梁正,贺洁,张旋,等.虾肝肠胞虫感染凡纳滨对虾的脂质代谢变化特征[J].华中农业大学学报,2026,45(3):282-291.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2026.03.026

虾肝肠胞虫感染凡纳滨对虾的脂质代谢变化特征

梁正[1],贺洁[2],张旋[3],周颖[3],童桂香[1],谭红连[1],马荣荣[3]

1.农业农村部中国(广西)—东盟水产种质资源综合开发与利用重点实验室(部省共建)/广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室/广西壮族自治区水产科学研究院,南宁 530021;
2.台州市水产技术推广总站,台州 318000;3.宁波大学海洋学院,宁波 315211

摘要 为解析虾肝肠胞虫(*Enterocytozoon hepatopenaei*,EHP)影响宿主能量代谢并造成宿主生长受阻的相关致病机制,从EHP慢性感染凡纳滨对虾的肝胰腺出发,综合运用透射电镜、组织病理学染色(油红O)、生化指标检测、荧光定量PCR(RT-qPCR)及高效液相色谱(HPLC)等技术,系统分析EHP感染过程中肝胰腺脂质积累、关键代谢酶活性、脂代谢相关基因表达及脂肪酸组成的变化。电镜结果显示EHP感染组的肝胰腺细胞间质内有许多大小不一的脂滴。油红O染色发现,EHP感染2周的对虾肝胰腺组织内出现明显的脂滴聚集。相关生化指标检测发现,感染初期(2周)甘油三酯(TG)含量显著升高,总胆固醇(T-CHO)含量在感染过程中与对照组变化趋势相似。此外,在感染的第3周和第4周,感染组对虾肝胰腺中脂蛋白脂肪酶(LPL)活性较对照组显著下降,而肝脂肪酶(HL)活性代偿性上升。RT-qPCR分析脂质代谢基因表达量发现,脂肪合成相关基因(*FAS*、*ACC*)显著上调,而脂肪分解代谢相关基因(*CPT1*、*AMPKα*、*ACDVL*、*ACDM*、*ACBP*、*ACDS*)明显下调,抑制脂肪酸β氧化。高效液相色谱技术测定结果显示,总脂肪酸含量相对于对照组显著下降($P<0.05$),但长链多不饱和脂肪酸(ARA、EPA、DHA)比例升高。以上结果表明,EHP通过干扰凡纳滨对虾脂质合成与脂肪酸分解,影响其体内的能量代谢循环。推测脂质代谢重塑是EHP慢性感染导致凡纳滨对虾生长受阻的重要病理变化之一。

关键词 虾肝肠胞虫;凡纳滨对虾;脂质;能量代谢
中图分类号 Q959.223+.63;S941.5 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2026)03-0282-10

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是全球沿海地区主要的养殖品种[1],凭借其适盐范围广、食性杂及生长迅速的特性,自1988年引入中国后迅速从南方沿海扩展至北方及内陆养殖区[2]。然而,近年来肠胞虫(*Enterocytozoon hepatopenaei*,EHP)病的频繁暴发,导致对虾生长迟缓,养殖成本增加,严重制约了对虾养殖业的可持续发展。EHP作为专性细胞内寄生虫,特异性侵染对虾肝胰腺上皮细胞[3]。EHP通常不会直接引起对虾死亡,感染EHP早期对虾无明显症状,后期开始出现摄食减少、生长缓慢甚至停止生长[4]。

脂质是凡纳滨对虾能量代谢与生理稳态的核心成分,对其生长发育、繁殖及抗逆能力具有重要作用[5]。例如,甘油三酯是对虾的首要能量储备,可以直接反映对虾的脂质代谢水平[6];n-3/n-6系列长链多不饱和必需脂肪酸不仅可以提高对虾的生长性能,还是细胞膜磷脂的关键构成成分[7-8];此外,总胆固醇(T-CHO)作为对虾的必需营养物质,可以有效提高对虾的生长性能、抗氧化能力和免疫力[9],而微孢子虫在进化过程中形成了高度特异的寄生适应策略,它们能够直接截获宿主体内脂类物质或间接干扰宿主脂质合成通路,以维持自身能量代谢[10-11]。波氏螺旋体(*Spiroplasma poulsonii*)通过特异性消耗宿主血淋巴二酰基甘油酯(diacylglyceride)来维持自身增殖[12];伯氏疟原虫(*Plasmodium berghei*)通过宿主肝细胞内的磷脂酰胆碱来支持自身孢子复制以及寄生物液泡膜的扩大[13];刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)获取储存在宿主脂滴中的脂质并将其整合到

收稿日期:2025-07-25
基金项目:广西壮族自治区水产科学研究院重点实验室开放课题(GXKEYLA-2023-02-2);台州市水产技术推广总站课题(24YY02)
梁正,E-mail:247708905@qq.com
通信作者:马荣荣,E-mail:marongrong@nbu.edu.cn

自己的细胞器膜中[14]。因此，脂质能量代谢途径以及脂质化合物的生物合成对微孢子虫在宿主体内的专性寄生具有重要作用。

目前已有研究从转录组学层面揭示了EHP感染后对虾会出现不同程度的脂代谢相关基因变化[15]，但是对宿主响应EHP感染后脂质代谢变化机制研究较少。因此，本研究系统性探究EHP慢性感染对虾后的脂代谢特征，以解析EHP影响宿主能量代谢并造成宿主生长受阻的相关致病机制，为病原寄生适应性提供线索。

1　材料与方法

1.1　EHP感染试验

浙江北仑某渔场检测出凡纳滨对虾EHP感染，采集感染的对虾并采购一批无外伤、体质健康和大小相近[(2.65±0.14) g]的对虾共同于宁波大学中试基地进行适应性养殖，环境温度控制在25 ℃左右，25 g/L盐度海水，适当曝气，每天于17:00左右投喂饲料1次，每2～3 d换1次水。适应性养殖1周后，将暂养的健康对虾分为2组，试验组将30尾感染EHP的对虾肝胰腺组织匀浆液与饲料拌饵投喂进行攻毒，健康对虾作为对照组，对照组投喂与试验组相同数量拌有健康对虾肝胰腺组织匀浆液的饲料，对照组和试验组喂养总量为对虾总体质量的10%～15%，每天分别投喂1次，连续投喂3 d后，进行正常的饲料喂养，分别随机筛选试验组和对照组对虾各10尾，利用PCR技术检测2组EHP感染情况。其中，PCR检测使用引物序列如下，EHP-F：CACCAGGTTGATTCTGCCTGA，EHP-R：TCTGAAATAGTGACGGGCGG。20 μL反应体系如下：试验组EHP的DNA模板0.8 μL、上下游引物各0.4 μmol/L、2× *Taq* Master Mix(Dye)(康为世纪，中国)10 μL、补足ddH_2O至体积为20 μL。PCR反应条件：94 ℃预变性2 min；94 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，共35个循环；72 ℃终延伸2 min。PCR产物采用1%琼脂糖凝胶电泳后，经Biorad显影仪观察并分析，最终试验组结果为100%感染，对照组无污染。

