

文章编号:1000 - 0615(2006)02 - 0230 - 06

多糖和益生菌对暗纹东方鲀免疫功能的调节

华雪铭¹, 周洪琪¹, 张冬青², 李宁丽², 余奇文², 沈佰华²

(1. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090;

2. 上海第二医科大学, 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要:为了研究多糖、益生菌等免疫增强剂对暗纹东方鲀的免疫调节作用, 本试验随机将暗纹东方鲀 [(167.8 ± 24.4) g] 分为 6 组。其中阳性对照组为免疫功能低下组, 投喂基础饲料、注射 8 mg · kg⁻¹ 体重的环磷酰胺; 阴性对照组为免疫功能正常组, 投喂基础饲料、注射生理盐水; 其余试验组分别用含有 0.2% 壳聚糖、0.1% 益生菌、甘露聚糖与益生菌混合物、壳聚糖与益生菌混合物的饲料连续投喂 30 d, 同时注射 8 mg · kg⁻¹ 体重的环磷酰胺。测定各组暗纹东方鲀的外周血白细胞数量及吞噬活性、肝胰脏溶菌酶活性、头肾与脾脏淋巴细胞转化、头肾与脾脏 IFN- 含量、头肾与脾脏 IgM 含量进行免疫功能的比较。结果表明, 多糖和益生菌对免疫功能低下的暗纹东方鲀具有免疫调节作用。所检测的各项免疫指标均有不同程度的恢复, 或处于免疫功能正常与环磷酰胺所致免疫抑制水平之间, 或恢复至正常水平或超过正常水平。不同免疫增强剂对同一种免疫器官、免疫细胞或免疫分子的调节作用或同一种免疫增强剂对不同的免疫器官或免疫细胞或免疫分子的调节作用均存在差异。从整体效果看, 在所研究的 4 种免疫增强剂中, 甘露聚糖与益生菌混合物的免疫调节作用最弱。

关键词:暗纹东方鲀; 多糖; 益生菌; 免疫调节

中图分类号: S963 **文献标识码:** A

Immunoregulation of polysaccharide and probiotics on *Fugu obscurus*

HUA Xue-ming¹, ZHOU Hong-qi¹, ZHANG Dong-qing², LI Ning-li², YU Qi-wen², SHEN Bai-hua²

(1. College of Aquaculture Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Shanghai Second Medical University, Shanghai Institute of Immunology, Shanghai 200025, China)

Abstract: In order to study immunoregulation role of dietary polysaccharide and probiotics, the fish *Fugu obscurus* weighing (167.8 ± 24.4) g were randomly divided into 6 groups. The immunosuppression control group (positive control) was given an intraperitoneal dose of 8 mg · kg⁻¹ body weight cyclophosphamide (Cy) every 5 days for three times and fed on the basal diet, and the normal control group (negative control) was injected with 0.9% NaCl solution and fed on the basal diet according to the same procedure. The other 4 groups were intraperitoneally injected of 8 mg · kg⁻¹ body weight Cy every 5 days for three times and fed on basal diets supplemented 0.2% chitosan, 0.1% probiotics, mixture of mannan oligosaccharide and probiotics, mixture of chitosan and probiotics for 30 d respectively. The number of white cells in peripheral blood, phagocytic percentage of the peripheral blood leucocytes, activity of lysozyme in hepatopancreas, proliferation responses of T and B lymphocytes from spleen and head kidney stimulated by PHA and LPS, IgM and IFN- content from supernatants generated from spleen and head kidney cultivated *in vitro* were determined. The dose of 8 mg · kg⁻¹ body weight Cy depressed the non-specific immunity of the fish, and all the above four immunoenhancers had potential immunomodulating role on the immunodepressed fish. During the period of test, every immunity parameter examined could return to the level between depressed level and normal level or to the normal level, even exceeding the normal level. It seemed likely that

收稿日期: 2005-09-01

资助项目: 上海市科委重点攻关项目 (013212101); 上海市自然科学基金 (00ZC14054)

作者简介: 华雪铭 (1974 -), 女, 浙江慈溪人, 讲师, 博士, 主要从事水产动物营养与饲料学研究。Tel: 021 - 65710025, E-mail: xmhua@shfu.edu.cn

通讯作者: 周洪琪, Tel: 021 - 65710017, E-mail: hqzhou@shfu.edu.cn

different immunoenhancers may have different ways in stimulating immune organs, immune cells or immune molecules, and same immunoenhancer may also have different effects upon different immune organs, different immune cells and immune molecules. Nevertheless, according to the overall effect, the mixture of mannan oligosaccharide had the least immunomodulatory effect among the four immunoenhancers.

