

# 从比较免疫学看鱼类的免疫特性

陈怀青 陆承平

(南京农业大学兽医系 南京 210095)

**关键词** 比较免疫学, 鱼, 体液免疫, 细胞免疫

在过去几十年里, 免疫学取得了惊人的成就, 但这些都是以哺乳类和鸟类为对象进行研究所获得的, 而鱼类的免疫学研究则不多。近年来, 随着养鱼业的人工密集化, 出现了一些严重的鱼类传染病, 免疫接种极大地促进了鱼类免疫学的发展; 同时比较免疫学家对免疫机理、系统发生等理论研究的兴趣, 也推动了鱼类免疫学的研究。本文就国内外的新近资料, 论述了鱼类的免疫机理, 并与哺乳类和鸟类的免疫机理进行了比较。

## 1 免疫器官

哺乳类和鸟类的免疫器官包括骨髓、胸腺、法氏囊、脾、淋巴结及肠淋巴滤泡等, 其中胸腺和法氏囊是中枢免疫器官, 脾、淋巴结及肠淋巴滤泡是外周免疫器官, 骨髓则既是中枢免疫器官, 又是外周免疫器官。而真骨鱼的免疫器官有胸腺、前肾、体肾和脾等, 但没有骨髓、法氏囊和淋巴结的对等解剖结构。

从鱼类首先形成的淋巴器官是胸腺, 胸腺所含淋巴细胞的形态、数量和分裂相等来看; 尤其是从注回鱼体的<sup>3</sup>H 标记的外周淋巴细胞主要向前肾和脾移行, 而不向胸腺移行来看; 以及从胸腺在性成熟的同时开始萎缩, 所含细胞分裂相也显著降低等点来看, 鱼类的胸腺也和哺乳类、鸟类的胸腺一样, 可认为是中枢免疫器官<sup>[1]</sup>。

鱼类的胸腺亦由被膜及实质两部分组成。被膜的结缔组织浸有多量淋巴细胞; 实质也可

分为皮质和髓质, 其主要成份是位于网状组织支架内的淋巴细胞, 此外尚有巨噬细胞等。值得注意的是, 鱼类的胸腺位于一个并不十分隐蔽的位置, 仅靠一层表皮囊细胞与外界隔开, 表皮囊细胞上尚有一些直径约 15 μm 的孔洞<sup>[2]</sup>, 但这些孔洞的意义目前尚不清楚。

鱼类的前肾、体肾和脾含有大量的抗体形成细胞, 并有净化血液的作用, 这表明它们是外周免疫器官。它们在不同鱼种中所占地位不一, 在金鱼及鲤鱼, 前肾和体肾是抗体产生的主要部位, 是主要免疫器官; 河鲈的体肾比脾和前肾具有更多的抗体形成细胞; 而在用细菌 O 抗原免疫过的虹鳟中, 脾的抗体形成细胞多于体肾。

鱼类的脾亦可分为红髓和白髓两部分, 但与哺乳类相比, 红髓和白髓的分界不甚明显, 往往混合存在。研究发现, 鲤鱼脾的外周部, 白髓占大多数, 淋巴细胞密集; 而在中央部, 则以红髓分布为主, 血窦丰富。此外在脾髓中尚有许多椭圆形及黑素——巨噬细胞中心。

哺乳类和鸟类的肾主要为排泄器官, 在免疫应答中所起作用甚微。但是在鱼类, 肾不仅具有排泄功能, 而且还具备免疫功能, 是鱼类重要的免疫器官。由于鱼类没有哺乳类和鸟类所具有的淋巴结, 一般认为鱼类的肾在免疫功能上是淋巴结的对等器官, 而且它们在组织结构上亦有明显的相似性。同时需要指出的是, 哺乳类和鸟类的肾不分节, 而鱼类的肾则分为前肾、体肾和后肾三个部分。

前肾的实质主要由淋巴组织构成。中央部分的淋巴组织排列成索状,沿中央血管呈放射状分布,淋巴索之间即为血窦,其细胞成分有淋巴细胞、网状细胞及黑素——巨噬细胞。外周部分则以淋巴细胞排列密集的弥散性淋巴组织为特征。