1.2　对虾肝胰腺组织病理学分析

感染第2周，分别从对照组和感染组中各取3尾对虾，取得新鲜肝胰腺组织样本，将肝胰腺组织样本首先置于3%戊二醛溶液中，4 ℃固定24 h，经0.1 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤(每次15 min)后，在1%锇酸中4 ℃固定1～2 h。经过PBS多次洗涤后，依次使用分级乙醇(30%、50%、70%和90%)和分级丙酮(90%、100%)脱水处理。随后，将样品浸入包埋剂和丙酮的混合物中，经烘干后用超薄切片机切割。切片经醋酸铀酰染色和柠檬酸铅反染色，采用H-7650透射电子显微镜(日立，日本)观察。

1.3　对虾肝胰腺组织形态学观察

将对虾肝胰腺组织(第1周至第2周)的冰冻切片在室温静置15 min，然后用蒸馏水洗涤2次，每次2 min，最后用60%的异丙醇洗涤2次，每次2 min。除去切片上多余液体，使用油红O工作液(索莱宝，中国)对切片进行染色，染色时间为5 min，使用60%的异丙醇对切片进行分化调色，使脂肪滴等结构染色更加清晰，调色结束后立即用蒸馏水洗涤切片。使用50%的苏木精对切片进行复染，复染时间为30 s，随后再次用蒸馏水洗涤切片5 min。最后，用甘油明胶对切片进行封片并置于光学显微镜下观察(脂滴呈红色)，记录染色组织的形态和结构特征，并用ImageJ软件进行相对脂滴面积大小的统计。

1.4　对虾肝胰腺生化指标检测

感染后第1周至第4周，分别采集试验组与对照组各9尾对虾(n=3，每组设置3份生物学重复)的肝胰腺组织。每个样本由3尾对虾肝胰腺组织块等量混合组成，将样本置于无菌生理盐水中冰浴，并采用匀浆仪(艾普，中国)进行机械匀浆10 min，80 Hz，1 500 r/min，得到10%(m/V)的组织匀浆液后，使用离心机(赛默飞，中国)对匀浆液在4 ℃、2 500 r/min条件下离心10 min，，取蛋白上清液采用Bradford法定量。相关生化指标包括：甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、脂蛋白脂酶(LPL)和肝脂肪酶(HL)等，指标的分析均按照试剂盒(南京建成，中国)标准步骤实施检测，利用酶标仪(奥盛，杭州)读取数据。

1.5　关键脂代谢基因表达分析

为进一步解析EHP感染对凡纳滨对虾肝胰腺脂质代谢调控机制，本研究选取脂肪酸合成、分解及利用通路中的关键基因进行表达分析。采取感染EHP 2周的新鲜对虾肝胰腺，用Trizol法提取凡纳滨对虾肝胰腺总RNA，依据试剂盒说明书将1 μg RNA反转录为cDNA。采用SYBR® Green Premix Ex *Taq*™(诺唯赞，中国)进行实时荧光定量PCR(RT-qPCR)，反应体系为10 μL，包含1 μL cDNA模板、0.4 μL上下游引物(表1)及SYBR预混液。内参基因选用β-*actin*，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目标基因相对表达量，以对照组为基准，所有样本重复3次生物学实验。

表1 关键基因的引物序列

Table 1 Primer sequences of key genes

基因 Genes	引物 Primers	引物序列(5′—3′) Sequence (5′—3′)	产物大小/bp Product size	GenBank 序列号 GenBank ID
FAS	FAS-F	TGCTACTGTGCCTGTTGTGTATGC	102	HM595630.1
	FAS-R	CCACCAGAACCTGCGTGAATG		
ACC	ACC-F	CGGCAGACAACATCCATACCACAG	86	NC_091550.1
	ACC-R	GCAACCAGCGAGAGCAGTAACC		
ACDS	ACDS-F	GACCCACGAGATGCTGAGAAAGAC	84	NC_091590.1
	ACDS-R	CTCTGCTTGTCCACCGCTGAAG		
ACDM	ACDM-F	TGGATGAGAGCAGCCTGGGAAG	97	NC_091574.1
	ACDM-R	CAGCACGGTTAGCAGCATCTCC		
ACDVL	ACDVL-F	TCGGTATGGCTGGTGCTCTCTC	80	NC_091555.1
	ACDVL-R	CTGGATACGAGTTGTGGCGAAGTC		
ACBP	ACBP-F	AGCAGCCAACTGATGACGAACTC	109	NC_091560.1
	ACBP-R	GCCTTTCCTTTGAAGTCCAACATGC		
CPT1	CPT1-F	GCTGTATCGTGATGCAATGAATGGC	145	NC_091553.1
	CPT1-R	AGGCTGCTGGGATGTTGATAATGTC		
AMPKα	AMPKα-F	CCACCTGCTCCTCCTACTCCATC	163	NC_091554.1
	AMPKα-R	GTAGTCCACGATCACCACTCAATGC		
β-actin	β-actin-F	CCGGCCGCGACCTCACAGACT	237	NC_091571.1
	β-actin-R	CCTCGGGGCAGCGGAACCTC		

1.6 对虾肝胰腺脂肪酸组分及含量测定

选取EHP感染后期(6周后)对照组和试验组对虾各9尾,每组随机分为3个生物学重复(3尾对虾胰腺混合为1个平行样本),样本冷冻干燥48 h后研钵磨碎混匀,−20 ℃密封保存。准确吸取1.0 mL C23标品(惠诚生物,中国)于带盖玻璃试管中,氮气吹干,取约100 mg冻干粉样品缓慢送入玻璃试管底部,加入≥3 mL BHT溶液(晨明,中国),超声波振荡10 min;80 ℃水浴3 h,加入1 mL HPLC级正己烷(赛默飞,美国),1 mL去离子水,振荡,静置分层,用1 mL注射器小心吸取上层液体至进样瓶中,氮气吹干液体,加入500 μL正己烷,手动上下颠倒混匀,用封口膜封口,防止正己烷挥发,4 ℃冰箱保存。