Key words: *Fugu obscurus*; polysaccharide; probiotics; immunoregulation

高等动物在长期的种族进化过程中,产生了复杂而逐步完善的免疫系统,由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成的免疫网络系统,产生较为精密而协调的免疫应答,以保证机体免疫环境的相对稳定。当免疫功能失衡时,因免疫功能紊乱而导致疾病的发生,而应用不同的免疫调节剂治疗是临床实践中不可缺少的手段之一。研究发现,机体发生免疫功能缺损或低下时,应用免疫增强剂,能使免疫功能重建,达到机体的免疫平衡和恢复机体的正常生理功能。鱼类是最低等的脊椎动物,虽然没有象高等脊椎动物一样完善的免疫系统,但作为一个机体,维持正常的免疫功能,也是鱼类正常生长、生活、抵御外界不良环境的重要前提和保证。迄今为止,国内外学者已发现多种免疫增强剂对免疫功能正常的鱼虾具有提高免疫水平的作用,包括增强吞噬细胞的功能,提高它们的杀菌能力;刺激补体、溶酶体和抗体反应,进而提高动物对细菌性病原体的抵抗力^[1]。但是如果免疫水平过高,反而对机体产生不利的影响。所以免疫增强剂更适用于免疫功能低下动物,尤其是对鱼类,其作用更在于增强免疫功能的正向调节。本实验以环磷酰胺诱导的免疫功能低下的暗纹东方鲀为研究对象,系统观察多糖和益生菌对免疫抑制的暗纹东方鲀免疫功能的影响,探讨多糖和益生菌对试验鱼免疫功能的调节作用。

1 材料与方法

1.1 材料

试验鱼 暗纹东方鲀 (*Fugu obscurus*) 购于上海水产研究所,体重为 (167.8 ± 24.4) g。

饲料添加剂 益生菌由枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 等 3 种芽孢杆菌混合而成,由复旦大学遗传研究所分离并发酵生产;壳聚糖由上海水产大学食品学院提供;甘露聚糖购于上海市联合食品添加剂公司。

环磷酰胺 (cyclophosphamide, Cy), 三健牌,上海华联制药有限公司生产,批号,011001;沪卫药

准字(1995)第 012034 号。

1.2 试验设计

将 60 尾暗纹东方鲀用基础饲料驯养至正常摄食后随机分成 6 组。正常对照组(阴性对照):第 1~30 天投喂基础饲料,并从第 15 天开始腹腔注射 2.5 mL · kg⁻¹体重的生理盐水,每 5 d 注射 1 次,连续 3 次;环磷酰胺组(阳性对照):第 1~30 天投喂基础饲料,从第 15 天开始腹腔注射 2.5 mL · kg⁻¹体重的环磷酰胺,剂量为 8 mL · kg⁻¹体重,每 5 天注射 1 次,连续 3 次;试验组则在第 1~30 天投喂免疫增强剂,并从第 15 天注射环磷酰胺,注射方法同环磷酰胺组。免疫增强剂共有 4 种,分别为 0.2% 壳聚糖(简称“壳”)、0.1% 益生菌(简称“菌”)、甘露聚糖与益生菌混合物(简称“甘+菌”)、壳聚糖与益生菌混合物(简称“壳+菌”)。各组均在第 30 天时取样测定。

1.3 测定方法

外周血免疫细胞的计数 取血 10 μL,放入 1.5 mL 离心管中,加入 90 μL 染色液后立刻混匀,显微镜下观察计数白细胞。

外周血白细胞吞噬活性 取 100 μL 全血抗凝后滴加 20 μL 白色葡萄球菌 (30 × 10⁸ CFU · mL⁻¹, 37 °C 24 h 培养后煮沸 10 min 杀死细菌,用无菌生理盐水稀释而成),混匀后 26 °C 共同孵育 30 min,取最表层血液 1 滴,推片,自然干燥后,瑞氏染色,干燥后镜检。

