

文章编号: 1000-0615(2019)01-0054-08

DOI: 10.11964/jfc.20180211173

· 综述 ·

鱼类树突状细胞研究进展

陈孝煊*, 李思思, 周成翀, 吴志新

(华中农业大学水产学院, 湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心,
淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心, 水产养殖国家级实验教学示范中心, 湖北 武汉 430070)

摘要: 树突状细胞(DCs)是目前已知的体内功能最强的抗原递呈细胞, 是唯一能够激活初始T淋巴细胞反应的细胞, 在先天性免疫、适应性免疫以及维持自身免疫耐受方面具有重要的作用, 因此一直是免疫学研究的重要领域。本文简要综述了DCs的类型及其在动物体内的功能、各类DCs的细胞标记。总结了鱼类DCs的分离、纯化方法和形态学观察方法; 现有研究表明, 鱼类DCs具有吞噬细菌、刺激T细胞增殖、诱导CD4⁺T细胞的活化、表达DCs的标记基因、被Toll样受体的配体激活、迁移能力、引起混合淋巴细胞反应等生物学功能; 不同鱼类DCs的分子标记并不完全一样; 鱼类的头肾、肾、鳃、皮肤、胸腺、脾、肠等均有DCs的分布。目前, 对鱼类DCs的研究虽然取得了一定进展, 但仍有许多重要问题需要解决: ①鱼类DCs目前缺乏明确的细胞标记, 加强这方面的研究有助于提高鱼类DCs的分离、体内分布与功能的研究水平; ②加强和完善鱼类DCs的分离、培养技术的研究, 掌握各种鱼类DCs的分离培养方法; ③加强鱼类DCs在抗原递呈中的功能研究, 对深入分析鱼类免疫机理, 合理设计和应用疫苗, 具有重要的理论指导意义。

关键词: 鱼类; 树突状细胞; 形态; 分布; 细胞标记; 功能

中图分类号: Q 26; S 917.4

文献标志码: A

1 DCs的发现与分类

1.1 DCs的发现

树突状细胞(dendritic cell, DCs)是目前已知的体内功能最强的抗原递呈细胞, 是唯一能够激活初始T淋巴细胞反应的细胞^[1-2]。据报道, 最早发现的一类DCs是朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LCs)。1868年, Paul Langerhans发现了人皮肤中一种常驻的树枝状形态的细胞并命名为LCs^[3]。LCs长期以来被误认为是一种神经细胞, 直到Steinman发现了一种独特的细胞类型并进行了后续的相关研究, 才确定LCs可作为定居在皮肤中的抗原递呈细胞^[4]。1973年, Steinman和Cohn在体外培养小鼠脾脏细胞时发现了一群形态呈树枝状的细胞, 并命名为DCs^[5]。后来Voohis在人外

周血液中亦发现这种细胞^[6]。20世纪90年代中期, DCs在免疫学中的重要性被逐渐认识。有研究认为, 小鼠淋巴器官DCs根据其是否表达CD8, 分为两个亚型, 具有不同的免疫功能^[7]。随后, 有研究在非淋巴组织中发现功能表型与淋巴组织中CD8⁺ DCs相同的细胞, 但不表达CD8, 而表达整合素CD103^[8]。此外, DCs家族还被发现有另一类特征类似于浆细胞的细胞群, 在病毒感染时, 会产生大量的干扰素- α (INF- α), 而且还能分化为经典的DCs, 以抗原特异性的方式活化初始型T细胞^[9]。

自从在人类和小鼠中发现了DCs并进行形态和功能的研究之后, 人们陆续在鸟类、爬行类、两栖类以及鱼类中发现DCs的存在, 这些细胞与哺乳动物DCs形态、分子标记及功能相同或

收稿日期: 2018-02-04 修回日期: 2018-03-20

资助项目: 国家自然科学基金(31672683)

通信作者: 陈孝煊, E-mail: chenxx@mail.hzau.edu.cn

相似^[10-14]。

1.2 DCs的分类及功能

DCs来源于造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC), 局部造血微环境对其发育起着重要的作用, 如FMS样酪氨酸激酶3配体(Flt3L)、粒巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、I型干扰素(INF- α)等细胞因子, 在这些不同细胞因子的刺激下, 逐步由HSC分化发育为不同种类的DCs并分布到身体的各部位^[15-17]。根据DCs的表型、功能及分化来源等有不同的分类方法。