利用高效液相色谱法检测肝胰腺样品中的脂肪酸组分及含量。色谱柱选用反相C18柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为乙腈和超纯水,采用梯度洗脱程序;流速1.0 mL/min;柱温30 ℃;进样量10 μL。检测器根据仪器配置采用紫外检测器或蒸发光散射检测器。每批样品检测前使用脂肪酸混合标准品进行系统平衡和峰位校准。脂肪酸定性依据各脂肪酸标准品保留时间进行判定,定量采用内标法,以C23脂肪酸为内标,根据目标脂肪酸峰面积与内标峰面积之比计算各组分含量。统计分析指标包括总脂肪酸含量,饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)、多不饱和脂肪酸(PUFA)以及花生四烯酸(ARA)、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)等主要长链多不饱和脂肪酸含量。每个生物学重复样品平行进样2次,取平均值用于后续统计分析。

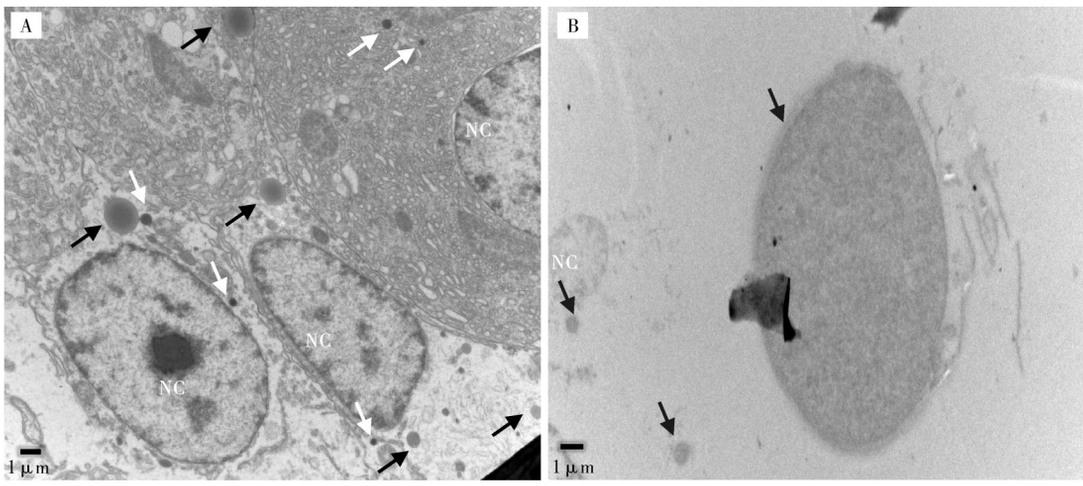
1.7 统计分析

EHP感染对虾的肝胰腺生化指标、脂代谢关键基因表达水平数据以平均值±标准差(mean±SD)表示。分析各组数据的分布正态性和方差齐性后,通过单因素方差分析(one-way ANOVA)结合邓肯多重范围检验(Duncan's multiple range test)进行组间差异分析,显著性水平设置为$P<0.05$。

2 结果与分析

2.1 EHP感染对虾肝胰腺组织形态特征

EHP感染组和健康组的透射电镜结果(图1)显示,EHP感染组的肝胰腺细胞间质内有大量大小不一的脂滴(如黑色箭头所示)。同时,细胞质内分布着直径较小的EHP孢子(如白色箭头所示),这与先



A：EHP感染对虾肝胰腺细胞；B：健康对虾肝胰腺细胞；黑色箭头：脂滴；白色箭头：EHP孢子；NC：细胞核。A：EHP infected shrimp hepatopancreas；B：Large lipid droplets；black arrow：Lipid droplets；white arrow：EHP spores；NC：Nucleus.

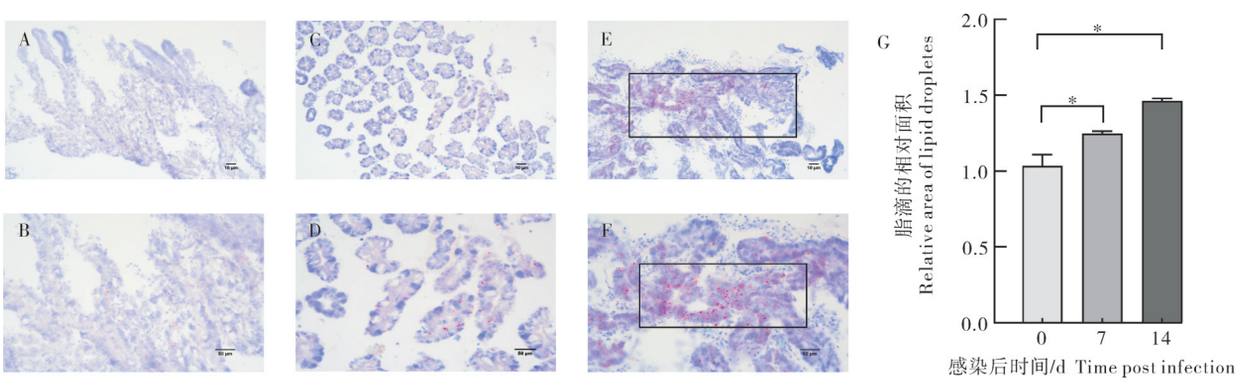
图1　凡纳滨对虾肝胰腺组织透射电镜图

Fig. 1　TEM of hepatopancreas tissue for *L. vannamei*

前研究中EHP孢子大小有一定差距[16]，这可能与感染时间有很大的关系。

2.2　EHP感染后凡纳滨对虾脂质稳态

油红O染色能够可视化组织样本中的脂质分布与含量。对EHP感染后的对虾肝胰腺组织细胞进行油红O脂滴染色，结果显示，EHP感染第1周和对照组的对虾肝胰腺组织细胞内（图2A～D）脂滴较为分散，着色现象不明显；而EHP感染第2周的对虾肝胰腺组织细胞内出现明显的脂滴聚集，油红染料着色更为清晰（图2E～F，方框内所示）。如图2G所示，随着感染时间的增加，对虾肝胰腺组织细胞内脂滴的相对面积显著增加（$P<0.05$）。



