定及宿主防御肽 CATH\_BRALE 的结构与功能分析 [D]. 硕士学位论文. 大连: 大连理工大学, 2013.  
LI Z. Identification of cathelicidins, structural and functional characterization of CATH\_BRALE, the defense molecule in the ancient salmonoid, *Brachymystax lenok* [D]. Master's Thesis. Dalian: Dalian University of Technology, 2013. (in Chinese)
- [38] CONTRERAS G, SHIRDEL I, BRAUN M S, et al. Defensins: transcriptional regulation and function beyond antimicrobial activity [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2020, 104: 103556.
- [39] MA Y Q, KIM S S, MAENG C H, et al. Key role of disulfide bridges in the antimicrobial activity of beta-defensin from olive flounder [J]. *International Journal*

- of Peptide Research and Therapeutics, 2020, 26(1): 291–299.
- [40] CHATURVEDI P, DHANIK M, PANDE A. Molecular characterization and *in silico* analysis of defensin from *Tor putitora* (Hamilton) [J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2015, 7(3): 207–215.
- [41] ZHOU Y C, LEI Y, CAO Z J, et al. A  $\beta$ -defensin gene of *Trachinotus ovatus* might be involved in the antimicrobial and antiviral immune response [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2019, 92: 105–115.
- [42] HARTE A, TIAN G M, XU Q Q, et al. Five subfamilies of  $\beta$ -defensin genes are present in salmonids: evolutionary insights and expression analysis in Atlantic salmon *Salmo salar* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2020, 104: 103560.
- [43] YANG K, HOU B R, REN F F, et al. Characterization of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) beta-defensin 1; implications for its role in inflammation control [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2019, 83(1): 87–94.
- [44] ZHOU Y, ZHOU Q J, QIAO Y, et al. The host defense peptide  $\beta$ -defensin confers protection against *Vibrio anguillarum* in ayu, *Plecoglossus altivelis* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2020, 103: 103511.
- [45] LOMBARDI L, MAISETTA G, BATONI G, et al. Insights into the antimicrobial properties of hepcidins: advantages and drawbacks as potential therapeutic agents [J]. Molecules, 2015, 20(4): 6319–6341.
- [46] SHIRDEL I, KALBASSI M R, HOSSEINKHANI S, et al. Cloning, characterization and tissue-specific expression of the antimicrobial peptide hepcidin from caspian trout (*Salmo caspius*) and the antibacterial activity of the synthetic peptide [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 90: 288–296.
- [47] LIU Y Y, HAN X D, CHEN X Z, et al. Molecular characterization and functional analysis of the hepcidin gene from roughskin sculpin (*Trachidermus fasciatus*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 68: 349–358.
- [48] XU T J, SUN Y N, SHI G, et al. Miiuy croaker hepcidin gene and comparative analyses reveal evidence for positive selection [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35449.
- [49] HOCQUELLET A, LE SENECHAL C, GARBAY B. Importance of the disulfide bridges in the antibacterial activity of human hepcidin [J]. Peptides, 2012, 36(2): 303–307.
- [50] XIE J S, OBIEFUNA V, HODGKINSON J W, et al. Teleost antimicrobial peptide hepcidin contributes to host defense of goldfish (*Carassius auratus* L.) against *Trypanosoma carassii* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2019, 94: 11–15.
- [51] MA Y Q, LEE C J, KIM S S, et al. Role of hepcidins from black rockfish (*Sebastes schlegelii*) in iron-metabolic function and bacterial defense [J]. Journal of Marine Science and Engineering, 2020, 8(7): 493.
- [52] JIANG Y, CHEN B, YAN Y L, et al. Hepcidin protects against iron overload-induced inhibition of bone formation in zebrafish [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2019, 45(1): 365–374.
- [53] 费威, 李慧, 马龙洋, 等. 水生动物组蛋白衍生抗菌肽的结构特征和抗菌活性研究进展 [J]. 河南农业科学, 2015, 44(4): 9–13.
- FEI W, LI H, MA L Y, et al. Structure characteristics and antibacterial activities of histone-derived antibacterial peptides in aquatic animal [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2015, 44(4): 9–13. (in Chinese)
- [54] PARSEGHIAN M H, LUHRS K A. Beyond the walls of the nucleus: the role of histones in cellular signaling and innate immunity [J]. Biochemistry and Cell Biology, 2006, 84(4): 589–604.
- [55] ATHIRA P P, ANJU M V, ANOOJA V V, et al. A histone H2A-derived antimicrobial peptide, hipposin from mangrove whip ray, *Himantura walga*; molecular and functional characterisation [J]. 3 Biotech, 2020, 10(11): 467.
- [56] UZZELL T, STOLZENBERG E D, SHINNAR A E, et al. Hagfish intestinal antimicrobial peptides are ancient cathelicidins [J]. Peptides, 2003, 24(11): 1655–1667.
- [57] BROEKMAN D C, FREI D M, GYLFASSON G A, et al. Cod cathelicidin: isolation of the mature peptide, cleavage site characterisation and developmental expression [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2011, 35(3): 296–303.
- [58] LU X J, CHEN J, HUANG Z A, et al. Identification and characterization of a novel cathelicidin from ayu, *Plecoglossus altivelis* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 31(1): 52–57.
- [59] DONG J J, WU F, YE X, et al.  $\beta$ -defensin in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): sequence, tissue expression, and anti-bacterial activity of synthetic peptides [J]. Gene, 2015, 566(1): 23–31.