根据成熟度划分 根据细胞成熟度, DCs可以分为未成熟DCs (immature DCs, imDCs)和成熟DCs (mature DCs, mDCs)两类。两种DCs的形态、细胞表面标记物和免疫学特性不同。稳态条件下, 体内绝大多数DCs处于未成熟状态, 未成熟DCs具有较强的抗原摄取及处理能力, 其细胞表面低表达CD40、CD80、CD86等共刺激分子和主要组织相容性复合体II类分子(MHC II), 不能有效递呈抗原来激活T淋巴细胞, 从而导致免疫耐受^[18]。未成熟DCs诱导免疫耐受的机制可能会激活T细胞凋亡、诱导T细胞免疫无能以及诱导调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)的产生等^[19], 因此未成熟DCs又被称为“耐受性DCs”(tolerogenic dendritic cells)。成熟DCs通过细胞表面的抗原肽/MHC分子复合物将抗原递呈给初始T细胞, 从而刺激初始T细胞分化为针对该种抗原的特异性细胞毒性T细胞, 促进其分化增殖而发挥免疫效应^[20], 调节Th1/Th2的发育, 在免疫监视中发挥重要的作用^[21]。因此, DCs的抗原摄取和传递功能在机体先天性免疫、适应性免疫和维持自身组织免疫耐受的过程中起着非常关键的作用^[22]。

根据分化来源途径划分 根据分化来源, DCs主要分为髓样DCs (myeloid DCs, mDCs)和浆细胞样DCs (plasmacytoid DCs, pDCs)^[1]。mDCs又称为传统DCs (conventional DCs, cDCs), cDCs按照T细胞分化的方向进一步分为诱导Th0向Th1分化的cDC1s和向Th2分化的cDC2s^[23]。DCs来源于骨髓HSC, 先分化为骨髓样和淋巴样前体细胞, 骨髓样前体细胞再分化为单核细胞、巨噬细胞和DCs前体细胞^[24-25]; DCs前体细胞进一步分化为单核细胞、少量的巨噬细胞和cDCs

前体细胞(CDP)^[26-27], 最后CDP再分化为DCs各亚类前体细胞, 例如cDC1s和cDC2s前体细胞^[28]。cDC1s在鼠中表型为CD8⁺CD103⁺, 在人体内表型为BDCsA3⁺(CD141⁺); cDC2s在鼠中表型为CD11b⁺CD4⁺CD8⁻, 在人体内表型为BDCA1⁺(CD1c⁺)^[23]。CD1c⁺mDCs高表达一些活化分子以及Toll样受体1~8(TLR1~8), 能够分泌多种细胞因子, 具有较强的摄取抗原的能力, 并且产生免疫应答^[29]。CD141⁺mDCs交叉递呈病毒抗原的能力比其他DCs亚群强, 研究者推测这可能与高表达C型凝集素9家族A成员(CLEC9A)有关, CLEC9A有利于病毒感染后坏死细胞抗原的处理^[30]。pDCs在鼠中表型为B220⁺mPDCA1⁺Siglec-h⁺, 在人体内表型为BDCA4⁺BDCA2⁺^[23]。pDCs可以通过表面的TLR7和TLR9识别病原体, 分泌大量的INF- α , 产生免疫应答^[31]。

根据细胞学和生化性质划分 根据细胞学特征和生化特性, DCs可分为常驻性DCs (resident DCs)和移动性DCs (migratory DCs)。常驻性DCs存在于次级淋巴器官中, 稳态下, 常驻性DCs呈现出未成熟DC的表型并且低表达一些共刺激分子。移动性DCs主要分布在不同的非淋巴组织, 该亚群DCs可进一步划分间质性DCs、LCs和外周血DCs等, 当其受到抗原刺激后移动性DCs能回到淋巴定居^[32-33]。其中, LCs主要分布于表皮和胃肠道上皮, 为未成熟DCs, 细胞质内含特征性结构——Birbeck颗粒。LCs另一特征性的标记是表达C型凝集素Langerin/CD207, 其他细胞标记包括上皮细胞黏附分子EpCAM、F4/80、E-cadherin、DEC205/CD205和CD11b^[34]。