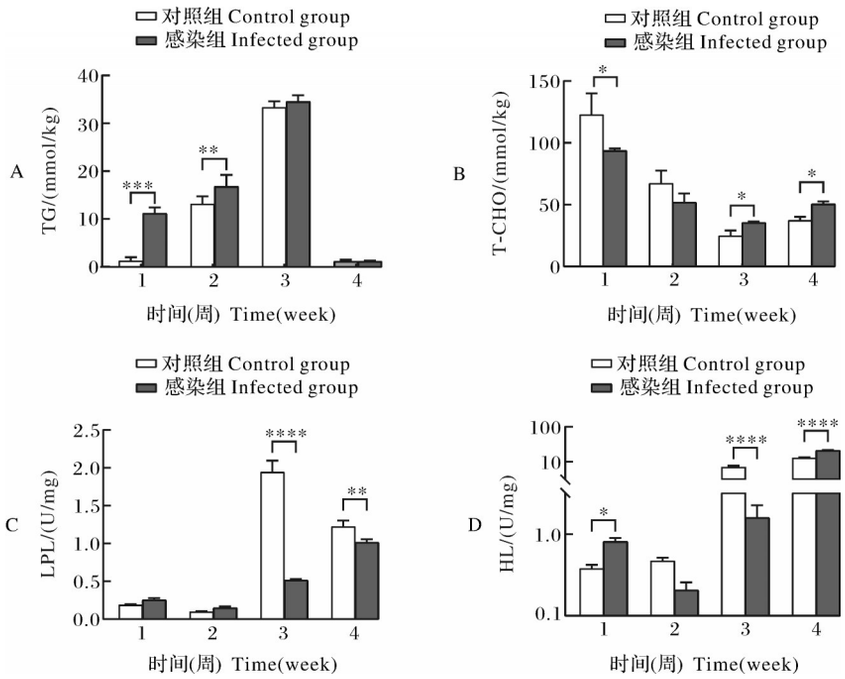
A～B为对照组的对虾肝胰腺组织脂滴分布情况；C～D为EHP感染第1周对虾肝胰腺组织内脂滴分布情况；E～F为EHP感染第2周对虾肝胰腺组织内脂滴分布情况；G为脂滴相对面积统计图。*表示$P<0.05$。A-B represent the distribution of lipid droplets in the hepatopancreatic tissues of shrimp during the control group；C-D represent the distribution of lipid droplets in the hepatopancreatic tissues of shrimp during the 1st week of EHP infection；E-F represent the distribution of lipid droplets in the hepatopancreatic tissues of shrimp during the 2nd week of EHP infection；G represents the statistical chart of the relative area of lipid droplets. * represents $P<0.05$.

图2　凡纳滨对虾肝胰腺组织脂滴染色

Fig. 2　Lipid droplet staining of hepatopancreas tissue of *L. vannamei*

2.3　EHP感染后凡纳滨对虾生化指标

如图3A所示，凡纳滨对虾肝胰腺内甘油三酯（TG）含量在EHP感染初期（前2周）显著高于健康对照组（$P<0.05$），随后呈现动态恢复趋势，至感染后期（第3周后）与健康对照组无显著差异；由图3B可见，总胆固醇（T-CHO）含量在感染前2周内持续降低，且低于对照组，而在感染的第3周和第4周内，又呈现上升趋势，且感染组均显著高于对照组（$P<0.05$），且感染组肝胰腺内的T-CHO在整个感染过程中始终与健康对照组保持相似波动规律。感染第3～4周，感染组脂蛋白脂肪酶（LPL）活性呈现显著下降（$P<0.05$），第3周时其含量降至健康对照组的



A. TG; B. T-CHO; C. LPL; D. HL. *: $P<0.05$;**: $P<0.01$;***: $P<0.001$;****: $P<0.000\,1$.

图3 凡纳滨对虾感染EHP后肝胰腺各项生化指标变化

Fig. 3 The changes in biochemical parameers of hepatopancreas in *L. vannamei* after EHP infection

25%(图3C),而感染组肝脂肪酶(HL)活性在第4周时则比对照组显著高近25%(图3D,$P<0.05$)。

2.4 关键脂代谢基因表达分析

如图4所示,在脂肪合成相关基因中,*FAS*、*ACC*基因相对表达量显著升高($P<0.05$)。脂肪分解相关基因中*CPT1*、*AMPKα*基因相对表达量均降低,其中,*AMPKα*基因表达显著降低($P<0.05$),影响脂肪酸β氧化的基因(*ACDVL*,*ACDM*,*ACBP*,*ACDS*)中,*ACDM*基因相对表达量升高,但没有达到显著差异,而其他基因相对表达量均发生不同程度的降低,其中,*ACBP*、*ACDS*基因相对表达量呈显著性降低($P<0.05$)。

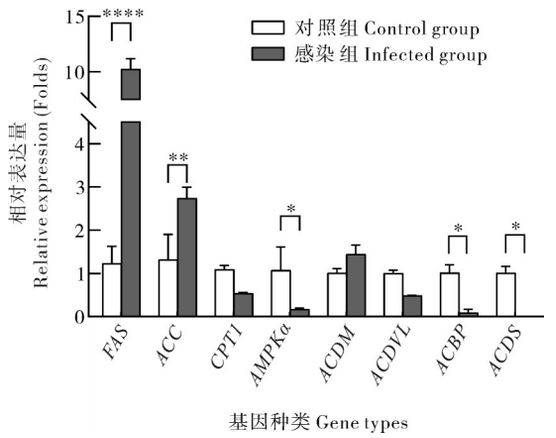
2.5 脂肪酸组分及含量变化

色谱分析显示,EHP感染后期对虾肝胰腺检测出5种饱和脂肪酸、14种不饱和脂肪酸(4种单不饱和脂肪酸、10种多不饱和脂肪酸)。EHP长期感染后对虾肝胰腺内总脂肪酸含量较健康对照组出现显著下降($P<0.05$),而2种饱和脂肪酸(C16:0和C18:0)、4种不饱和脂肪酸(C18:1n-9、C20:1n-9、C18:2n-6、C18:3n-6)均显著降低($P<0.05$),尤其是棕榈酸(C16:0)、油酸(C18:1n-9)和亚油酸(C18:2n-6)在对虾肝胰腺中含量较多,感染组相对于对照组分别下降了约65.27%、79.08%和75.94%,而EHP感染组检测出健康虾没有的C18:4n-3、C20:4n-3和C22:5n-3,同时感染组的3种长链不饱和必需脂肪酸花生四烯酸(ARA)、二十碳五烯酸(EPA)以及二十二碳六烯酸(DHA)相较于对照组含量有所升高(表2)。