体肾的实质则主要由肾小体、各段肾小管、集合小管和中肾管组成,淋巴组织分布于这些管段之间。

## 2 免疫细胞

哺乳类和鸟类的免疫细胞主要是淋巴细胞,从其来源和机能等可分为T细胞和B细胞两大类。淋巴细胞的表面有各种标志(抗原和受体),T细胞的标志抗原 $T_{hy-1}(\theta)$ 抗原及Iyt抗原,受体有Fc受体及少量的表面免疫球蛋白(SIg);而B细胞的标志抗原 $I_{yb}$ 抗原,受体除多量的SIg外,尚有Fc受体及 $C_{3b}$ 受体。在对外源性凝集素的应答方面,T细胞对植物血凝素(PHA)、刀豆素-A(Con-A)表现出易感性,而B细胞则对细菌脂多糖(LPS)易感。

鱼类是否存在着不同性状和功能的淋巴细胞群?不明之处甚多。研究发现,虹鳟抗胸腺细胞血清可特异性地损害胸腺淋巴细胞(100%),而对外周淋巴细胞仅损伤30%,脾为60%<sup>[1]</sup>。由此可见,在鱼类中存在着胸腺来源的淋巴细胞和非胸腺来源的淋巴细胞。

从功能上看,金鱼注射高浓度马红细胞后,前肾和脾中抗原结合细胞增加7倍,而胸腺只增加2倍。鲤鱼接种绵羊红细胞后,前肾和体肾溶血斑形成细胞(抗体形成细胞)显著增加,而胸腺则没有增加<sup>[2]</sup>。这样看来,胸腺淋巴细胞虽存在SIg,却不是抗体产生细胞。

从对有丝分裂原的反应来看,虹鳟胸腺淋巴细胞对Con-A应答,而LPS使前肾淋巴细胞幼稚化<sup>[3]</sup>,同时LPS也使外周淋巴细胞中溶血斑形成细胞增加。

此外,鱼类亦存在半抗原效应(半抗原载体现象),与半抗原分子反应的细胞和与载体分子反应的细胞并不相同<sup>[4]</sup>。

所有这一切都表明,在鱼类的淋巴细胞中,至少存在着两组功能、细胞学方面不同的淋巴细胞群,它们分别跟哺乳类和鸟类的T细胞和B细胞相似。但是,由于鱼类的淋巴细胞缺乏易鉴别的表面标志(至今尚未发现Fc受体及 $C_{3b}$ 受体),因而其分类至今尚未完全弄清。

应用常规血清,在胸腺细胞及大多数外周淋巴细胞的表面发现了SIg,但胸腺细胞SIg比肾淋巴细胞SIg量少,同时还发现鲤鱼胸腺细胞SIg在抗原性上与前肾淋巴细胞SIg及血清IgM并不完全相同。研究发现,抗大鳍鳞鲷太阳鱼脑组织血清选择性地杀伤前肾中与PHA反应的细胞,而不杀伤与LPS反应的细胞,这表明鱼类淋巴细胞群中存在着不同的表面标志。近几年,有人用单克隆抗体技术进行鱼类淋巴细胞分群研究<sup>[5]</sup>,但结果也不令人满意。

## 3 体液免疫

哺乳类和鸟类在接触抗原之后,首先由巨噬细胞对抗原进行处理,将抗原信息提呈出来,传递给T细胞及B细胞,使B细胞活化,增殖分化为浆细胞,然后产生抗体。

在鱼类,亦观察到鲤鱼对抗原的处理类似哺乳动物分为两个阶段:首先嗜水气单胞菌即抗原被巨噬细胞固定和吞噬;然后抗原从胞内排出,定位于黑素——巨噬细胞束及其周围细胞的细胞表面<sup>[6]</sup>。

鱼类也存在浆细胞,但在虹鳟的脾及前肾的抗体形成细胞,在形态方面是淋巴细胞,浆细胞的核偏位及车轮核很少见,这点与哺乳类及鸟类稍有不同。

抗体的种类在哺乳类有IgM、IgG、IgA、IgD和IgE5类,在鸟类有IgM、IgG及IgA3种。其基本结构是由2条重链和2条轻链组成的单体。除IgM是五聚体,分泌型IgA是二聚体外,其它均为单体。单体的分子量约16—19万,沉降系数为7—8s;IgM分子量约90万,沉降系数19s。

很多的报道叙述了鱼类的抗体。根据鱼种类,有6s到19s不同的分子。可是,这些

分子大小不同的免疫球蛋白,除一部分外,全都对2-巯基乙醇敏感,其理化性状是IgM。例如,斑点叉尾鲷抗破伤风类毒素的免疫血清,经Sephadex G-20层析,分为14s和7s两组,但仅14s存在中和活性。而间接血凝抗体的活性两组均有,两组用2-巯基乙醇处理后活性都显著下降<sup>[7]</sup>。