2 DCs的标记

DCs是异质性很高的细胞类群, 由多种功能、活性迥异的亚群组成^[35]。DCs目前没有公认的、统一的特异性标记, 不同的细胞亚型都有其特异性的标记物。人类DCs特异性的标记为CD1a、CD11c和CD83。小鼠DCs相对特异性的标记为NLDCs145和33D1。Coventry等^[36]认为, CD1a主要表达于人胸腺细胞、DCs (包括LCs), 是鉴定人外周血与骨髓中DCs的最好标记。Prechtel等^[37]研究发现, CD83是DCs成熟的标记, 体外培养的DCs在早期不表达CD83分子, 当其成熟时才表达CD83分子, 成熟DCs摄取抗原的能力降低, 而

其激活T细胞的功能则增强。一些研究发现, cDCs都表达CD11c和MHCII, 但不同的亚型都有其特异性的标记^[38-39]。在脾脏和淋巴结中, cDC1s表达CD8 α 、CD24和XCR1, 而cDC2s表达CD4和Sirp α ^[40-41]。非淋巴组织中, cDCs均表达CD24, 区别于表达CD64的巨噬细胞^[42-44]。cDC1s表达CD103与XCR1, 而cDC2s表达CD11b与Sirp α 。Guilliams等^[45]发现一种简单的标记分类: cDCs (CD11C⁺MHC⁺CD26⁺CD64⁻F4/80⁻)、cDC1s (XCR⁺)以及cDC2s (Sirp α ⁺)。pDCs也表达CD11c和MHCII, 此外还表达B220、Siglec-H和Bst2^[46-47]。目前已发现的DCs膜表面分子主要有: ①吞噬相关受体, 包括Fc γ R、Fc ϵ R、TLR、补体受体、甘露糖受体; ②抗原递呈分子, 包括MHCI/II分子、CD1分子; ③共刺激分子, 包括CD80、CD86; ④黏附分子, 包括CD40、CD54、 β 1/ β 2整合素家族等; ⑤细胞因子受体, 包括粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子受体 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor receptor, GM-CSFR)、白介素-1受体 (interleukin-1 receptor, IL-1R)、IL-10R、IL-4R^[1]。

3 鱼类DCs

与哺乳动物相比, 鱼类的免疫器官缺乏骨髓和淋巴结, 但鱼类的多种器官(组织)中均发现有树突状细胞(或类树突状细胞)分布。已有研究表明, DCs在哺乳动物和鱼类中的功能和表型是保守的, 鱼类的DCs有经典DCs的形态和相似的功能; 不同鱼类DCs的分子标记也不尽相同。

3.1 鱼类DCs的分离与鉴定

鱼类DCs的分离与富集培养 对鱼类DCs的研究, 离不开DCs的分离培养技术, 目前有关学者采用的分离方法主要是机械法和酶消化法。Bassity等^[11]在对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) DCs的研究中, 即采用了这两种方法: ①机械法, 即虹鳟用过量的MS-222麻醉, 尾静脉采血后, 无菌条件下取头肾、脾脏、体肾的前部分置于L-15培养基中, 用无菌注射器的活塞碾压组织并用L-15培养基冲洗使组织中的细胞通过70 μ m的细胞筛获得单细胞悬液; 用L-15培养基调整活细胞数为 6×10^6 个/mL, 置于25 cm^2 或75 cm^2 培养瓶中, 室温培养7~30 d, 期间收集非贴壁细胞, 当细胞出现树突状的形态时, 用Nycoprep/One-

step monocytes (Accurate chemical, Westbury, NY)分离液进一步富集纯化得到类DCs细胞。从外周血分离DCs的方法则是从尾静脉取血用肝素处理后, 用含有肝素的磷酸盐缓冲液稀释4倍, 室温静置20 min, 将富含白细胞的血浆置于Nycoprep 1.077(Axis Shield, Oslo, Norway)分离液上, 离心后收集白细胞, 用L-15培养基重悬、调整细胞数为 5×10^6 个/mL, 置于25 cm^2 培养瓶中室温培养, 2 h后弃非贴壁细胞, 培养过夜后, DCs失去其贴壁性而悬浮在L-15培养液中。②酶消化法, 即在无菌条件下, 从麻醉的虹鳟中取出脾脏, 用胶原酶A处理获得单细胞悬液, 置于Nycoprep (Axis Shield, Oslo, Norway)分离液上, 离心后收集白细胞; 用L-15培养基重悬、调整细胞数为 6×10^6 个/mL, 置于6孔板中, 室温培养, 2 h后弃非贴壁细胞, 培养过夜后, DCs失去其贴壁性而悬浮在L-15培养液中。

