

综 述

鱼类非特异性免疫研究的新进展

RECENT ADVANCES OF NON-SPECIFIC IMMUNITY IN FISH

聂 品

(水生生物研究所, 武汉 430072)

Nie Pin

(Institute of Hydrobiology, Wuhan 430072)

关键词 鱼类, 免疫学, 非特异性免疫

KEYWORDS Fish, Immunology, Non-specific immunity

同其他脊椎动物一样, 有颌鱼类的免疫系统包括先天性的或非特异性的防御系统, 以及获得性的或特异性的防御系统。存在于淋巴组织或循环血液中的白细胞参与这些反应, 白细胞中的吞噬细胞和非特异性的细胞毒性细胞(cytotoxic cells)参与先天性免疫, 淋巴细胞参与特异性的免疫。本文就鱼类免疫学在细胞和分子水平上取得的重要进展作一综述。

1 淋巴组织及其免疫功能

鱼类的主要淋巴组织包括提供 T 细胞分化环境的胸腺, 以及次级淋巴组织——肾脏和脾脏[Rowley 等 1988, Manning 1994]。胸腺起源于胚胎发育的咽上皮, 但同其他四肢脊椎动物不同, 大多数鱼类的胸腺保留了和咽的联系[Chilmonczyk 1992], 由淋巴细胞和淋巴母细胞组成, 在淋巴组织的起源中是最先获得成熟淋巴细胞的器官[Manning 1994]。鱼类的胸腺在免疫能力的个体发育中具有特别重要的作用; 但随着年龄的增长, 其胸腺会退化[Chilmonczyk 1992]。

肾脏却是成鱼最重要的淋巴组织, 可分为头肾(Pronephros)和中肾(Mesonephros)。成鱼的头肾已失去排泄的功能, 却保留了造血和内分泌的功能。受抗原刺激, 头肾和中肾细胞会出现增生。利用溶血空斑和免疫酶技术已经证实头肾和中肾都存在抗体产生细胞, 表明肾脏是硬骨鱼类重要的抗体产生器官。脾脏在某些鱼类, 特别是在软骨鱼类可分为红区(Red pulp)、白区(White pulp)即淋巴区(Lymphoid area)。然而, 硬骨鱼类的脾脏无此分化, 是淋巴系统组织发生中最后一个发生的器官[Manning 1994]。象肾脏一样, 脾脏在造血和免疫反应方面都起着重要的作用。此外, 肾脏和脾脏都有色素含有细胞(Pigment containing cells), 即黑色素吞噬细胞(Melanin macrophages)[Manning 1994]。鱼类还有分散的淋巴细胞生发中心, 它们存在于粘液组织, 如皮肤、肠道和鳃, 但不具备完整的淋巴结构[Hart 等 1988, Secombes 1994]。这些分散的淋巴组织在免疫原的摄取方面有着重要的作用, 因而在养殖鱼类的免疫保护方面有着重要的意义, 成为研究的焦点[Hart 等 1988, Manning 1994]。

2 体液中的非特异性物质

存在于鱼类血液或粘液中的具有非特异性抵抗作用的分子包括溶菌酶、抗蛋白酶(如 α -巨球蛋白)、转

移因子、补体、C- 反应性蛋白、几丁质酶、I 型干扰素[Alexander 和 Ingram 1992, Mansoon 等 1992]。这些物质可以直接分解细菌(如溶菌酶、补体)或真菌(如几丁质酶),抑制细菌(如转移因子)或病毒(如干扰素)的复制,或作为调理素增加吞噬细胞的吞噬量(C- 反应性蛋白、补体),乃至中和细菌(如 α - 巨球蛋白)[Dorson 等 1992, Pinto 等 1993]。

补体是机体抵抗微生物感染的重要成分。 C_3 是补体系统的主要成分,它可以通过经典或旁路途径激活。七鳃鳗的 C_3 仅通过旁路激活,而且其补体系统的主要作用是促进吞噬作用,而不是细胞溶解[Nonaka 等 1984a]。随着有颌鱼类的进化和免疫球蛋白的出现,出现了补体的经典激活途径,即利用补体参与靶细胞溶解和调理作用。对软骨鱼类补体系统的研究证明了板鳃类的免疫球蛋白和补体在功能上可相互作用。在鲨鱼的已经证明的六种补体中,有三种在功能上和哺乳动物的 C_1 、 C_8 和 C_9 相似[Koppenheffer 1987]。虹鳟的补体可通过经典和旁路途径激活,具有与哺乳动物 C_3 和 C_5 结构和功能上相似的补体[Nonaka 等 1981、1984b, Koppenheffer 1987],表明硬骨鱼类的补体系统基本上和高等脊椎动物相似。

