

甕中捉鱉，還是木馬屠城？

--從全球牡蠣疫情警訊談牡蠣與病原生物的演化戰爭

張錦宜、李佳芳、吳嘉哲、林金榮

水產試驗所水產養殖組

疫潮洶湧—「來自大海的奶水」 將不再豐饒？

2005年夏天，美國奧立岡州立大學漁業系教授 Chris Langdon 透過校園電子報首度發出微弱的警訊：「...我們走訪位於華盛頓州及奧立岡州的數間牡蠣種苗場，觸目所見，盡是死亡的牡蠣幼生...」，這則短訊旋即淹沒在暑期校園華麗繽紛的眾多新聞之下；然而疫情並沒有因為新聞的平息而結束，情況愈演愈烈；2007年奧立岡州著名的大型牡蠣種苗場 Whiskey Creek Shellfish Hatchery 終於壓不住爆發的疫情，59%的牡蠣浮游幼生在未附苗前死亡，該場為避免更大的損失宣布關閉，造成當年北美貝苗供應短缺，嚴重衝擊從加州南部到加拿大西岸沿海的牡蠣養殖產業。無獨有偶，2008年法國亦發生40年來僅見的牡蠣大疫潮，這次的苦主是養殖12個月以上的幼蠔，1歲小牡蠣損失達40—100%，2歲蠔平均死亡率則為15%，估計全國約有80億隻幼蠔在受感染後的短短數天內死亡，法國農業部長因此提前離開世貿談判桌返國主持緊急因應會議，其後續影響之大，預估2010年法國生蠔的年產量將會減半^(註)。究竟牡蠣發生了甚麼問題？數百年來，這種靠天吃飯、以海牧養的牡蠣生產型態是

否面臨挑戰？這股自2005年開始的全球「蠔災」是方興未艾？還是產業已經穩定復甦？牡蠣與病原生物糾纏了千萬年的恩怨情仇，現在是誰佔優勢？在探究這些問題之前，或許我們應該先了解，自4億年前即出現在地球的軟體動物，是如何憑仗著一身看似簡單的防禦系統，在殘酷海洋中與群魔共舞，安然度過漫長的悠悠歲月。

請君入甕與甕中捉鱉—牡蠣的免疫系統如何殲滅入侵者

牡蠣僅具先天性免疫系統 (innate immune system)，藉著體液內的防禦因子 (包括凝集素、水解酶、抗菌肽等) 與顆粒性血球 (granulocyte) 的吞噬作用共同執行防止外來物入侵的任務。

顆粒性血球為牡蠣的主要防禦細胞，其所參與的異物摧毀行動，又可分為胞外與胞內作用 (圖1) 兩種。這兩種作用主要都仰賴活性氧化物及活性氮化物 (reactive oxygen and nitrogen species) 兩類具高氧化能力的分子來破壞外來入侵者，不過胞內作用因為能將入侵物囿限於吞噬小體 (phagosome) 內，參與的高氧化力分子種類更多、打擊目標更集中，還搭配水解酶 (如溶菌酶等) 的

共同作用，所以效率更高。

目前研究得比較清楚的牡蠣高氧化力分子生成機轉有 (圖 1)：

一、活性氮化物

外來異物會活化一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)，繼而將顆粒性血球內的精胺酸 (L-arginine) 轉化成具高氧化能力的一氧化氮 (nitric oxide, NO) 及過氧化氮 (peroxynitrite, ONOO⁻)。

二、活性氧化物

位於顆粒性球細胞膜上的 NADPH-Oxidase complex 能將體液中的氧轉化為超氧陰離子 (anion superoxide, O₂⁻)，O₂⁻除了本身即具高氧化能力外，還能經由超氧歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 的作用，再轉化為另一種活性氧化物：過氧化氫 (hydrogen

peroxide, H₂O₂)。至於在顆粒性球內，除了與胞外作用相同的 O₂⁻、H₂O₂ 之外，H₂O₂ 還曾經骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase, MPO) 的作用，與細胞中的氯離子 (Cl⁻) 形成具強氧化能力的次氯酸 (hypochlorite, HOCl)，更增強活性氧化物的殺傷力。