真骨鱼的19s免疫球蛋白是由4个7s的亚单位通过链间二硫键组成的四聚体(而非哺乳类和鸟类的五聚体),其分子量约70万。以往的研究均认为该四聚体是由单一的重链和单一的轻链组成,可是新近对斑点叉尾鲷免疫球蛋白的研究对此提出了异议。研究发现,斑点叉尾鲷免疫球蛋白的多价结构是异源性的<sup>[8]</sup>。例如用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析斑点叉尾鲷免疫球蛋白时,发现有3种不同分子量的轻链;用单克隆抗体纯化斑点叉尾鲷免疫球蛋白时发现有不同的轻链,它们分别跟不同的单克隆抗体起反应;同时还发现,斑点叉尾鲷免疫球蛋白在SDS-PAGE中出现8个不同的亚群,其分子量分别是75万、66万、57万、48万、39万、29万、19万

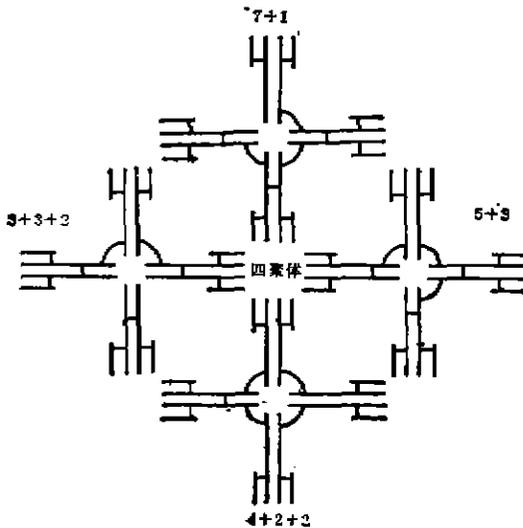


图1 斑点叉尾鲷免疫球蛋白四聚体各种不同的假设结构

和9万,每相邻亚群间的差别约9万左右。假若每一亚群间相差一个半体(即由1条轻链和

1条重链组成的轻-重链对)的话,则可以解释它们在分子量上的差别。这种多价四聚体是由8个多价连接的半体组成,第7亚群由7个半体组成,依此类推。单一轻链和单一重链间的二硫键使之形成半体,而将8个半体连接成四聚体的双硫键则各不相同,因而就出现8个亚群(图1)。

此外,肺鱼没有在抗原性上同19s相关的7sIg,而有一个抗原性独特的5.8s免疫球蛋白,其重链的分子量和功能区跟19sIg不同,因而被称为IgN<sup>[9]</sup>。

哺乳类和鸟类的体液应答,在接种抗原2—5天后,出现抗体形成细胞,5—7天后形成中和抗体。首次免疫主要产生IgM,而再次免疫则以IgG为主。在再次免疫的抗体产生应答中,潜伏期缩短,抗体量增加(主要是IgG)。这是再次应答的特征,被认为是免疫记忆的结果。

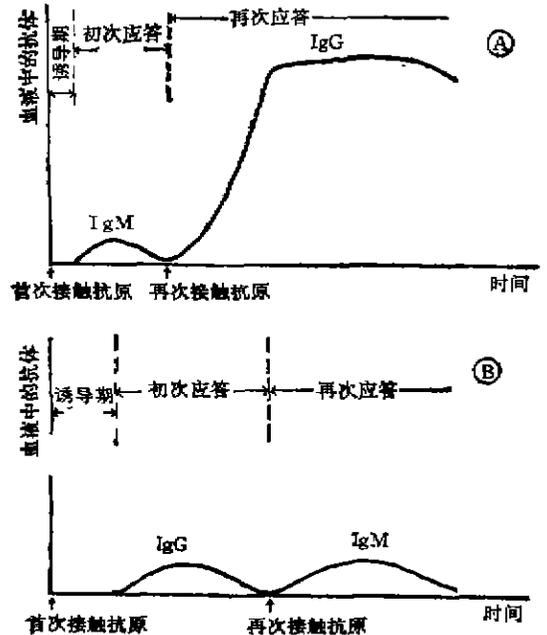


图2 再次免疫应答的抗体曲线

④ 哺乳类和鸟类; ⑤ 鱼类 (图中IgG应为IgM)