近来,有些研究已证实上述部分物质的分子结构,如补体成分和溶菌酶的分子结构[Dautigny 等 1991, Tomlinson 等 1993]。一种鱼类干扰素的序列也已被证实,而且与已知的哺乳动物的干扰素极不相似[Tamai 等 1993]。这些物质中的部分分子存在遗传上的多态性[Roed 等 1993, Bjering Jensen 和 Koch 1991]。这些物质,如转移因子和补体的多态性与鱼类对疾病的抵抗力有很重要的关系[Slierendrecht 等 1993]。

3 吞噬细胞的作用

先天性的细胞反应在炎症反应中起着重要的作用,吞噬细胞受病原或宿主产生的趋化因子的作用而接近抗原。宿主产生的化学引诱因子包括补体成分和二十碳酸,如三烯酸和脂素[Secombes 和 Flechter 1992]。鱼类的粒细胞、巨噬细胞和单核细胞都具有吞噬功能。依据颗粒的染色特征,鱼类的粒细胞可分为嗜碱性、酸性和中性粒细胞[Ainsworth 1992]。但是,不是所有的鱼类都具有这三种粒细胞,如鲑鳟鱼类循环系统中只有中性细胞,但有的鲑鳟类,组织中的一种粒细胞可被曙红染色,并被称作嗜酸性粒细胞,是一种与哺乳动物肥大细胞相似的免疫细胞[Powell 等 1993]。在炎症反应中,通常表现为双相反应,即粒细胞先于巨噬细胞接近病原[Alexander 和 Ingram 1992]。

由于分离纯化巨噬细胞较容易,它们的吞噬或杀伤功能亦得到了充分的研究。鱼类的巨噬细胞具有杀伤细菌及寄生虫幼虫的作用[Chung 和 Secombes 1987, Whyte 等 1989]。对于灭鲑产气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*),这种杀伤能力取决于吞噬作用引起的对这种细菌的吞入以及氧化物的产生[Sharp 和 Secombes 1993]。氧化物的产生受制于一种结合在细胞膜上的与哺乳动物吞噬细胞 NADPH 氧化酶相似的酶[Secombes 等 1992],这种酶可引起分子氧的减少,并诱生 O_2^- ,而超氧化物可转化为多种更强的杀伤细菌的氧化物,包括过氧化氢、受激单重态氧、羟基。已经证实,鱼类的白细胞可产生所有这些氧化物[Secombes 和 Fletcher 1992]。此外,过氧化氢可和存在于粒细胞的过氧化酶相互作用产生具有很强的杀细菌能力的低价盐(如次氯酸盐)和氯胺[Kanner 和 Kinsella 1983]。

除分泌上述各种氧化物外,吞噬细胞还分泌多种其他的在免疫学上很重要的分子,主要有细胞因子和二十碳酸。鱼类的巨噬细胞或单核细胞可释放与哺乳动物的 I- II 型白细胞间素和转移因子相似的物质[Clem 等 1991]。二十碳酸是一类源于膜磷脂的脂质介体,通过磷脂酶及环氧合酶的作用产生前列腺素和凝血恶烷,或通过脂质氧合酶的作用产生三烯酸和脂素[Secombes 1994]。鱼类的白细胞受适当的刺激后,可产生前列腺素、凝血恶烷和三烯酸[Rowley 1991];巨噬细胞可以合作脂素[Pettitt 等 1991]。鱼类巨噬细胞产生的脂素,完全是通过内源的脂肪酸,且与哺乳动物相反,鱼类的巨噬细胞产生较多的脂素,而不是三烯酸[Sharp 等 1992],然而,脂素是一类比三烯酸更强的鱼类的白细胞趋化因子[Sharp 等 1992]。

鱼类的先天性防御机制受多种因素的影响。在提高鱼类健康水平、增强先天性的抵抗能力方面无疑具有重大的意义。已有的免疫增强剂,主要是灭活的细菌及细菌多肽[Anderson 1992, Sakai 等 1992]、左旋咪唑[Anderson 1992]、几丁质[Sakai 等 1992]、鸡蛋产物[Yoshida 等 1993]、葡聚糖[Engstad 等 1992, Jorgensen 等 1993] 以及一些维生素[Blazer 1992]和激素[Kajita 等 1992]。这些免疫增强剂的作用与鱼类抵抗病原的能力