- [60] WANG G L, LI J H, ZOU P F, et al. Expression pattern, promoter activity and bactericidal property of  $\beta$ -defensin from the mandarin fish *Siniperca chuatsi* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 33(3): 522–531.
- [61] ZOU J, MERCIER C, KOUSSOUNADIS A, et al. Discovery of multiple beta-defensin like homologues in teleost fish [J]. Molecular Immunology, 2007, 44(4): 638–647.
- [62] GUO M L, WEI J G, HUANG X H, et al. Antiviral effects of  $\beta$ -defensin derived from orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32(5): 828–838.
- [63] CUESTA A, MESEGUER J, ESTEBAN M Á. The antimicrobial peptide hepcidin exerts an important role in the innate immunity against bacteria in the bony fish gilthead seabream [J]. Molecular Immunology, 2008, 45(8): 2333–2342.
- [64] PEREIRO P, FIGUERAS A, NOVOA B. A novel hepcidin-like in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) highly expressed after pathogen challenge but not after iron overload [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32(5): 879–889.
- [65] SHIKE H, SHIMIZU C, LAUTH X, et al. Organization and expression analysis of the zebrafish hepcidin gene, an antimicrobial peptide gene conserved among vertebrates [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2004, 28(7/8): 747–754.
- [66] LAUTH X, BABON J J, STANNARD J A, et al. Bass hepcidin synthesis, solution structure, antimicrobial activities and synergism, and *in vivo* hepatic response to bacterial infections [J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(10): 9272–9282.
- [67] PELLE G D, PERÀ G, BELARDINELLI M C, et al. Trematocine, a novel antimicrobial peptide from the antarctic fish *Trematomus bernacchii*: identification and biological activity [J]. Antibiotics, 2020, 9(2): 66.
- [68] CHEN Y, WU J, CHENG H L, et al. Anti-infective effects of a fish-derived antimicrobial peptide against drug-resistant bacteria and its synergistic effects with antibiotic [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 602412.
- [69] SHAN Z G, YANG Y P, GUAN N, et al. NKL-24; a novel antimicrobial peptide derived from zebrafish NK-lysin that inhibits bacterial growth and enhances resistance against *Vibrio parahaemolyticus* infection in Yesso scallop, *Patinopecten yessoensis* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 106: 431–440.
- [70] YANG S, DONG Y T, AWEYA J J, et al. A hemoglobin-derived antimicrobial peptide, LCH4, from the large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) with potential use as a food preservative [J]. LWT, 2020, 131: 09656.
- [71] TAHERI B, MOHAMMADI M, NABIPOUR I, et al. Identification of novel antimicrobial peptide from Asian sea bass (*Lates calcarifer*) by *in silico* and activity characterization [J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0206578.
- [72] JIANG M L, YANG X Q, WU H M, et al. An active domain HF-18 derived from hagfish intestinal peptide effectively inhibited drug-resistant bacteria *in vitro/vivo* [J]. Biochemical Pharmacology, 2020, 172: 113746.
- [73] LI T T, LIU Q W, CHEN H T, et al. Antibacterial activity and mechanism of the cell-penetrating peptide CF-14 on the gram-negative bacteria, *Escherichia coli* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 100: 489–495.
- [74] KAWASAKI H, IWAMURO S. Potential roles of histones in host defense as antimicrobial agents [J]. Infectious Disorders-Drug Targets, 2008, 8(3): 195–205.
- [75] WEN L L, ZHAO M L, CHI H, et al. Histones and chymotrypsin-like elastases play significant roles in the antimicrobial activity of tongue sole neutrophil extracellular traps [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 72: 470–476.
- [76] HE S W, WANG G H, YUE B, et al. TO17: a teleost antimicrobial peptide that induces degradation of bacterial nucleic acids and inhibits bacterial infection in red drum, *Sciaenops ocellatus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 72: 639–645.
- [77] ZHOU J G, WEI J G, XU D, et al. Molecular cloning and characterization of two novel hepcidins from orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30(2): 559–568.
- [78] 黄小建, 李跃龙, 戚南山, 等. 抗菌肽的生物学活性及其在畜禽生产中的作用 [J]. 动物医学进展, 2020, 41(12): 115–119.  
HUANG X J, LI Y L, QI N S, et al. Biological activity of antimicrobial peptides and their roles in livestock and poultry production [J]. 2020, 41(12): 115–119. (in Chinese)
- [79] YUAN C H, MA Y L, SHIH P C, et al. The antimicrobial peptide tilapia piscidin 3 induces mitochondria-modulated intrinsic apoptosis of osteosarcoma cells [J]. Biochemical Pharmacology, 2020, 178: 114064.
- [80] KUO H M, TSENG C C, CHEN N F, et al. MSP-4, an antimicrobial peptide, induces apoptosis via activation of extrinsic Fas/FasL- and intrinsic mitochondria-mediated pathways in one osteosarcoma cell line [J]. Marine Drugs, 2018, 16(1): 8.
- [81] TING C H, LIU Y C, LYU P C, et al. Nile tilapia derived antimicrobial peptide TP4 exerts antineoplastic activity through microtubule disruption [J]. Marine