吞噬率 (%) = 100 个白细胞中吞噬细菌的白细胞数 / 100 × 100

肝胰脏溶菌酶活性 称取肝胰脏,用 0.1 mol L⁻¹、pH 6.4 的磷酸缓冲液以 5 倍体积稀释匀浆,1 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液备用。每组至少 6 个样本。

测定 将溶壁微球菌 (*Micrococcus lysodeikticus*) 在 37 °C 条件下培养 24 h 后,用上述缓冲液稀释至波长为 570 nm 时吸光度为 0.3 的菌悬液。将 10 mL 菌悬液与 0.01 mL 肝脏细胞悬液充分混合,测定反应开始时 570 nm 波长下的吸

光度 A_0 , 37 °C 水浴 30 min, 取出后冰浴 10 min 以终止反应, 再测定此条件下的吸光度 A , 溶菌酶活性 $U = (A_0 - A) / A^{[2]}$ 。

淋巴细胞转化能力的测定 采用同位素法。无菌条件下取脾脏和头肾, 放入 RPMI1640 培养液中, 用棉杆将脾脏和头肾挤压过 200 目不锈钢网筛后, $4\ 000\ r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min, 沉淀细胞悬于 RPMI1640 培养液中, 用 Ficoll 液 (比重为 $1.082\ g \cdot mL^{-1}$) 分离淋巴细胞^[3], 并调整至细胞浓度为 $1 \times 10^5\ cell \cdot mL^{-1}$, 然后将它接种于 96 孔圆底板, 每孔 100 μL , 再加 100 μL 的刺激原 PHA ($10\ \mu g \cdot mL^{-1}$) 或 LPS ($20\ \mu g \cdot mL^{-1}$), 在 5% CO₂ 培养箱中 29 °C 培养, PHA 组培养 72 h, LPS 组培养 120 h, 培养终止前 16 h 加入 ³H-TdR。收集细胞, 纤维滤纸法制备样品, 并测定每分钟脉冲数 (cpm), 以刺激指数 (stimulation index, SI) 表示 T、B 淋巴细胞的转化能力^[4]。

$SI = \text{添加刺激原组 cpm} / \text{未添加刺激原组 cpm}$

头肾和脾脏 IFN- γ 测定 头肾和脾脏细胞经 LPS 刺激培养 120 h 后, 上清液中的 IFN- γ 含量采用 IFN- γ ELISA 试剂盒 (由上海茂元生物试剂公司生产) 提供的 ABC-HRP 方法测定。

头肾和脾脏 IgM 测定 头肾和脾脏细胞经 LPS 刺激培养 120 h 后, 上清液中的免疫球蛋白 IgM 用上海市免疫学研究所提供的抗 IgM 抗体, ELISA 方法测定, 并于 490 nm 处测定吸光值。根据标准曲线求得相应的 IgM 值。

1.4 数据统计

所有数据用 Statistica 软件处理, 进行 ANOVA 方差分析和 Duncan 氏多重比较。

2 结果

2.1 多糖和益生菌对外周血白细胞数量的影响

正常对照组暗纹东方鲀的外周血白细胞数量为每毫升 10.3×10^4 , 使用环磷酰胺可以使外周血白细胞数量明显下降 ($P < 0.05$)。免疫增强剂对因环磷酰胺所致白细胞数量减少的试验鱼具有促进其白细胞恢复的作用。如暗纹东方鲀摄入含有 0.2% 壳聚糖或 0.1% 益生菌或壳聚糖与益生菌混合物的饲料 30 d, 其白细胞数量明显上升, 有的高于环磷酰胺组 ($P < 0.05$), 有的恢复至正常水平甚至超出正常值 ($P < 0.05$)。然而用含有甘露

聚糖与益生菌混合物的饲料喂养暗纹东方鲀 30 d, 没有出现白细胞数量的恢复。白细胞数量的恢复率分别为 112.6%、95.2% 和 91.3% (表 1)。

2.2 多糖和益生菌对外周血白细胞吞噬作用的影响

正常对照组暗纹东方鲀的外周血白细胞吞噬率为 15.6%。环磷酰胺组的吞噬率明显低于正常对照组 ($P < 0.05$)。摄食含 0.2% 壳聚糖的饲料 30 d, 能使吞噬率恢复正常。摄食其余三种免疫增强剂 (0.1% 益生菌、壳聚糖与益生菌混合、甘露聚糖与益生菌混合), 吞噬率水平均超过正常对照组 ($P < 0.05$), 恢复率分别为 97.4%、121.8%、126.9% 和 126.3%。