3 讨 论

微孢子虫EHP作为细胞内专性寄生原虫,其进化过程中能量代谢相关基因的简化与丢失[17],迫使宿主通过脂代谢重编程满足其增殖需求。尽管EHP感染通常不直接导致宿主死亡,但其可能通过持续调控并利用宿主脂质资源维持自身增殖与长期寄生状态。本研究从脂代谢动态调控角度出发,通过对EHP持续感染过程中多时间点的脂代谢指标检测,解析EHP与宿主从急性感染到慢性共生的适应性演化机制,为寄生虫与宿主的相互作用关系提供脂质代谢维度的见解。

脂质作为对虾肝胰腺的核心组分,不仅构成细胞器膜与生物膜的主要结构基础,更以脂滴形式承担能量储存、代谢、免疫调控的多重功能[18-19]。脂滴由中性脂质(甘油三酯、甾醇酯)形成的疏水核心与包裹其外的极性脂质(磷脂、胆固醇、游离脂肪酸)构成[20]。宿主非脂肪细胞中脂滴积累是应对病原感染的普遍适应性反应[21-22]。TG是真核动物中最主要的能量储存分子,在大多数细胞中作为高度还原的



FAS：脂肪酸合酶基因；*ACC*：乙酰辅酶A羧化酶基因；*CPT1*：肉碱棕榈酰转移酶1基因；*AMPKα*：腺苷酸活化激酶α基因；*ACDM*：中链特异性酰基辅酶A脱氢酶基因；*ACDVL*：极长链特异性酰基辅酶A脱氢酶基因；*ACBP*：酰基辅酶A结合蛋白基因；*ACDS*：酰基辅酶A脱氢酶基因。*表示$P<0.05$；**表示$P<0.01$；****表示$P<0.000\ 1$。*FAS*: Fatty acid synthase; *ACC*: Acetyl-CoA carboxylase; *CPT1*: Carnitine palmitoyltransferase 1; AMPKα: Adenosine monophosphate-activated protein kinase α; *ACDM*: Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase; *ACDVL*: Very long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase; *ACBP*: Acyl-CoA binding protein; *ACDS*: Acyl-CoA dehydrogenases. * represents $P<0.05$; ** represents $P<0.01$; **** represents $P<0.000\ 1$.

图4　EHP感染后影响凡纳滨对虾肝胰腺脂代谢关键基因表达

Fig. 4　Expression of key genes affecting hepatopancreatic lipid metabolism in *L. vannamei* after EHP infection

可氧化能量储存，是细胞内能量代谢和稳态所必需的[23]。胆固醇作为细胞膜的基本结构和多种生物活性分子的前体，在免疫反应中扮演着不可或缺的角色[24]。本研究发现，EHP感染2周后凡纳滨对虾脂滴数量较对照组显著增加，并伴随TG含量升高，这表明EHP感染会显著动态性地改变对虾肝胰腺细胞内脂滴的重构。本研究还发现，在感染前2周，感染组T-CHO含量持续低于对照组。这可能是宿主应对EHP感染而启动免疫应答的关键时期，大量的T-CHO用于构建主动免疫的细胞膜的组成成分[25]。研究还发现，感染组和对照组T-CHO含量都随着感染时间的增加而增加，且感染组显著高于对照组。这表明宿主的生理状态由最初的主动免疫状态，改变为由EHP持续感染引发肝胰腺脂质代谢紊乱与组织损伤的状态[26]，而积累的T-CHO可用于其自身的生长发育[27]。有研究发现，在微孢子虫-宿主互作中，胆固醇被证实是微孢子虫增殖的关键资源，其体内缺少从头合成胆固醇的途径，如恶性疟原虫（*Plasmodium falciparum*）和利什曼原虫（*Leishmania* spp.）利用宿主胆固醇重塑红细胞膜，增强寄生虫逃逸宿主免疫识别以及自我增殖[25,28]。LPL和HL是影响

表2　EHP感染后凡纳滨对虾肝胰腺脂肪酸含量变化

Table 2　Changes in fatty acid content of hepatopancreas of shrimp *L. vannamei* after EHP infection

mg/g

脂肪酸种类 Types of fatty acids	对照组 Control group	感染组 Infected group
C12:0	0.08±0.00	0.04±0.00
C14:0	1.41±0.13	1.91±0.33
C16:0	44.29±2.22b	15.38±1.41a
C18:0	17.72±0.09b	4.51±0.45a
C20:0	0.93±0.01	0.21±0.03
C16:1n-7	4.87±0.43	4.71±0.10
C18:1n-9	106.90±4.23b	22.36±2.94a
C20:1n-9	5.08±0.70b	1.39±0.14a
C22:1n-9	0.47±0.13	0.26±0.13
C18:2n-6(LA)	47.54±3.70b	11.44±1.59a
C20:2n-6	14.30±1.22b	0.61±0.05a
C18:3n-6	1.05±0.09b	0.17±0.03a
C18:3n-3(ALA)	8.97±1.23b	2.07±0.33a
C18:4n-3		0.16±0.03
C20:4n-3		1.48±2.25
C20:4n-6(ARA)	1.17±0.16	1.86±0.19
C20:5n-3(EPA)	2.22±0.22	4.60±2.26
C22:5n-3		0.39±0.23
C22:6n-3(DHA)	3.56±0.39b	7.34±0.71a
SFA	64.42±2.43b	22.05±2.20a
MUFA	117.32±3.83b	28.73±2.95a
PUFA	78.82±4.39	30.12±2.81
n-3 PUFA	15.81±1.75	16.20±1.18
n-6 PUFA	64.07±2.55b	14.08±1.74a
ΣFA	260.56±10.65b	80.9±7.90a

注：LA：亚油酸；ALA：α-亚麻酸；ARA：花生四烯酸；EPA：二十碳五烯酸；DHA：二十二碳六烯酸。SFA：饱和脂肪酸；MUFA：单不饱和脂肪酸；n-3 PUFA：n-3多不饱和脂肪酸；n-6 PUFA：n-6多不饱和脂肪酸；ΣFA：总脂肪酸。不同小写字母表示2组间存在显著差异（$P<0.05$）。Note：LA: Linoleic acid; ALA: α-Linolenic acid; ARA: Arachidonic acid; EPA: Eicosapentaenoic acid; DHA: Docosahexaenoic acid; SFA: Saturated fatty acid; MUFA: Monounsaturated fatty acids; n-3 PUFA: n-3 polyunsaturated fatty acids; n-6 PUFA: n-6 polyunsaturated fatty acids; ΣFA: Fatty acid. Different lowercase letters represent significant differences between the two groups ($P<0.05$).