有密切的关系[Anderson 1992, Kajita 等 1992], 而且它们作为疫苗的佐剂已经显示出良好的应用前景 [Rorstad 等 1993]。

4 非特异性的细胞毒性细胞

非特异性的细胞毒性细胞是一类与哺乳动物的自然杀伤细胞相等的免疫细胞[Greenlee 等 1991]。这类细胞在细胞与细胞接触之后, 通过坏死或主动死亡可以溶解靶细胞[Greenlee 等 1991]。肾脏[Evans 和 Jaso Friedmann 1992] 和腹腔[Seeley 和 Weeks Perkins 1993] 中的这类细胞最多, 血中较少[Evans 和 McKinney 1991, Evans 和 Jaso Friedmann 1992], 鱼类的这类细胞与哺乳动物的自然杀伤细胞相比, 小且无颗粒[Evans 和 Jaso Friedmann 1992]。这类细胞的靶物包括肿瘤细胞系、寄生原生动物。

5 T 细胞和 B 细胞

T 细胞和 B 细胞是两种淋巴细胞亚群。T 细胞具有直接杀伤细胞的作用以及通过分泌细胞因子调节免疫反应的作用, B 细胞分泌抗体且在细胞表面有抗体存在。发现鱼类具有这两种淋巴细胞的功能已有多, 然而只是近几年来才利用抗 IgM 单克隆抗体明确地证明硬骨鱼类具有独立的淋巴细胞种群, 即相对于哺乳动物的 T 和 B 细胞[Graham 和 Secombes 1990, Clem 等 1991], 利用单克隆抗体可以区分细胞表面抗体阳性或阴性的淋巴细胞及其生物活性。然而到目前为止, 还没有能用来区分 T 细胞的单克隆抗体。Miller 等 [1987] 研究出的单抗可与一种鲑鱼的 T 细胞发生反应, 但它同时又与中性粒细胞和凝血细胞发生交叉反应。鱼类的胸腺依赖性即 T 淋巴细胞的存在尚需更进一步的研究证实, 但毫无疑问, 鱼类至少具有功能性的 T 和 B 淋巴细胞。

硬骨鱼类产生单一族的 IgM 与哺乳动物的 IgM 一样, 鱼类的 IgM 由重链和轻链组成。鱼类血液中 IgM 的相对水平较哺乳动物的高。鱼类的 IgM 还存在于皮肤、肠粘液、胆汁和卵[Wilson 和 Warr 1992, Hayman 和 Lobb 1993]。但粘液是鱼类免疫系统的一个重要组成部分, 是免疫接种的基础[Manning 1994], 尽管血清抗体和粘液抗体在性质上有所不同[Rombout 等 1993]。鱼类的抗体产生细胞不仅存在于肾脏和脾脏, 而且分布于肠道、心脏和血液[Secombes 等 1991, Davidson 等 1993]。

对于非胸腺依赖性的抗原, B 细胞的激活需要吞噬细胞的帮助; 对于胸腺依赖性的抗原, 即需要吞噬细胞也需要 T 细胞的帮助。此外, B 细胞本身亦可以作为抗原的传递细胞[Vallejo 等 1992], 还具有记忆的功能[Kaattari 1992]。细胞增生试验和鳞片及皮肤移植试验已证实鱼类具有与哺乳动物的 T 细胞相似的淋巴细胞[Sizemore 等 1984, Stevenson 和 Raymond 1990]。鱼类的 T 细胞受温度的影响很大。低温条件下, 鱼类 T 细胞受有丝分裂素和异源细胞的刺激后并不增生; 同样低温可抑制 T 细胞的帮助功能[Bly 和 Clem 1992, Wilson 和 Warr 1992]。

参 考 文 献

- Ainsworth A J. 1992. Fish granulocytes: morphology, distribution and function. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 123~ 148.
- Alexander J B, Ingram G A. 1992. Noncellular nonspecific defence mechanisms of fish. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 249~ 279.
- Anderson D P. 1992. Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 281~ 307.
- Bjering-Jensen L, Koch C. 1991. Genetic polymorphism of complement C₃ of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) complement. *Fish Shellfish Immunol*, 1: 237~ 242.
- Blazer V S. 1992. Nutrition and disease resistance in fish. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 309~ 323.
- Bly J E, Clem L W. 1992. Temperature and teleost immune functions. *Fish Shellfish Immunol*, 2: 159~ 171.
- Chlmonczyk S. 1992. The thymus in fish: development and possible function in the immune response. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 181~ 200.