Zoccola等^[13]在对尖吻鲈(*Lates calcarifer*)的研究中, 通过机械法分离得到DCs, 但富集纯化方法与Bassity等^[11]的方法不同: 鱼体麻醉致死, 尾静脉取血后于无菌条件下取脾脏和头肾, 置于L-15培养基中, 用1 mL无菌注射器的活塞碾压组织并用L-15培养基冲洗使细胞通过100 μ m的细胞筛获得单细胞悬液; 用L-15培养基调整细胞数为 1×10^7 个/mL, 置于25 cm^2 或75 cm^2 培养瓶中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养5~14 d; 期间收集非贴壁细胞, 当细胞具有树突状的形态时, 利用不连续密度梯度Percoll分离液(1.058 g/mL和1.048 g/mL)进一步富集纯化得到DCs细胞。

此外, 还可以利用DCs的特性以及通过荧光标记的方法分离DCs。利用头肾中的细胞对花生凝集素(PNA)的亲力的差异, 结合流式细胞分选技术, Lugo-Villarino等^[10]从斑马鱼(*Danio rerio*)的头肾中分离得到PNA^{hi}细胞, 并证实这些细胞为DCs。Wittamer等^[48]在双转基因斑马鱼的头肾中分离出mhc2dab : GFP^{hi}, cd45 : DsRed^{hi}的单核吞噬细胞, 发现其中DCs有一定的比例。

鱼类DCs的形态 通过Wright-Giemsa染色的方法, Lugo-Villarino等^[10]在斑马鱼中发现具有DCs独特形态的细胞, 细胞胞体向外伸出多个突起, 这些突起在长度、宽度、形态和数目上都不同, 胞体形态不规则, 细胞核呈椭圆形或肾形, 整体呈现星形或细长的细胞形态。其他多种染色方法也显示了典型DCs的特性, 例如酸

性磷酸酶染色显示, DCs细胞核周围分布有较小的阳性颗粒; α -醋酸萘酯酶染色显示, DCs染色较弱, 细胞质内有黑色沉淀。对分离得到DCs进行超微结构观察, 透射电镜结果显示, DCs从胞体向外伸出突起, 细胞核常为较大的、弯曲的形态, 且核膜周围分布着染色质, 细胞质的电子密度较低且含有线粒体、溶酶体、多泡体等细胞器。此外, 在皮肤中分离的DCs中发现有“网球拍”状颗粒, 类似于哺乳动物LCs中的Birbeck颗粒。Bassity等^[11]从虹鳟脾脏和头肾分离培养2周后的DCs, 在光镜下观察到DCs出现分枝状突起; Wright-Giemsa染色显示, 细胞形态不规则, 核呈小裂片形状, 其中一部分细胞的细胞核呈三叶草型或花瓣型; 在透射电镜下, 发现细胞有不同程度的突起, 细胞核常分为2叶或3叶, 周围分布有染色质, 细胞质中有内质网、高尔基体、线粒体等细胞器, 但未发现“网球拍”状的Birbeck颗粒。近年来的研究发现, 在硬骨鱼类的脾脏和头肾中存在类似哺乳动物LCs的细胞。Lovy等^[49]在鲤形目(Cypriniformes)的鲤(*Cyprinus carpio*)、狗鱼目(Esociformes)的白斑狗鱼(*Esox lucius*)、鲑形目(Salmoniformes)的安大略鳟(*Salmo salar*)、鲾形目(Pleuronectiformes)的大西洋庸鲾(*Hippoglossus hippoglossus*)等多种鱼类中发现类LCs, 其具有典型的“网球拍”状的Birbeck颗粒, 这些颗粒围绕中心粒周围分布, 但不同物种的Birbeck颗粒结构有差别。

3.2 鱼类DCs的功能

Lugo-Villarino等^[10]发现, 斑马鱼DCs除了具有典型的DCs形态外, 还具有吞噬细菌的能力, 高表达与DCs相关的基因, 例如*il-12p40*、*csflr*和*iclp1*, 而且PNA^{hi} DCs具有刺激T细胞增殖的能力, 同时DCs可诱导抗原特异性CD4⁺T细胞的活化^[50]。Bassity等^[11]发现, 在虹鳟中分离得到的DCs, 除了具有刺激T淋巴细胞增殖的能力外, 还具有一系列类似哺乳动物DCs的功能, 例如表达DCs的一些标记基因, 能够吞噬小的颗粒, 能够被TLR的配体激活, 在体内具有迁移能力等。在对尖吻鲈的研究中, 发现肽聚糖、脂多糖以及海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)都能够诱导DCs的迁移, 与脂多糖相比, 肽聚糖的诱导作用更为明显; DCs能够吞噬细菌和荧光微球, 并刺激T淋巴细胞的增殖^[13]。在青鳉(*Oryzias latipes*)