- Drugs, 2018, 16(12):462.
- [82] CHENG M H, PAN C Y, CHEN N F, et al. Piscidin-1 induces apoptosis via mitochondrial reactive oxygen species-regulated mitochondrial dysfunction in human osteosarcoma cells [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 5045.
- [83] UMASUTHAN N, MOTHISHRI M S, THULASITHA W S, et al. Molecular, genomic, and expressional delineation of a piscidin from rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) with evidence for the potent antimicrobial activities of Of-Pis1 peptide [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 48: 154–168.
- [84] RUANGSRI J, SALGER S A, CAIPANG C M A, et al. Differential expression and biological activity of two piscidin paralogues and a novel splice variant in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(3):396–406.
- [85] 王雪洋, 韩淑敏, 李金库, 等. 抗菌肽在畜禽生产中的应用进展 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2019, 40(8):35–37.
- WANG X Y, HAN S M, LI J K, et al. Research progress on application of antibacterial peptides in livestock and poultry production [J]. 2019, 40(8):35–37. (in Chinese)
- [86] WANG J H, LU J, ZHANG Y X, et al. Metagenomic analysis of antibiotic resistance genes in coastal industrial mariculture systems [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 253:235–243.
- [87] PAN C Y, TSAI T Y, SU B C, et al. Study of the antimicrobial activity of tilapia piscidin 3 (TP3) and TP4 and their effects on immune functions in hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169678.
- [88] ACOSTA J, CARPIO Y, VALDÉS I, et al. Co-administration of tilapia alpha-helical antimicrobial peptides with subunit antigens boost immunogenicity in mice and tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Vaccine*, 2014, 32(2):223–229.
- [89] LIU S P, CHUANG S C, YANG C D. Protective immunity against *Vibrio harveyi* in Grouper induced by single vaccination with poly (lactide-co-glycolide) microparticles releasing pleurocidin peptide and recombinant glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [J]. *Vaccines*, 2020, 8(1):33.
- [90] NGO D H, KIM S K. Marine bioactive peptides as potential antioxidants [J]. *Current Protein & Peptide Science*, 2013, 14(3):189–198.

## Biological Activities and Potential Applications of Host Defense Peptides from Fish

WU Di WANG Liansheng\*

(Key Laboratory of Aquatic Animal Diseases and Immune Technology of Heilongjiang Province, Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

**Abstract:** Host defense peptides are an important part of the innate immune system of animals, which are characterized by low molecular weight, good thermal stability and less susceptible to drug resistance. As a potential substitute for antibiotics, host defense peptides not only have biological activities such as anti-bacterial, anti-fungal and antiviral, but also have a variety of immunomodulatory effects. Fish are an important source of host defense peptides. However, a small number of host defense peptides from fish have been used in the study of antimicrobial activity, and other potential applications of host defense peptides from fish have not been thoroughly investigated. On the basis of the data source of host defense peptides from fish, this article systematically arranges and summarizes the classification of the fish host defense peptides, discusses the potential functions and their biological activities and applications, so as to provide theoretical reference for the further application of fish host defense peptides, as well as guide the development of new green feed additives and antimicrobial agents. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(9):4848-4860]

**Key words:** fish; host defense peptides; biological activity; potential application