2.3 多糖和益生菌对肝胰脏溶菌酶活性的影响

正常对照组暗纹东方鲀的肝胰脏溶菌酶活性为 0.0752 U。环磷酰胺使肝胰脏溶菌酶活性显著降低 ($P < 0.05$)。摄食含有 0.2% 壳聚糖的饲料 30 d, 肝胰脏溶菌酶活性虽有上调, 但是与阳性对照组无显著差异。0.1% 益生菌组、壳聚糖与益生菌混合组、甘露聚糖与益生菌混合组均能显著上调由环磷酰胺所抑制的肝胰脏溶菌酶活性 ($P < 0.05$)。各组的肝胰脏溶菌酶活性恢复率分别为 52.1%、88.2%、78.2% 和 61.3%。

2.4 多糖和益生菌对脾脏与头肾淋巴细胞转化能力的影响

正常对照组暗纹东方鲀脾脏 T、B 淋巴细胞刺激指数分别为 2.78 和 2.80。环磷酰胺使脾脏 T 淋巴细胞刺激指数降低 ($P < 0.05$), 各试验组都能不同程度缓解环磷酰胺对脾脏 T 淋巴细胞转化的抑制作用, 使 T 淋巴细胞转化能力有不同程度的恢复 ($P < 0.05$), 尤其是 0.2% 壳聚糖、甘露聚糖与益生菌混合组能使刺激指数回升到正常对照组水平。

环磷酰胺使脾脏 B 淋巴细胞刺激指数降低 ($P < 0.05$), 各试验组也能不同程度缓解环磷酰胺对脾脏 B 淋巴细胞转化的抑制作用: 0.2% 壳聚糖使 B 淋巴细胞转化能力恢复至正常; 0.1% 益生菌使 B 淋巴细胞转化能力提高, 但是与阳性对照组无显著差异 ($P > 0.05$); 壳聚糖与益生菌或甘露聚糖与益生菌混合添加使 B 淋巴细胞转化能力超过正常对照组水平 ($P < 0.05$)。

正常对照组头肾 T、B 淋巴细胞刺激指数分别为 4.93 和 4.43。环磷酰胺使头肾 T 淋巴细胞

刺激指数降低 ($P < 0.05$), 摄入含 0.1% 益生菌或 0.2% 壳聚糖或壳聚糖与益生菌混合物或甘露聚糖与益生菌混合物饲料 30 d, 头肾 T 淋巴细胞刺激指数增大, 且显著高于环磷酰胺组, 低于正常水平组 ($P < 0.05$), 恢复率分别为 66.5%、57.8%、51.3% 和 62.3%。环磷酰胺也使头肾 B 淋巴细

胞刺激指数降低 ($P < 0.05$), 暗纹东方鲀摄入含 0.1% 益生菌或 0.2% 壳聚糖或壳聚糖与益生菌混合物饲料 30 d, 头肾 B 淋巴细胞刺激指数增大, 且显著高于环磷酰胺组 ($P < 0.05$), 恢复率分别为 102.0%、76.1% 和 78.3%。甘露聚糖与益生菌混合物组不能上调头肾 B 淋巴细胞转化能力。

表 1 暗纹东方鲀摄取各种饲料后免疫指标的变化

Tab. 1 Changes of immune indices of Fugu obscurus fed with different diets

mean \pm SD

组别 group	白细胞数量 ($10^4 \cdot \text{mm}^{-3}$) number of peripheral blood leucocytes	吞噬率 (%) phagocytic percentage	肝溶菌酶 (U) lysozyme in hepatopancreas	脾 T 淋转 (SI) proliferation responses of T lymphocytes from spleen	脾 B 淋转 (SI) proliferation responses of B lymphocytes from spleen
壳 chitosan	11.6 \pm 0.9 a	15.2 \pm 1.0 b	0.0392 \pm 0.0057 de	2.73 \pm 0.33 a	2.55 \pm 0.57 c
菌 probiotics	9.8 \pm 0.4 b	19.0 \pm 3.6 a	0.0663 \pm 0.0162 ab	1.52 \pm 0.32 b	1.65 \pm 0.44 cd
甘 + 菌 mannan oligosacchar- ide and probiotics	7.1 \pm 0.6 c	19.7 \pm 2.6 a	0.0461 \pm 0.0136 cd	3.01 \pm 1.04 a	6.47 \pm 2.70 a
壳 + 菌 chitosan and probiotic	9.4 \pm 1.5 b	19.8 \pm 3.5 a	0.0588 \pm 0.0109 bc	1.47 \pm 0.43 b	4.86 \pm 1.09 b
正常对照 normal control group	10.3 \pm 1.1 b	15.6 \pm 1.8 b	0.0752 \pm 0.0186 a	2.78 \pm 0.39 a	2.80 \pm 0.55 c
环磷酰胺 cyclophosphamide	7.5 \pm 1.6 c	8.3 \pm 1.8 c	0.0273 \pm 0.0085 e	0.92 \pm 0.19 c	0.65 \pm 0.49 d