中, 类DCs也能引起强烈的混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)^[51]。

3.3 鱼类DCs的表面标记

越来越多的研究表明, 鱼类的DCs在激活B细胞和T细胞的功能上是保守的。由于DCs具有异质性, DCs的鉴定要依赖多个细胞标记的表达^[52]。在哺乳动物中, 膜结合蛋白CD83是成熟DCs的膜标记分子, 膜结合蛋白CD83分子量为40~45 ku, 属于免疫球蛋白超家族成员, 由胞外区、跨膜区和胞内区组成^[37]。未成熟DCs表面表达低水平的共刺激分子及MHCII类分子, 而高表达一系列受体, 如TLR、C型凝集素等。DCs的表型与功能相适应, 高表达的受体有利于未成熟细胞识别、摄取抗原相关的物质。一旦未成熟DCs受到炎性刺激, 则会向成熟DCs转化, 其中共刺激分子及MHCII表达水平显著提高, 为T细胞提供活化的信号, 如T细胞受体与MHC-抗原复合体结合传递信号, T细胞型CD28与CD80/CD86结合传递信号, 从而启动获得性免疫应答^[53-54]。在硬骨鱼类中, 对于DCs的分子标记还不确定。在虹鳟中, 分离培养的DCs可表达TLR-3、TLR-5、TLR-9、TLR-20、TLR-22、TLR-22L、B7R、B7H1、B7H3、B7H4、IL12p40、CXCR4、CCR7、MHCII、CD83、CD209等DCs标记基因; DCs在4种TLR配体(imiquimod, Poly I : C, ssRNA, flagellin)的混合物刺激下, CD83发生显著性上调表达^[11]。在尖吻鲈中, 发现了一种潜在的DCs标记——DCs-SCRIPT, 在肽聚糖和脂多糖的刺激下, 头肾和脾脏中的DCs-SCRIPT都出现了不同程度的上调表达^[13]。有研究表明, CD80/86、CD83、CD209以及MHCII共定位在斑马鱼DCs的细胞膜上, 而且在脂多糖和血蓝蛋白的刺激下, 以上4种分子均出现显著性上调表达^[50]。

3.4 鱼类DCs在体内的分布

和哺乳动物相似, DCs在鱼体内的数量很少^[6], 但从不同组织均可分离得到一定纯度的DCs。在虹鳟、尖吻鲈的头肾和脾脏以及外周血中都分离培养得到了不同数量的DCs^[11, 13]。此外, Wittamer等^[48]通过绿色荧光蛋白标记MHC II (*mhc2dab : GFP*)和红色荧光蛋白标记CD45 (*cd45 : DsRed*)的方法, 结合流式细胞术分离并研

究了单核细胞和DCs在转基因斑马鱼体内的特性,发现体内多数器官都有DCs的分布;DCs占单核吞噬细胞的比例在各器官中分别为皮肤(15%)、胸腺(10%)、肾(6%)、脾(5%)、肠(3%)。Granja等^[55]在虹鳟皮肤中发现了MHCII⁺、CD8 α ⁺ DCs样细胞,约占白细胞的1.2%,且表现出与哺乳动物DCs相似的功能与表型。Lovy等^[12]在孢子虫感染的大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)的鳃中发现了LCs。随后,在安大略鳟、虹鳟、美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)以及多种辐鳍亚纲(Actinopterygii)鱼类的头肾及脾脏中发现了LCs^[49, 56]。最近, Kordon等^[57]在斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的头肾、脾脏、鳃中也发现了类LCs。

4 总结与展望

哺乳动物DCs研究已较深入。近年来,在越来越多的鱼类中也发现了DCs。研究发现,鱼类DCs在功能和表型上与哺乳动物具有很多共性,但是仍然有很多问题亟待解决,例如:①DCs的细胞标记,加强这方面的研究有助于提高鱼类DCs的分离、DC类型及在体内分布与功能的研究水平;②DCs的分离、培养技术;③DCs在抗原递呈中的功能研究,以及DCs在鱼体中发挥功能的场所与调节机制等。随着技术的进步和研究的深入,鱼类DCs的生物学特性以及DCs免疫调节的机制等问题将逐渐被解决,这对深入鱼类免疫机理研究,合理设计和应用疫苗,具有重要的理论指导意义。