這樣的防禦系統看似簡單，卻有著極高的效率：對付少量的敵人，以胞外作用殲敵於境外，毋需勞師動眾，也不致浪費太多的能量；一旦入侵的敵軍太多了，就會啟動顆粒性球的吞噬作用，把敵軍困於陷阱之中，再以優勢火力狂轟猛炸，堅壁清野，片甲不留。然而這一套防禦系統的缺點是太過仰賴活性氧 (reactive oxidative species, ROS) 作用機轉，長年累月的作戰下來，終於讓某些病原生物試出了反制之道。

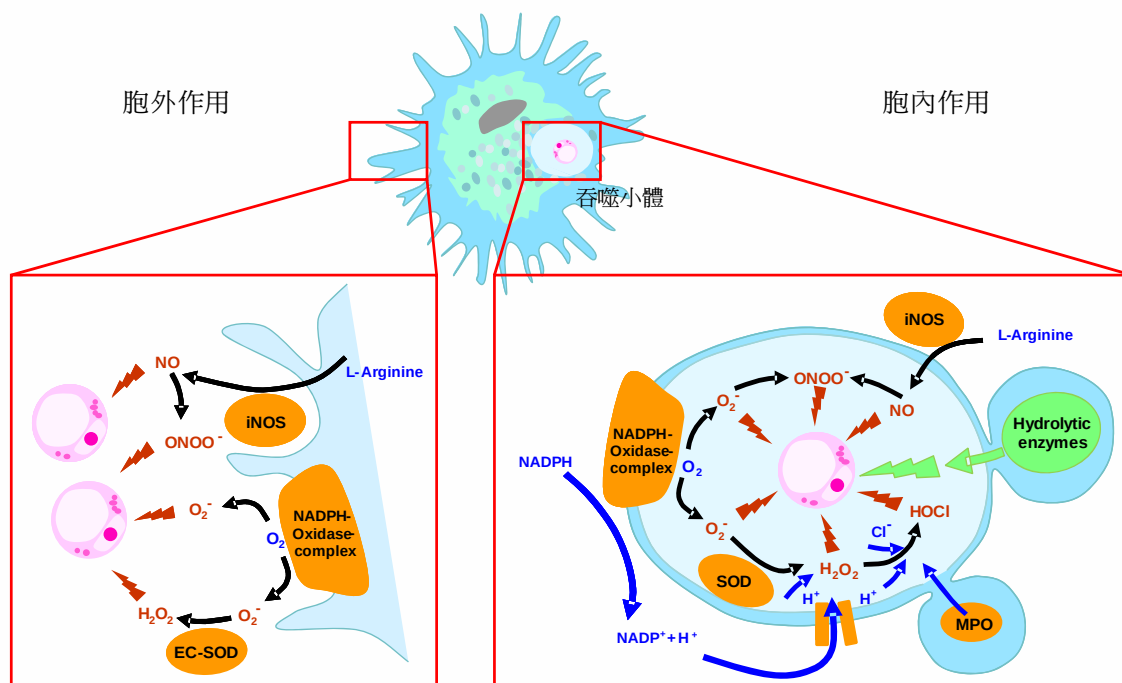


圖 1 與牡蠣顆粒性血球相關的防禦機轉(取材自 Chu, 2009)

NO：一氧化氮；ONOO⁻：過氧化氮；iNOS：一氧化氮合成酶；L-arginine：精胺酸；O₂⁻：超氧陰離子；H₂O₂：過氧化氫；EC-SOD：胞外超氧歧化酶；SOD：超氧歧化酶；MPO：骨髓過氧化酶；HOCl：次氯酸