- Chung S, Secombes C J. 1987. Activation of rainbow trout macrophages. *J Fish Biol*, 31A: 51~ 56.
- Clem L W, et al. 1991. Evolution of lymphocyte subpopulations, their interactions and temperature sensitivities. In: Warr G W, Cohen N, ed. *Phylogenesis of Immune Functions*. Boca Raton, Florida. CRC Press. 191~ 214.
- Dautingny A, et al. 1991. cDNA and amino acid sequences of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) lysozymes and their implications for the evolution of lysozyme and lactalbumin. *J Mol Evolution*, 32: 187~ 198.
- Davidson G A, et al. 1993. Route of immunization influences the generation of antibody secreting cells in the gut of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Dev Comp Immunol*, 17: 373~ 376.
- Dorson M, et al. 1992. Interferon synthesis in rainbow trout fry following infection with infectious pancreatic necrosis virus. *Fish Shellfish Immunol*, 2: 311~ 313.
- Engstad R E, et al. 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. *Fish Shellfish Immunol*, 2: 287~ 297.
- Evans D L, Jaso-Friedmann L. 1992. Nonspecific cytotoxic cells as effectors of immunity in fish. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 109~ 121.
- Evans D L, McKinney E C. 1991. Phylogeny of cytotoxic cells. In: Warr G W, Cohen N, ed. *Phylogenesis of immune functions*. Boca Raton, Florida. CRC Press. 215~ 239.
- Graham S, Secombes C J. 1990. Cellular requirements for lymphokine secretion by rainbow trout *Salmo gairdneri* leucocytes. *Dev Comp Immunol*, 14: 59~ 68.
- Greenlee A R, et al. 1991. Nonspecific cytotoxic cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kill YAC-1 targets by both necrotic and apoptic mechanisms. *Dev Comp Immunol*, 15: 153~ 164.
- Hart S, et al. 1988. Gut immunology in fish: a review. *Dev Comp Immunol*, 12: 453~ 480.
- Hayman J R, Lobb C J. 1993. Immunoglobulin in the eggs of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Dev Comp Immunol*, 17: 241~ 248.
- Jorgensen J B, et al. 1993. Effect of a yeast cell wall glucan on the bactericidal activity of rainbow trout macrophages. *Fish Shellfish Immunol*, 3: 267~ 277.
- Kaattari S L. 1992. Fish B lymphocytes: defining their form and function. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 161~ 180.
- Kajita Y, et al. 1992. Enhancement of non-specific cytotoxic activity of leucocytes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* injected with growth hormone. *Fish Shellfish Immunol*, 2: 155~ 157.
- Kanner J, Kinsella J E. 1983. Lipid deterioration initiated by phagocytic cells in muscle foods: carotene destruction by a myeloperoxidase hydrogen peroxide halide system. *J Agr Food Chem*, 31: 370~ 376.
- Koppenheffer T L. 1987. Serum complement systems of ectothermic vertebrates. *Dev Comp Immunol*, 11: 279~ 286.
- Manning M J. 1994. Fishes. In: Turner R J, ed. *Immunology: A Comparative Approach*. John Wiley & Sons Ltd, Britain. 69~ 100.
- Mansoon F D C, et al. 1992. Localisation of chitinolytic enzymes in blood of turbot, *Scophthalmus maximus*, and their possible roles in defence. *J Fish Biol*, 40: 919~ 927.
- Miller N W, et al. 1987. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: identification and separation of functionally distinct subpopulations of channel catfish lymphocytes with monoclonal antibodies. *Dev Comp Immunol*, 14: 49~ 58.
- Nonaka M, et al. 1981. The complement system of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). 1. Identification of the serum lytic system homologous to mammalian complement. *J Immunol*, 126: 1489 ~ 1494.
- Nonaka M, et al. 1984a. Purification of a lamprey complement protein homologous to the third component of the mammalian complement system. *J Immunol*, 133: 3242~ 3249.
- Nonaka M, et al. 1984b. Purification of a major serum protein of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), homologous to the third component of mammalian complement. *J Biol Chem*, 259: 6327~ 6333.
- Pettitt T R, et al. 1991. Synthesis of lipoxins and other lipoxygenase products from the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Biol Chem*, 266: 8720~ 8726.
- Pinto R M, et al. 1993. Interferon-like activity in sea bass affected by viral erythrocytic infection. *Fish Shellfish Immunol*, 3: 89