参考文献:

- [1] Steinman R M. Decisions about dendritic cells: past, present, and future[J]. *Annual Review of Immunology*, 2012, 30: 1-22.
- [2] Collin M, McGovern N, Haniffa M. Human dendritic cell subsets[J]. *Immunology*, 2013, 140(1): 22-30.
- [3] Jolles S. Paul langerhans[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2002, 55(4): 243.
- [4] Schuler G, Romani N, Steinman R M. A comparison of murine epidermal Langerhans cells with spleen dendritic cells[J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 1985, 85(S1): 99-106.
- [5] Steinman R M, Cohn Z A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1973, 137(5): 1142-1162.
- [6] Van Voorhis W C, Hair L S, Steinman R M, et al. Human dendritic cells. Enrichment and characterization from peripheral blood[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1982, 155(4): 1172-1187.
- [7] Shortman K, Heath W R. The CD8⁺ dendritic cell subset[J]. *Immunological Reviews*, 2010, 234(1): 18-31.
- [8] Helft J, Ginhoux F, Bogunovic M, et al. Origin and functional heterogeneity of non-lymphoid tissue dendritic cells in mice[J]. *Immunological Reviews*, 2010, 234(1): 55-75.
- [9] Colonna M, Trinchieri G, Liu Y J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity[J]. *Nature Immunology*, 2004, 5(12): 1219-1226.
- [10] Lugo-Villarino G, Balla K M, Stachura D L, et al. Identification of dendritic antigen-presenting cells in the zebrafish[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(36): 15850-15855.
- [11] Bassity E, Clark T G. Functional identification of dendritic cells in the teleost model, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33196.
- [12] Lovy J, Wright G M, Speare D J. Morphological presentation of a dendritic-like cell within the gills of chinook salmon infected with *Loma salmonae*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2006, 30(3): 259-263.
- [13] Zoccola E, Delamare-Deboutteville J, Barnes A C. Identification of Barramundi (*Lates calcarifer*) DC-SCRIPT, a specific molecular marker for dendritic cells in fish[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132687.
- [14] De Carvalho C M, Bonnefont-Rebeix C, Rigal D, et al. "Dendritic cells in different animal species: an overview"[J]. *Pathologie Biologie*, 2006, 54(2): 85-93.
- [15] Iwasaki H, Akashi K. Myeloid lineage commitment from the hematopoietic stem cell[J]. *Immunity*, 2007, 26(6): 726-740.
- [16] Ramos M I, Tak P P, Lebre M C. Fms-like tyrosine kinase 3 ligand-dependent dendritic cells in autoimmune inflammation[J]. *Autoimmunity Reviews*, 2014, 13(2): 117-124.
- [17] Ushach I, Zlotnik A. Biological role of granulocyte

- macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2016, 100(3): 481-489.
- [18] Yamazaki S, Patel M, Harper A, *et al.* Effective expansion of alloantigen-specific Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells by dendritic cells during the mixed leukocyte reaction[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(8): 2758-2763.
- [19] Mahnke K, Johnson T S, Ring S, *et al.* Tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells: a two-way relationship[J]. *Journal of Dermatological Science*, 2007, 46(3): 159-167.
- [20] Dhodapkar M V, Bhardwaj N. Active immunization of humans with dendritic cells[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2000, 20(3): 167-174.
- [21] Kelsall B L, Biron C A, Sharma O, *et al.* Dendritic cells at the host-pathogen interface[J]. *Nature Immunology*, 2002, 3(8): 699-702.
- [22] Swiatczak B, Rescigno M. How the interplay between antigen presenting cells and microbiota tunes host immune responses in the gut[J]. *Seminars in Immunology*, 2012, 24(1): 43-49.
- [23] Guilliams M, Ginhoux F, Jakubzick C, *et al.* Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2014, 14(8): 571-578.
- [24] Fogg D K, Sibon C, Miled C, *et al.* A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells[J]. *Science*, 2006, 311(5757): 83-87.
- [25] Auffray C, Fogg D K, Narni-Mancinelli E, *et al.* CX₃CR1⁺ CD115⁺ CD135⁺ common macrophage/DC precursors and the role of CX₃CR1 in their response to inflammation[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2009, 206(3): 595-606.
- [26] Onai N, Obata-Onai A, Schmid M A, *et al.* Identification of clonogenic common Flt3⁺M-CSFR⁺ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow[J]. *Nature Immunology*, 2007, 8(11): 1207-1216.
- [27] Naik S H, Sathe P, Park H Y, *et al.* Development of plasmacytoid and conventional dendritic cell subtypes from single precursor cells derived *in vitro* and *in vivo*[J]. *Nature Immunology*, 2007, 8(11): 1217-1226.
- [28] Grajales-Reyes G E, Iwata A, Albring J, *et al.* Batf3 maintains autoactivation of Irf8 for commitment of a CD8 α ⁺ conventional DC clonogenic progenitor[J]. *Nature Immunology*, 2015, 16(7): 708-717.
- [29] Yu C I, Becker C, Wang Y Y, *et al.* Human CD1c⁺ dendritic cells drive the differentiation of CD103⁺ CD8⁺ mucosal effector T cells via the cytokine TGF- β [J]. *Immunity*, 2013, 38(4): 818-830.
- [30] Poulin L F, Salio M, Griessinger E, *et al.* Characterization of human DNGR-1⁺ BDCA3⁺ leukocytes as putative equivalents of mouse CD8 α ⁺ dendritic cells[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2010, 207(6): 1261-1271.
- [31] Liu Y J. IPC: Professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors[J]. *Annual Review of Immunology*, 2005, 23: 275-306.
- [32] Ju X S, Clark G, Hart D N J. Review of human DC subtypes[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2010, 595: 3-20.
- [33] Jacobs B, Wuttke M, Papewalis C, *et al.* Dendritic cell subtypes and *in vitro* generation of dendritic cells[J]. *Hormone and Metabolic Research*, 2008, 40(2): 99-107.
- [34] Romani N, Clausen B E, Stoitzner P. Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin[J]. *Immunological Reviews*, 2010, 234(1): 120-141.
- [35] Merad M, Manz M G. Dendritic cell homeostasis[J]. *Blood*, 2009, 113(15): 3418-3427.
- [36] Coventry B J, Austyn J M, Chryssidis S, *et al.* Identification and isolation of CD1a positive putative tumour infiltrating dendritic cells in human breast cancer[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1997, 417: 571-577.
- [37] Prectel A T, Steinkasserer A. CD83: an update on functions and prospects of the maturation marker of dendritic cells[J]. *Archives of Dermatological Research*, 2007, 299(2): 59-69.
- [38] Steinman R M, Kaplan G, Witmer M D, *et al.* Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. V. Purification of spleen dendritic cells, new surface markers, and maintenance *in vitro*[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1979, 149(1): 1-16.
- [39] Metlay J P, Witmer-Pack M D, Agger R, *et al.* The