生物体内脂质代谢的2种重要的脂肪酶，能催化TG等脂质分解为脂肪酸，从而为组织提供氧化供能的原料[29-30]，HL还具有转运胆固醇的作用[31]。本研究发现，随着感染时间的增加，对虾肝胰腺LPL与HL的代谢调控呈现显著拮抗性，这表明EHP可能通过影响不同通路干扰宿主脂质代谢稳态，并推测EHP能使HL酶代偿性升高来分解过量的TG，这可能与EHP的增殖需求有关，从而进一步满足自身的代谢需求[15]。第3周和第4周的LPL酶活降低，而HL酶活增加，会使TG和T-CHO的含量分别呈现上升和下降，这与本研究中TG及T-CHO测定的结果相符合，进一步支持了之前的结论。

EHP会干扰脂肪酸代谢过程中关键基因的表达[32-33]。本研究发现参与脂肪酸合成的关键基因（*FAS*、*ACC*）表达上调，分解通路基因（*CPT1*、*AMPKα*）表达下调，影响脂肪酸β氧化的基因（*ACD-VL*、*ACDM*、*ACBP*、*ACDS*）中，除*ACDM*异常升高外，其余基因表达量均出现不同程度降低，这表明EHP促进了对虾肝胰腺细胞内脂肪酸的合成，并抑制脂肪酸分解与氧化产能，这与前述脂滴积累、TG升高及脂质代谢酶活性变化结果基本一致。而*ACDM*为中链特异性酰基辅酶A脱氢酶，负责氧化中链脂肪酸，在长链脂肪酸β氧化途径被整体抑制的情况下，细胞可通过特异性增强中链脂肪酸的氧化能力，作为一种代偿性的能量供应策略[34]，在本研究中，其异常升高，推测是为了弥补EHP感染而造成宿主脂肪酸β氧化的能量损失[35]。脂肪酸对多种寄生虫生长发育具有重要作用[36]。本研究发现，与对照组相比，EHP感染组总脂肪酸含量大大降低，其中，棕榈酸（C16:0）、油酸（C18:1n-9）和亚油酸（C18:2n-6）在对虾肝胰腺中含量较多，受EHP影响显著下降，这与Hoch等[37]的研究结果相似。有研究发现，恶性疟原虫（*Plasmodium falciparum*）会摄取宿主血清中的脂肪酸用于自身的生长发育[38]，Mazumdar等[39]对弓形虫（*Toxoplasma gondii*）的研究也有相似的结果，而本研究结果表明EHP对宿主存在能量依赖性，感染后期的EHP在对虾肝胰腺中会摄取大量饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸等获取能量，这部分能量可能用于孢子的分裂增殖或其他的代谢活动。花生四烯酸（ARA）的代谢产物，例如，白三烯（LTs）、前列腺素（PG）和环戊酮前列腺素（CPG）等在促炎和抗炎调节中起关键作用[40]。n-3族脂肪酸（以EPA和DHA为主）在炎症和免疫过程中具有重要的调节作用，可以激活PPAR信号通路，从而抑制生物体内的炎症反应并增强其非特异性免疫[41]。本研究发现，感染组对虾肝胰腺中的ARA、EPA以及DHA相较于对照组有所增加，这表明在感染后期，EHP可能通过减少宿主肝胰腺内ARA、EPA及DHA的分解利用，从而抑制其代谢产物免疫应激和炎症反应，来逃避宿主对它的非特异性免疫作用。

综上，本研究系统揭示了EHP感染对凡纳滨对虾脂质代谢的调控机制及其对宿主能量稳态的影响。研究发现，在感染前期，EHP通过上调脂肪合成关键基因（*FAS*、*ACC*）的表达，促进甘油三酯（TG）的积累与肝胰腺细胞内脂滴的形成；同时，抑制脂肪酸β氧化通路关键基因（如*CPT1*、*AMPKα*）的表达及脂蛋白脂肪酶（LPL）的活性，阻碍脂肪分解供能，而肝脂肪酶（HL）活性则代偿性上升，提示EHP可能通过调控宿主脂代谢酶活性以获取能量。感染后期，高效液相色谱分析显示总脂肪酸含量显著下降，尤其是棕榈酸（C16:0）、油酸（C18:1n-9）和亚油酸（C18:2n-6）等主要脂肪酸，表明EHP大量摄取宿主脂肪酸以满足自身生长发育需求。此外，具有免疫调节功能的长链多不饱和脂肪酸（如ARA、EPA、DHA等）比例升高，可能通过其代谢产物抑制宿主炎症与免疫反应，为EHP的慢性感染与免疫逃逸提供了有利的微环境。本研究从多层面解析了EHP通过脂代谢重编程干扰对虾能量循环的分子机制，为对虾EHP感染的防控策略提供了新的理论依据和潜在靶点。

参考文献 References

[1] SHEN H, ZHANG X, QIAN D, et al. Pathobiology of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in shrimp: diagnosis and interpretation from the gut bacterial community[J/OL]. Aquaculture, 2022, 554: 738169 [2025-07-25]. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738169.

[2] GAO W, TAN B, MAI K, et al. Profiling of differentially expressed genes in hepatopancreas of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) exposed to long-term low salinity stress[J]. Aquaculture, 2012, 364: 186-191.

[3] TOURTIP S, WONGTRIPOP S, STENTIFORD G D, et al. *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microsporida: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): fine structure and phylogenetic relationships[J]. Journal of invertebrate pathology, 2009, 102(1): 21-29.

[4] 周颖，祝波，钱冬，等. 虾肝肠胞虫感染病理特征，18S rRNA

基因序列及系统进化树分析[J].宁波大学学报(理工版),2022,35(2):8-14.ZHOU Y,ZHU B,QIAN D,et al.Pathological characteristics of *Enterocytozoon hepatopenaei*, 18S rRNA gene sequence and phylogenetic analysis[J].Journal of Ningbo University (science & technology edition),2022,35(2):8-14 (in Chinese with English abstract).

[5] 王腾.脂类代谢在凡纳滨对虾氨氮耐受中的作用研究[D].青岛:中国海洋大学,2020.WANG T.Study on the role of lipid metabolism in ammonia nitrogen tolerance of *Litopenaeus vannamei*[D].Qingdao:Ocean University of China,2020 (in Chinese with English abstract).

[6] 耿泽星,陈朝通,吴鹏,等.饲料添加藻钩虾粉对凡纳滨对虾生长和脂类物质含量的影响[J].动物营养学报,2023,35(1):514-526.GENG Z X,CHEN C T,WU P,et al.Effects of dietary addition of gammarid powder on growth and lipid content of *Litopenaeus vannamei*[J].Chinese journal of animal nutrition,2023,35(1):514-526 (in Chinese with English abstract).