- Powell M D, et al. 1993. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) intestinal eosinophilic granule cell (EGC) response to *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio anguillarum* extracellular products. *Fish Shellfish Immunol*, 3: 279~ 289.
- Roed K H, et al. 1993. Genetic variation in lysozyme activity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 109: 237~ 244.
- Rombout J H W M, et al. 1993. Differences in mucus and serum immunoglobulin of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Dev Comp Immunol*, 17: 309~ 317.
- Rorstad G, et al. 1993. Adjuvant effect of a yeast glucan in vaccines against furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Shellfish Immunol*, 3: 179~ 190.
- Rowley A F. 1991. Eicosanoids: aspects of their structure, function and evolution. In: Warr G W, Cohen N, ed. *Phylogeneses of Immune Functions* edited. CRC Press, Boca Raton, Florida. 269~ 294
- Rowley A F, et al. 1988. Fish. In: Rowley A F, Ratz N A, ed. *Liffe Vertebrate Blood Cells*. Cambridge University Press, Cambridge. 19~ 127.
- Sakai M, et al. 1992. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. in Asian Aquaculture*, 1: 413~ 417.
- Secombes C J. 1994. Cellular defences of fish: an update. In: Pike A W, Lewis J W, ed. *Parasitic Diseases of Fish* Samara Publishing Limited, Dyfed, Great Britain. 209~ 224.
- Secombes C J, Fletcher T C. 1992. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 53~ 71.
- Secombes C J, et al. 1991. The development of an ELISPOT assay to quantify total and specific antibody secreting cells in dab *Limanda limanda* (L.). *Fish Shellfish Immunol*, 1: 87~ 97.
- Secombes C J, et al. 1992. NADPH oxidase like activity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) macrophages. *Dev Comp Immunol*, 16: 405~ 413.
- Seeley K R, Weeks Perkins B A. 1993. Preliminary characterisation of the non-specific cytotoxic cells of the oyster toadfish (*Opsanus tau*, L.). *Fish Shellfish Immunol*, 3: 131~ 141.
- Sharp G J E, Secombes C J. 1992. Observations on the killing of *Aeromonas salmonicida* by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) macrophages. *Dis. in Asian Aquaculture*, 1: 379~ 389.
- Sharp G J E, Secombes C J. 1993. The role of reactive oxygen species in the killing of the bacterial fish pathogen *Aeromonas salmonicida* by rainbow trout macrophages. *Fish Shellfish Immunol*, 3: 119~ 129.
- Sharp G J E, et al. 1992. Lipoxin induced migration of fish leucocytes. *J Leuk Biol*, 51: 140~ 145.
- Sizemore R G, et al. 1984. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: the cellular requirements for in vitro mitogenic responses of channel catfish leukocytes. *J Immunol*, 133: 2920~ 2924.
- Slierendrecht W J, et al. 1993. Genetic polymorphism of complement component C₃ in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and resistance to viral haemorrhagic septicemia. *Fish Shellfish Immunol*, 3: 199~ 206.
- Stevenson R M W, Raymond B. 1990. Delayed type hypersensitivity skin reactions. In: Stolen J S, et al. ed. *Techniques in Fish Immunology* I. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey. 173~ 178.
- Tamai T, et al. 1993. Cloning and expression of flatfish (*Paralichthys livaceus*) interferon cDNA. *Biochim et Biophys. Acta*, 1174: 182~ 186.
- Tomlinson S, et al. 1993. Domain structure, functional activity, and polymerization of trout complement protein C₉. *Dev Comp Immunol*, 17: 67~ 76.
- Vallejo A N, et al. 1992. Antigen processing and presentation in teleost immune responses. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 73~ 89.
- Whyte S K, et al. 1989. Cytotoxic reactions of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, macrophages for larvae of the eye fluke *Diplostomum spathaceum* (Digenea). *J Fish Biol*, 35: 333~ 345.
- Wilson M R, Warr G W. 1992. Fish Immunoglobulins and the genes that encode them. *Annu Rev Fish Dis*, 2: 201~ 221.
- Yoshida T, et al. 1993. Immunomodulatory effects of the fermented products of chicken egg, EF203, on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 109: 207~ 214.