- distinct leukocyte integrins of mouse spleen dendritic cells as identified with new hamster monoclonal antibodies[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1990, 171(5): 1753-1771.
- [40] Mildner A, Jung S. Development and function of dendritic cell subsets[J]. *Immunity*, 2014, 40(5): 642-656.
- [41] Murphy T L, Grajales-Reyes G E, Wu X D, *et al.* Transcriptional control of dendritic cell development[J]. *Annual Review of Immunology*, 2016, 34: 93-119.
- [42] Schlitzer A, McGovern N, Teo P, *et al.* IRF4 transcription factor-dependent CD11b⁺ dendritic cells in human and mouse control mucosal IL-17 cytokine responses[J]. *Immunity*, 2013, 38(5): 970-983.
- [43] Plantinga M, Williams M, Vanheerswynghe M, *et al.* Conventional and monocyte-derived CD11b⁺ dendritic cells initiate and maintain T helper 2 cell-mediated immunity to house dust mite allergen[J]. *Immunity*, 2013, 38(2): 322-335.
- [44] Langlet C, Tamoutounour S, Henri S, *et al.* CD64 expression distinguishes monocyte-derived and conventional dendritic cells and reveals their distinct role during intramuscular immunization[J]. *The Journal of Immunology*, 2012, 188(4): 1751-1760.
- [45] Williams M, Dutertre C A, Scott C L, *et al.* Unsupervised high-dimensional analysis aligns dendritic cells across tissues and species[J]. *Immunity*, 2016, 45(3): 669-684.
- [46] Blasius A L, Giurisato E, Cella M, *et al.* Bone marrow stromal cell antigen 2 is a specific marker of type I IFN-producing cells in the naive mouse, but a promiscuous cell surface antigen following IFN stimulation[J]. *The Journal of Immunology*, 2006, 177(5): 3260-3265.
- [47] Zhang J Q, Raper A, Sugita N, *et al.* Characterization of siglec-H as a novel endocytic receptor expressed on murine plasmacytoid dendritic cell precursors[J]. *Blood*, 2006, 107(9): 3600-3608.
- [48] Wittamer V, Bertrand J Y, Gutschow P W, *et al.* Characterization of the mononuclear phagocyte system in zebrafish[J]. *Blood*, 2011, 117(26): 7126-7135.
- [49] Lovy J, Wright G M, Speare D J, *et al.* Comparative ultrastructure of Langerhans-like cells in spleens of ray-finned fishes (Actinopterygii)[J]. *Journal of Morphology*, 2010, 271(10): 1229-1239.
- [50] Shao T, Zhu L Y, Nie L, *et al.* Characterization of surface phenotypic molecules of teleost dendritic cells[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2015, 49(1): 38-43.
- [51] Aghaallaei N, Bajoghli B, Schwarz H, *et al.* Characterization of mononuclear phagocytic cells in medaka fish transgenic for a *cxcr3a: Gfp* reporter[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(42): 18079-18084.
- [52] Merad M, Sathe P, Helft J, *et al.* The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting[J]. *Annual Review of Immunology*, 2013, 31: 563-604.
- [53] Sousa C R E. Dendritic cells in a mature age[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2006, 6(6): 476-483.
- [54] Berntsen A, Geertsen P F, Svane I M. Therapeutic dendritic cell vaccination of patients with renal cell carcinoma[J]. *European Urology*, 2006, 50(1): 34-43.
- [55] Granja A G, Leal E, Pignatelli J, *et al.* Identification of teleost skin CD8 α ⁺ dendritic-like cells, representing a potential common ancestor for mammalian cross-presenting dendritic cells[J]. *The Journal of Immunology*, 2015, 195(4): 1825-1837.
- [56] Lovy J, Wright G M, Speare D J. Comparative cellular morphology suggesting the existence of resident dendritic cells within immune organs of salmonids[J]. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 2008, 291(4): 456-462.
- [57] Kordon A O, Scott M A, Ibrahim I, *et al.* Identification of Langerhans-like cells in the immunocompetent tissues of channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 58: 253-258.

A review of the dendritic cells research in fish

CHEN Xiaoxuan^{*}, LI Sisi, ZHOU Chengchong, WU Zhixin

(Hubei Engineering Technology Research Center for Aquatic Animal Diseases Control and Prevention,
Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province,
National Demonstration Center for Experimental Aquaculture Education, Fishery College,
Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Dendritic cells (DCs) are currently the most powerful antigen-presenting cells *in vivo* and the only ones that can activate the initial T lymphocyte reaction. It plays an important role in innate immunity, adaptive immunity and maintenance of autoimmune tolerance, so it has always been an important area of immunological research. This paper briefly reviews the types of DCs and its function in animals and the cellular markers of various DCs. It summarizes separation, purification method and the method of morphological observation of DCs in fish. Results show that the dendritic cells of fish have many of the hallmarks of mammalian DCs including the ability to phagocytose small particles, stimulate T cell proliferation, induce CD4⁺ T cell activation, and the expression of dendritic cell markers, activation by Toll like receptor-ligands, and the ability to migrate *in vivo* and stimulate a mixed lymphocyte reaction; the molecular markers of DCs in different fishes are not exactly the same; DCs in fish were found in various organs including head kidney, kidney, gill, skin, thymus, spleen and intestine. Although some progress has been made in the research of DCs in fish, there are still many important problems to be solved: there are currently no cellular markers for DCs in fish, so strengthening the research in this field is useful to enhance the research level of DCs' isolation, distribution *in vivo* and function. It is necessary to intensify and improve the technique of isolation and culture of DCs in fish and to master the methods of isolation and culture of various DCs. Enhancing the research of DCs in antigen-presentation in fish has important theoretical significance for further research of immune mechanism and rational design and application of vaccine.

Key words: fish; dendritic cells; morphological character; distribution; cellular markers; function

Corresponding author: CHEN Xiaoxuan. E-mail: chenxx@mail.hzau.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31672683)