木馬屠城的精巧戰術－病原生物的頑強抵抗

早在 1950 年代，柏金絲蟲 (*Perkinsus marinus*) 就已被確認為牡蠣的寄生蟲，時至今日，牠依然被視為歐美養殖牡蠣最具威脅性的病原之一。柏金絲蟲的游動孢子 (zoospore) 侵入牡蠣體內後，旋即脫去鞭毛變為不會游動的裂殖體 (meront)，如果感染的進程順利，裂殖體會再變成繁殖體 (tomont) 以產生更多的 (128–256 個) 游動孢子，孢子釋出後即展開更大規模的感染行動。在正常的情况下，入侵的孢子在形成裂殖體時就會驚動牡蠣的防禦機轉，大部分的裂殖體會被顆粒性血球吞噬 (圖 2A)，接著引發一連串胞內作用 (圖 2B)，導致整個裂殖體最終被破壞、瓦解 (圖 2C)。然而最近的研究發現，經歷漫長的慘烈廝殺歲月，從戰場上存活下來的柏金絲蟲，竟然也演化出獨特的欺敵之道；有些裂殖體雖然被顆粒性球吞噬了，卻能早一步「關掉」牡蠣最主要的活性氧防禦系統，舒舒服服地在血球細胞的溫床裡，繼續發育成繁殖體 (圖 2D)，而且最後傾巢而出的游走孢子，數量百倍於最初的入侵蟲體，將會對牡蠣造成更致命的傷害。Volety 與 Chu 等人 (2009) 甚至認為，「邪惡的」柏金絲蟲 (the evil *Perkinsus marinus*) 不僅利用被反制的顆粒性球作為安全的繁殖溫床，更把牡蠣的血球與循環系統當作便捷的高速公路，讓其得以更快速地在宿主體內散布孢子 (裂殖體、繁殖體本身無運動能力，游走孢子體型小，運動速度遠不及循環系統中的血球)，這種宛如精心策劃的戰術，較諸古希

臘著名的木馬屠城一役，亦不遑多讓。

除了顯微鏡下的觀察，Volety 等人還設計了一連串實驗試圖了解柏金絲蟲如何「關掉」牡蠣的活性氧 (ROS) 防禦系統。他們發現，蓄養過柏金絲蟲的海水，即使在濾除蟲體後，依然能抑制牡蠣顆粒性球的 ROS 反應；但是，與死的柏金絲蟲共同培養的海水，卻沒有類似的抑制能力。研究人員於是從蓄養柏金絲蟲的海水中分離到一種酸性磷酸酶 (acid phosphatase, AP)，並證實 AP 能將 NADPH 去磷酸化，使其失去生成超氧陰離子 (O_2^-) 的功能，而且蓄養的蟲體愈多，培養的溫度愈高，柏金絲蟲釋放到環境中的 AP 就愈多。此外，Asojo 等人 (2006) 也分離到了柏金絲蟲的抗壞血酸過氧化氫酶 (ascorbate peroxidase, APX)，APX 能移除顆粒性球產生的 H_2O_2 ，保護蟲體免於高氧化分子的傷害。簡言之，某些病原生物發展出了抗氧化酶系統，以減緩或中和牡蠣高氧化力防禦分子的殺傷力，看來在演化戰爭中，病原生物又扳回了一城。

左右戰局的場地問題－環境因子對牡蠣與病原的影響

在宿主與病原生物千萬年來纏鬥不休的演化戰爭中，大自然從來就不是冷眼旁觀的公正裁判。

如果我們把牡蠣與病原生物放在天平的兩端，用很長的時間觀察，會看到天平規律地左右擺動著；在演化的過程中，有時是牡蠣的防禦系統佔上風，但病原生物總會找出反制之道。然而近來的研究卻顯示，全球環