组别 group	肾 T 淋转 (SI) proliferation responses of T lymphocytes from kidney	肾 B 淋转 (SI) proliferation responses of B lymphocytes from kidney	脾 IFN- ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) IFN- content from spleen	头肾 IFN- ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) IFN- content from kidney	脾 IgM ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) IgM content from spleen	头肾 IgM ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) IgM content from kidney
壳 chitosan	2.85 \pm 0.79 b	3.37 \pm 0.18 b	53.9 \pm 5.2 b	41.7 \pm 13.4 a	363.2 \pm 60.3 b	281.0 \pm 40.3 a
菌 probiotics	3.28 \pm 1.13 b	4.52 \pm 1.47 a	58.4 \pm 5.3 b	38.0 \pm 8.7 a	658.2 \pm 78.7 a	294.5 \pm 78.3 a
甘 + 菌 mannan oligosacchar- ide and probiotics	3.07 \pm 0.86 b	1.58 \pm 0.40 c	38.6 \pm 5.1 c	24.1 \pm 6.6 b	257.0 \pm 53.2 c	236.7 \pm 45.6 a
壳 + 菌 chitosan and probiotic	2.53 \pm 0.39 b	3.47 \pm 0.95 b	53.4 \pm 6.9 b	23.8 \pm 5.6 b	410.3 \pm 60.4 b	229.8 \pm 16.8 a
正常对照 normal control group	4.93 \pm 1.28 a	4.43 \pm 1.08 a	85.4 \pm 6.5 a	38.5 \pm 8.6 a	600.0 \pm 51.0 a	224.3 \pm 22.0 a
环磷酰胺 cyclophosphamide	1.79 \pm 0.51 c	1.46 \pm 0.34 c	40.8 \pm 5.7 c	26.8 \pm 4.4 b	239.0 \pm 35.5 c	183.3 \pm 23.1 b

注:表中同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Notes: means with a different letter indicate difference at $P < 0.05$

2.5 壳聚糖和益生菌对体外培养的头肾和脾脏淋巴细胞分泌 IFN- 的影响

正常对照组体外培养头肾淋巴细胞上清液中 IFN- 含量为 $38.5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。环磷酰胺使体外培养的头肾淋巴细胞上清液中 IFN- 的分泌量显著降低 ($P < 0.05$)。0.1% 益生菌或 0.2% 壳聚糖使 IFN- 含量在第 30 天时恢复到正常水平; 当益生菌与壳聚糖或益生菌与甘露聚糖混合使用时, 不能阻遏环磷酰胺的抑制作用, 也不能使 IFN- 分

泌量正向上调。

正常对照组体外培养的脾脏淋巴细胞上清液中 IFN- 含量为 $85.4 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 环磷酰胺使体外培养的脾脏淋巴细胞上清液中 IFN- 的分泌量显著降低 ($P < 0.05$)。益生菌与甘露聚糖混合添加不能阻遏环磷酰胺对 IFN- 分泌的抑制作用, 使 IFN- 的分泌正向上调; 0.1% 益生菌或 0.2% 壳聚糖或壳聚糖与益生菌混合组的脾脏 IFN- 分泌量显著高于环磷酰胺组 ($P < 0.05$), 恢复率分别

为 68.4%、63.1%和 62.5%。

2.6 多糖和益生菌对外培养头肾和脾脏淋巴细胞上清液中 IgM 含量的影响

正常对照组体外培养头肾淋巴细胞分泌的 IgM 为 $224.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 环磷酰胺明显抑制头肾淋巴细胞分泌 IgM ($P < 0.05$)。各试验组均可以使头肾 IgM 分泌量恢复正常。