[7] 蒋振廷,刘波,戈贤平,等.饲料不同n-3/n-6脂肪酸比值对日本沼虾生长、虾体组分、血清抗氧化及相关基因表达的影响[J].水产学报,2019,43(10):2109-2122.JIANG Z T,LIU B,GE X P,et al.Effects of different dietary n-3/n-6 fatty acid ratios on growth,body composition,serum antioxidant capacity,and related gene expression of *Macrobrachium nipponense*[J].Journal of fisheries of China,2019,43(10):2109-2122 (in Chinese with English abstract).

[8] 韩菲菲,汪以真.必需脂肪酸在鱼虾饲料中的应用[J].饲料研究,2004(1):15-19.HAN F F,WANG Y Z.Application of essential fatty acids in fish and shrimp feeds[J].Feed research,2004(1):15-19 (in Chinese with English abstract).

[9] 闫明磊.饲料中胆固醇、大豆卵磷脂及其交互作用对淡水养殖凡纳滨对虾抗逆性的影响[D].上海:上海海洋大学,2018.YAN M L.Effects of dietary cholesterol,soybean lecithin,and their interaction on stress resistance of freshwater-cultured *Litopenaeus vannamei*[D].Shanghai:Shanghai Ocean University,2018 (in Chinese with English abstract).

[10] WIREDU BOAKYE D, JAROENLAK P, PRACHUMWAT A,et al.Decay of the glycolytic pathway and adaptation to intranuclear parasitism within *Enterocytozoonidae microsporidia* [J]. Environmental microbiology, 2017, 19(5): 2077-2089.

[11] KEELING P J,CORRADI N,MORRISON H G,et al.The reduced genome of the parasitic microsporidian *Enterocytozoon bieneusi* lacks genes for core carbon metabolism [J]. Genome biology and evolution,2010(2):304-309.

[12] HERREN J K,PAREDES J C,SCHÜPFER F,et al.Insect endosymbiont proliferation is limited by lipid availability [J/OL]. eLife, 2014, 3: e02964 [2025-07-25]. https://doi.org/10.7554/eLife.02964.

[13] ITOE M A,SAMPAIO J L,ITOE M A,et al.Host cell phosphatidylcholine is a key mediator of malaria parasite survival during liver stage infection[J].Cell host & microbe,2014,16(6):778-786.

[14] NOLAN S J,ROMANO J D, COPPENS I.Host lipid droplets:an important source of lipids salvaged by the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*[J/OL].PLoS pathogens,2017,13(6):e1006362[2025-07-25]. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006362.

[15] CAO Z,GAO Y,XU J,et al.Transcriptome analysis of the hepatopancreas in *Penaeus vannamei* under experimental infection with *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP)[J/OL].Fish & shellfish immunology, 2023, 134: 108605[2025-07-25]. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108605.

[16] ZHU B,LU X,LIU Y,et al.Effects of *Enterocytozoon hepatopenaei* single-infection or co-infection with *Vibrio parahaemolyticus* on the hepatopancreas of *Penaeus vannamei*[J/OL]. Aquaculture, 2022, 549: 737726[2025-07-25]. https://doi.org/10.1016/j.Aquaculture.2021.737726.

[17] FRANCHET A,NIEHUS S,CARAVELLO G,et al.Phosphatidic acid as a limiting host metabolite for the proliferation of the microsporidium *Tubulinosema ratisbonensis* in *Drosophila flies*[J].Nature microbiology,2019,4(4):645-655.

[18] 颜素芬,姜永华,陈昌生.中国龙虾早期叶状幼体肝胰腺的显微与超微结构[J].水产学报,2005,29(6):737-744.YAN S F,JIANG Y H,CHEN C S.Micro-ultrastructure of hepatopancreas of phyllosoma larvae in *Panulirus stimpsoni*[J].Journal of fisheries of China,2005,29(6):737-744 (in Chinese with English abstract).

[19] PEREIRA-DUTRA F S,TEIXEIRA L,DE SOUZA COSTA M F,et al.Fat,fight,and beyond:the multiple roles of lipid droplets in infections and inflammation[J].Journal of leukocyte biology,2019,106(3):563-580.

[20] TAUCHI-SATO K,OZEKI S,HOUJOU T,et al.The surface of lipid droplets is a phospholipid monolayer with a unique fatty acid composition [J]. Journal of biological chemistry, 2002,277(46):44507-44512.

[21] HINSON E R,CRESSWELL P.The antiviral protein,viperin,localizes to lipid droplets via its N-terminal amphipathic α-helix[J].PNAS,2009,106(48):20452-20457.

[22] HALDAR A K,SAKA H A,PIRO A S,et al.IRG and GBP host resistance factors target aberrant,"non-self" vacuoles characterized by the missing of "self" IRGM proteins[J/OL]. PLoS pathog,2013,9(6):e1003414[2025-07-25]. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003414.

[23] KOCH B,SCHMIDT C,DAUM G.Storage lipids of yeasts:a survey of nonpolar lipid metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*,*Pichia pastoris*,and *Yarrowia lipolytica*[J].FEMS microbiology reviews,2014,38(5):892-915.

[24] AHIYA A I,BHATNAGAR S,MORRISEY J M,et al.Dramatic consequences of reducing erythrocyte membrane choles-

terol on *Plasmodium falciparum* [J/OL]. Microbiol Spectr, 2022, 10 (1): e0015822 [2025-07-25]. https://doi.org/10.1128/spectrum.00158-22.

[25] MAIER A G, VAN OOIJ C. The role of cholesterol in invasion and growth of malaria parasites[J/OL]. Frontiers in cellular and infection microbiology, 2022, 12: 984049 [2025-07-25]. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.984049.

[26] CAO Z, CHEN C, WANG C, et al. *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) infection alters the metabolic processes and induces oxidative stress in *Penaeus vannamei* [J/OL]. Animals, 2023, 13(23): 3661[2025-07-25]. https://doi.org/10.3390/ani13233661.

[27] PUCADYIL T J, TEWARY P, MADHUBALA R, et al. Cholesterol is required for *Leishmania donovani* infection: implications in leishmaniasis[J]. Molecular and biochemical parasitology, 2004, 133(2): 145-152.