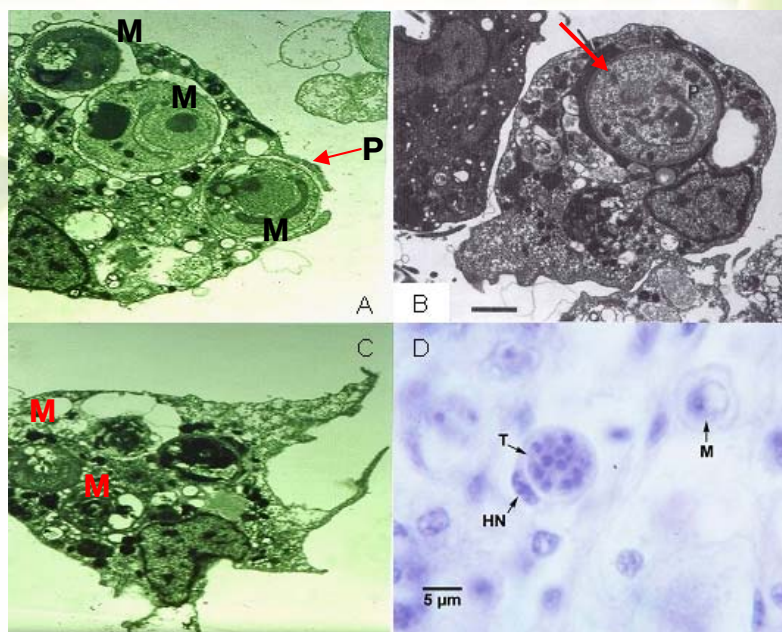


圖 2 牡蠣顆粒性血球吞噬柏金絲蟲裂殖體的過程。(A：顆粒性血球伸出偽足(P)將裂殖體(M)攝入細胞中，一個顆粒性血球可以吞噬數個裂殖體(取材自 Chu, 2009)；B：水解酶(箭頭所指的深色顆粒)旋即包圍吞噬小體(P)；C：被破壞的裂殖體(M)出現空泡化(取材自 La Peyre et al. 1995)；D：被吞噬的裂殖體(M)也會啟動反制機轉，反制成功的裂殖體雖然被包在顆粒性血球(HN)內，還是可以繼續發育為成熟的繁殖體(T) (取材自 Bower, 2006))

境變遷的加劇，如同將特定的砝碼放在天平的某一端，這個加碼的動作，可能會破壞牡蠣與病原長期爭鬥的平衡局面。以前述發生在美、法的兩大疫情為例，研究學者已幾乎確定美國案例的主要病原是塔氏弧菌 (*Vibrio tubiashii*)，法國發生的疫情則與亮弧菌 (*V. splendidus*) 及類疱疹病毒 OHS-V1 關係密切。這些弧菌本來就是海中的常在菌，病原性也不是特別強，但是大環境發生劇變，水溫升高，腐敗速率變快，致使水中含氧量變低；大雨降得又急又猛，導致沿岸海水鹽度陡然驟降；這些環境因素恰好適合某些弧菌的生長，造成特定海域單一菌種的大發生。沒有其他海洋微生物的拮抗平衡，平常個性溫和、不難相處的環境菌株一旦變成

優勢菌種，就會翻臉無情成為殘暴嗜血、魚肉鄉里的凶神惡煞。

此外，愈來愈多的證據顯示，大自然天平的傾斜角度會愈來愈大。Burreson & Ragone Calvo (1996) 的研究證實，超過適溫以上，環境溫度升高與牡蠣的死亡率呈正相關；Raftos (2009) 則發現，環境鹽度下降會抑制牡蠣體內酚氧化酶 (phenoloxidase, PO，係參與牡蠣防禦機轉的一個重要酵素) 的活性，血液中顆粒性球的比例也會降低；而全球暖化的效應，已使不耐寒冷的柏金絲蟲逐漸往更北的緯度擴張領土 (Ford, 2006)。種種不利的條件，如同一波波浪潮，無情衝擊著這與人類相伴已超過 300 年的養殖產業。