正常对照组体外培养脾脏淋巴细胞分泌的 IgM 为 $600.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。环磷酰胺使脾脏淋巴细胞 IgM 的分泌量显著减少 ($P < 0.05$)。甘露聚糖与益生菌混合组不表现出对 IgM 分泌的正向调节作用。0.1% 益生菌、0.2% 壳聚糖以及壳聚糖与益生菌混合组使脾脏 IgM 分泌量有不同程度恢复 ($P < 0.05$), 恢复率分别为 109.7%、60.5% 和 68.4%。

3 讨论

白细胞降低是应用环磷酰胺后临床的重要参考指标^[5], 本试验以环磷酰胺作为诱导剂, 成功地抑制了暗纹东方鲀白细胞数量。白细胞减少症不仅表现为外周血白细胞数量的减少, 而且可因为白细胞功能异常伴发免疫功能下降^[6]。本试验发现, 环磷酰胺也能引起暗纹东方鲀外周血白细胞吞噬能力的下降、脾脏和头肾淋巴细胞转化能力下降, 并使得淋巴细胞分泌的免疫球蛋白 IgM 和淋巴因子 IFN- γ 含量降低, 即环磷酰胺可以成功诱导暗纹东方鲀免疫抑制模型^[7]。处于免疫抑制状态的暗纹东方鲀通过摄食含有壳聚糖或益生菌或壳聚糖与益生菌混合物或甘露聚糖与益生菌混合物的饲料, 其免疫功能的抑制得到了有效的改善, 如外周血白细胞数量、免疫细胞的增殖与分化(淋转), 干扰素的诱导、IgM 的分泌都有了不同程度的增加或增强, 从而使免疫重建成为可能。由此可见, 在免疫功能调节中壳聚糖、益生菌以及甘露聚糖发挥着重要作用。

研究发现, 免疫增强剂的种类影响暗纹东方鲀免疫调节的效果, 具体表现在两方面。

(1) 免疫增强剂所作用的免疫细胞和免疫因子。壳聚糖单独添加, 对所检测的免疫指标均有正向调节作用; 益生菌单独添加, 除对脾脏 B 淋巴细胞转化无正向调节作用外, 对其余所检测的免疫指标有正向调节作用; 壳聚糖单独添加, 除对肝胰脏溶菌酶活性无正向调节作用外, 对其余所

检测的免疫指标有正向调节作用; 甘露聚糖与益生菌混合物对脾脏和头肾 IFN- γ 、脾脏 IgM 分泌及头肾 B 淋巴细胞转化无影响; 壳聚糖与益生菌混合物除了对头肾 IFN- γ 分泌无影响外, 对其余所检测的免疫指标有正向调节作用。

(2) 免疫功能的恢复程度。在试验时间范围内所测定的各项免疫指标均有不同程度的上调, 而且大部分的免疫指标处于正常对照组水平与环磷酰胺抑制水平之间, 但也有一些恢复到正常对照组水平甚至超过正常水平。恢复到正常水平的有益生菌组的外周血白细胞数量、肝胰脏溶菌酶活性、头肾 B 淋巴细胞转化、头肾 IFN- γ 分泌量以及脾脏和头肾 IgM 分泌量; 壳聚糖组的外周血白细胞吞噬率、脾脏 T、B 淋巴细胞转化、头肾 IFN- γ 分泌量以及 IgM 分泌量; 甘露聚糖与益生菌混合物组的脾脏 T 淋巴细胞转化、头肾 IgM 分泌量; 壳聚糖与益生菌混合物组的外周血白细胞数量和头肾 IgM 分泌量。超出正常水平的主要是外周血白细胞的吞噬作用, 其次是甘露聚糖与益生菌混合物组以及壳聚糖与益生菌混合物组的脾脏 B 淋巴细胞转化。

由此可见, 不同免疫增强剂对同一种免疫器官、免疫细胞或免疫分子的调节作用或同一种免疫增强剂对不同的免疫器官、免疫细胞或免疫分子的免疫调节作用均存在着差异。从免疫调节作用的整体效果看, 在所研究的 4 种免疫增强剂中, 甘露聚糖与益生菌混合物的免疫调节作用最弱。因此, 使机体的免疫功能得到最大范围或最大程度的恢复是合理选择免疫增强剂必须考虑的因素之一。