[28] 刘超男. 胆固醇代谢对电离辐射诱导骨髓造血干细胞铁死亡的影响与机制研究[D]. 重庆: 陆军军医大学, 2024. LIU C N. Effect and mechanism of cholesterol metabolism onionizing radiation induced ferroptosis of bone marrowhematopoietic stem cells[D]. Chongqing: Army Medical University, 2024 (in Chinese with English abstract).

[29] LIU X, ZHANG Y, HAN B, et al. Postprandial exercise regulates tissue-specific triglyceride uptake through angiopoietin-like proteins[J/OL]. JCI insight, 2024, 9(16): e181553[2025-07-25]. https://doi.org/10.1172/jci.insight.181553.

[30] ZAMBON A, BERTOCCO S, VITTURI N, et al. Relevance of hepatic lipase to the metabolism of triacylglycerol-rich lipoproteins [J]. Biochemical society transactions, 2003, 31(5): 1070-1074.

[31] KOBAYASHI J, MIYASHITA K, NAKAJIMA K, et al. Hepatic lipase: a comprehensive view of its role on plasma lipid and lipoprotein metabolism [J]. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 2015, 22(10): 1001-1011.

[32] YANG L G, WANG Y, WANG Y, et al. Transcriptome analysis of pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) intestines and hepatopancreas in response to *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) infection [J/OL]. Journal of invertebrate pathology, 2021, 186: 107665[2025-07-25]. https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107665.

[33] ZHANG L, ZHANG S, QIAO Y, et al. Dynamic interplay of metabolic and transcriptional responses in shrimp during early and late infection stages of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2023, 24(23): 16738[2025-07-25]. https://doi.org/10.3390/ijms242316738.

[34] MA A P Y, YEUNG C L S, TEY S K, et al. Suppression of ACADM-mediated fatty acid oxidation promotes hepatocellular carcinoma via aberrant CAV1/SREBP1 signaling[J]. Cancer research, 2021, 81(13): 3679-3692.

[35] LIANG X, XU C, WANG P, et al. Effect of dietary krill oil levels on the regulation of ovary development in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) broodstock[J/OL]. Aquaculture, 2024, 589: 740968 [2025-07-25]. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.740968.

[36] POUDYAL N R, PAUL K S. Fatty acid uptake in *Trypanosoma brucei*: host resources and possible mechanisms [J/OL]. Front cell infect microbiol, 2022, 12: 949409 [2025-07-25]. https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.949409.

[37] HOCH G, SCHAFELLNER C, HENN M W, et al. Alterations in carbohydrate and fatty acid levels of *Lymantria dispar* larvae caused by a microsporidian infection and potential adverse effects on a co-occurring endoparasitoid, *Glyptapanteles liparidis* [J]. Arch insect biochem physiol, 2002, 50 (3): 109-120.

[38] MI-ICHI F, KITA K, MITAMURA T. Intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* utilize a broad range of serumderived fatty acids with limited modification for their growth[J]. Parasitology, 2006, 133: 399-410.

[39] MAZUMDAR J, H WILSON E, MASEK K, et al. Apicoplast fatty acid synthesis is essential for organelle biogenesis and parasite survival in *Toxoplasma gondii* [J]. PNAS, 2006, 103 (35): 13192-13197.

[40] ZHANG C, LIU J, WANG X, et al. Comprehensive transcriptional and metabolomic analysis reveals the neuroprotective mechanism of dietary gamma-aminobutyric acid response to hypoxic stress in the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J/OL]. Fish shellfish immunol, 2023, 135: 108663[2025-07-25]. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108663.

[41] GRIMM H, MAYER K, MAYSER P, et al. Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes[J]. British journal of nutrition, 2002, 87(S1): S59-S67.

Characterization of lipid metabolic alterations in *Litopenaeus vannamei* infected with *Enterocytozoon hepatopenaei*（EHP）

LIANG Zheng[1], HE Jie[2], ZHANG Xuan[3], ZHOU Ying[3], TONG Guixiang[1], TAN Honglian[1], MA Rongrong[3]

1.*China (Guangxi)-ASEAN Key Laboratory of Comprehensive Exploitation and Utilization of Aquatic Germplasm Resources/Key Laboratory of Aquaculture Genetic and Breeding and Healthy Aquaculture of Guangxi Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning 530021, China*;
2.*Taizhou Aquatic Product Technology Extension Station, Taizhou 318000, China*;
3.*School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China*

Abstract　To elucidate the pathogenic mechanism by which *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) affects host energy metabolism and causes growth retardation, this study focused on the hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* with chronic EHP infection. A comprehensive approach was employed utilizing techniques such as transmission electron microscopy, histopathological staining (Oil Red O), biochemical index assays, fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR), and high-performance liquid chromatography (HPLC) to systematically analyze changes in lipid accumulation, key metabolic enzyme activities, expression of lipid metabolism-related genes, and fatty acid composition in the hepatopancreas during infection. Electron microscopy results revealed numerous lipid droplets of varying sizes in the interstitium of hepatopancreas cells in the EHP-infected group. Histological analysis showed obvious aggregation of lipid droplets in the hepatopancreas tissue of prawns infected with EHP for 2 weeks. Biochemical assays indicated a significant increase in triglyceride (TG) content during the early stage of infection (2 weeks), while total cholesterol (T-CHO) levels exhibited a trend similar to that of the control group during the infection process. In addition, in the 3rd and 4th weeks of infection, lipoprotein lipase (LPL) activity in the hepatopancreas of infected prawns decreased significantly compared to controls, whereas hepatic lipase (HL) activity increased compensatorily. RT-qPCR analysis of lipid metabolism gene expression showed that genes associated with fat synthesis (*FAS*, *ACC*) were significantly upregulated, while genes involved in fatty acid catabolism (*CPT1*, *AMPKα*, *ACDVL*, *ACDM*, *ACBP*, *ACDS*) were significantly downregulated, thereby inhibiting fatty acid β-oxidation. High-performance liquid chromatography results showed a significant decrease in total fatty acid content decreased significantly compared to the control group ($P<0.05$), while the proportion of long-chain polyunsaturated fatty acids (ARA, EPA, DHA) increased. The above results indicate that EHP disrupts the energy metabolism cycle in *L.vannamei* by interfering with lipid synthesis and fatty acid degradation. This study demonstrates that lipid metabolism remodeling is an important pathological mechanism underlying growth retardation in *L.vannamei* caused by chronic EHP infection, providing a theoretical foundation for the prevention and control of EHP disease.

Keywords　*Enterocytozoon hepatopenaei*; *Litopenaeus vannamei*; lipids; energy metabolism

（责任编辑：边书京）