一桶水，如何拯救森林大火？— 養殖牡蠣疾病防治的大未來

很多人不知道，台灣是全世界排名第 6 位的牡蠣生產大國，年產量甚至超過澳洲、加拿大、泰國、菲律賓等天然資源豐富的國家（資料來源：FAO）。即使面臨 WTO 的衝擊（全球牡蠣年產量是台灣年產量的 270 倍、中國大陸牡蠣年產量是台灣年產量的 124 倍）、沿近海工業化的污染、海洋資源日漸貧乏及全球氣候變遷等諸多不利因素的衝擊，台灣牡蠣的年產量仍能從 2001 年的 16,841 公噸，持續上升到 2008 的 34,514 公噸，短短 8 年之內產量增加了 105%！在五光十色的諸多新興產業中，台灣的牡蠣產業像是一顆默默發光發熱、價值歷久彌新的暖暖明珠；這來自大海的牛乳，在漁村僻壤裡一代代滋養了數萬蚵農的生息。

但是，在 2009 年本所領銜主辦的「第三屆國際牡蠣研討會」中，很遺憾地國內學者無人針對「牡蠣病害與防治」發表研究成果，反而是本次大會邀請的 6 位主題演講者（人選係由「世界牡蠣學會」推薦）中，有 3 位國外學者不約而同選擇了與牡蠣疾病或免疫相關的主題，可見國內研究方向與國際趨勢的落差。長期以來，魚病研究在國內被視為一門應用性頗高的學科，以有效防治、健康管理為終極目標，而疾病防治的手段，從早期的消毒措施、藥物投與，到近年盛行的免疫賦活劑、益生菌的應用，乃至明日之星的水產疫苗開發等，雖日有所進，但終不脫「人為施作」的模式。然而這樣的疾病防治思維，一旦套用到數以千萬計、廣袤百頃、以海牧

放的牡蠣獨特養殖型態，終將一一失效；養殖牡蠣發生大規模疾病感染時，既無法以人工飼料傳送方劑，更不能將有限藥物盡付汪洋。猶如水能滅火，其理至明，但欲以一桶之水撲滅森林大火，則不啻癡人說夢。

這種特殊的養殖型態，使得牡蠣較諸其他養殖種類，更迫切需要建立高抗病力種原的篩選平台與優健種苗的培育模式；甚至因地制宜，能適應各種環境變化的基因多歧性牡蠣種原庫，亦應及早規畫。國外已有多位學者著手嘗試，例如 Encomio & Chu (2007) 發現，將人工培育的牡蠣種苗野放前，施以短暫的熱衝擊，可「敲醒」牡蠣的防禦機轉，達到類似後天性免疫（如接種疫苗）的良好成效；透過基因體及蛋白質體學研究，部分與抗病力有關的基因標誌（Lallias 等，2007）及蛋白質標誌（Cao 等，2009；Simonian 等，2009）已被確立，可用以選殖高抗病力品系；而在美、歐與澳洲，各種抗特定病原、抗逆境、耐熱牡蠣種原的篩選計畫，亦已如火如荼的展開（Encomio 等，2005；Langdon 等，2003）。持平而言，台灣在這方面的研究與努力，落後實不只一步。

一桶水，也許滅不了熊熊燃燒中的森林大火；但是，以一桶水開始，著手培育燃點高、不易失火的林木種苗，總是種下了對未來的期待與希望。

註：仔細比較這一波歐美牡蠣危機與近年台灣養殖九孔大量死亡的狀況，可發現不論在時間點、流行規模及疫情演進（疫情發生的前 1-3 年都是浮游幼生先發病，然後慢慢轉變成 1-2 歲齡貝類的大量死亡）各方面，都有極高程度的相似性，有興趣深入分析的讀者，可參見 2008 年 7 月 13 日美國洛杉磯時報（Los Angeles Times）及 2008 年 7 月 25 日英國泰晤士報（The Times）。