免疫增强剂可通过多种途径激活鱼类免疫系统, 但究竟如何激发或启动免疫系统, 还不甚清楚。目前已证实大西洋鲑的巨噬细胞表面不仅存在识别人的 C3 活化片段 (C3b, iC3b) 的 C 受体^[8], 而且还存在着能特异性地识别 (1,3) - 葡聚糖的受体^[9]; 在鲶鱼嗜中性粒细胞中也证明存在酵母葡聚糖的 β -葡聚糖受体^[10], 因此, 多糖和益生菌由于在结构上有类似于病原体细菌多糖的分子^[11], 可能通过模式识别受体机制(由一系列模式识别受体对病原体进行识别)调节鱼体免疫功能。但是迄今为止, 对免疫增强剂调节作用的研究尚有许多有待进一步阐明之处, 而加强鱼类免疫系统结构、抗原诱导、激活免疫应答方式的研

究是了解水产饲料免疫增强剂调节作用机制和应用的前提,这在目前是一个新兴领域,有待深入研究。

尽管如此,根据本实验结果认为壳聚糖、益生菌、益生菌与壳聚糖混合物或甘露聚糖与益生菌混合物作为饲料添加剂具有调节鱼类免疫功能和免疫重建的作用,具有良好的开发应用前景。

参考文献:

- [1] Sakai M. Current research status of fish immunostimulants [J]. *Aquaculture*, 1999,172:63 - 92.
- [2] 王 雷,李光友,毛远兴,等.口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究[J]. *海洋与湖沼*,1994,25(5):486 - 491.
- [3] 李亚南,邵健忠,毛树坚.鱼类外周血淋巴细胞的分离技术[J]. *中国水产科学*,1999,6(4):10 - 12.
- [4] Reitan L J, Thuvander A. *In vitro* stimulation of salmonid leucocytes with mitogens and with *Aeromonas salmonicida* [J]. *Fish Shellf Immunol*, 1991,1:297 - 307.
- [5] 赵明宏,郭 涛,宋洪涛,等.川芎嗪对小鼠环磷酰胺损伤的保护作用[J]. *中国医院药学杂志*,2002,22(12):717 - 718.
- [6] 邓静修,刘 芳,李志强,等.地甘口服液对白细胞减少症模型小鼠白细胞数量和脾相关指标的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*,2003,9(1):24 - 26.
- [7] 华雪铭,周洪琪,余奇文,等.环磷酰胺和嗜水气单胞菌对暗纹东方鲀免疫抑制的研究[J]. *现代免疫学*,2004,24(6):494 - 498.
- [8] Johnson E, Smith P. Attachment and phagocytosis by salmon macrophages of agarose beads coated with human C3b and C3bi [J]. *Dev Comp Immunol*, 1984, 8:623 - 630.
- [9] Engstad R E, Robertsen B. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages [J]. *Dev Comp Immunol*, 1993,17:319 - 330.
- [10] Ainsworth A J. A α -glucan inhibitable zymosan receptor on channel catfish neutrophils [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1994, 41:141 - 152.
- [11] Anderson D P. Immuestimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture [J]. *Annual Review Fish Dis*, 1992,2:281 - 307.

会议预告

第二届亚洲网箱水产养殖国际大会

2006年7月3-8日第二届亚洲网箱水产养殖国际大会将在浙江杭州大学国际会议中心举行。本次大会主题为:“网箱水产养殖与海洋和水产渔业经济发展”。大会将围绕这一主题,就“海洋水产资源与网箱养殖及健康养殖;海洋与水产渔业经济及政府政策和管理”等进行广泛的学术交流与讨论。其主要内容为:

(1)网箱养殖的现状与发展趋势;(2)网箱设计、制造工艺与材料;(3)养殖品种选择;(4)营养、饲料与管理;(5)疾病预防与健康养殖;(6)养殖技术与养殖模式;(7)环境、生态与可持续性发展;(8)海洋与水产渔业经济和市场;(9)政府政策与管理等。

联系人:王 利,电话:0571 - 86971171, E-mail:paper-zju2006@yahoo.com.cn

徐海圣,电话:0571 - 86971834, E-mail:hsxu@zju.edu.cn

杨受保,电话:0571 - 86971171