有关鱼类体液应答的报道很多,与哺乳类和鸟类相比,其应答反应一般较缓慢,在最适水温中,接种抗原7—10天后,抗体产生细胞出

现,血液中的抗体在14—21天后才出现。此外,鱼类初次免疫应答后,其血液中的抗体水平可持续较长的时间。由于目前在鱼类中尚未发现IgG或其它类型的免疫球蛋白,因此一般认为,鱼类在再次接触同样抗原后,产生的免疫球蛋白仍然是IgM。至于鱼类是否存在再次免疫应答,意见不一。若以血液中产生的抗体的量来看,特征性的再次免疫应答不存在;可是,若以头肾、脾中抗体产生细胞的数量来看<sup>[10-12]</sup>,存在着再次免疫应答,证明在鱼类也存在免疫记忆(图2)。

已知哺乳类和鸟类除了血液中的抗体外,还存在分泌型抗体。在鱼类中尚未见过和这种分泌型抗体相同的物质的报道,但在体表和肠管的粘液中发现有抗体存在<sup>[13]</sup>。这些抗体从沉淀反应及免疫电泳的结果来看,和血液中IgM在抗原性方面相同。但是,体表粘液中抗体产生的量和血液抗体并不平行,而且粘液中存在着游出的淋巴细胞,这表明鱼类似乎也存在局部免疫应答。

哺乳类和鸟类的抗体可由母亲传递给子女。哺乳类生前靠胎盘,生后靠母乳的初乳将抗体传到子女。在鸟类,除通过卵黄外,还有极少数抗体通过羊水经口到达胚胎。而在鱼类中也发现免疫亲鱼的卵黄中有抗体存在<sup>[14]</sup>,但这种母源抗体在小鱼体内的持续时间,以及它们在小鱼抗病中所起的作用尚不清楚。

#### 4 细胞免疫

细胞免疫是机体接触抗原后,没有抗体参与的、仅有T细胞直接或间接参与的应答。哺乳类和鸟类常见的细胞免疫有迟发性过敏反应、同种移植排斥反应,以及对细胞内寄生的病原体的防御免疫应答等。

鱼类也存在着细胞免疫的机制。鱼类淋巴细胞的体外培养及巨噬细胞游走抑制试验<sup>[15]</sup>,可以证明存在着迟发性变态反应<sup>[16]</sup>;同种移植排斥反应在鱼类中也有过报道<sup>[17]</sup>;从被动免疫过的鳗鱼的巨噬细胞体外吞噬细菌试验<sup>[18]</sup>以及混合淋巴细胞反应<sup>[19]</sup>来看,鱼类确实存在着细胞性预防感染的机制。但参与这些反应的

淋巴细胞群的来源还不明瞭,从Con-A刺激鲑鱼前肾及脾淋巴细胞能产生介质样物质来看,鱼类可能存在着具有和哺乳类、鸟类同样功能的类似T细胞的淋巴细胞群。

至于鱼类是否存在白细胞介素等调节因子,目前还不完全清楚。在用PHA激活的鲤鱼外周淋巴细胞的上清液中含有一种生长促进因子,它能诱导成淋巴细胞的增生性反应,但对新分离的淋巴细胞无作用,这类类似于哺乳类的白细胞介素-2(IL-2)<sup>[20]</sup>。前不久,在鲤乳头状上皮瘤细胞系(EPC)中又发现白细胞介素-1(IL-1)类似物<sup>[21]</sup>。

#### 5 影响免疫应答的因素

影响哺乳类和鸟类免疫应答的因素同样也影响鱼类,这些因素包括激素变化、应激反应、并发感染、药物、环境污染物、年龄、季节、抗原类型、抗原的物理状态、接种剂量、免疫途径等。值得特别注意的是,鱼类是变温动物,环境温度(水温)对其免疫应答有明显的影响。例如,鲤鱼在12℃水温时不能合成抗牛血清白蛋白(BSA)的抗体,而在25℃水温时则能合成。由于这些因素对免疫应答的作用机制在哺乳类、鸟类和鱼类之间并无明显的差别,在此不再赘述。

从进化角度来看,鱼类是低等的脊椎动物,与哺乳类和鸟类相比,其免疫系统有较大的差异,但已具备了免疫的基本特征。然而,由于鱼类种类繁多,各种鱼类的免疫应答都有一定的特殊性,因此要获得一个普遍性的结论相当困难,有许多问题尚待进一步研究。在基础理论方面,今后要解决的主要问题仍然是免疫细胞的表面标志,类T细胞和类B细胞的分类,以及发现各种新的免疫球蛋白及其亚类等。在应用方面,鱼类防御传染病的机制尚不完全清楚,如何更好地利用免疫接种法来预防鱼类传染病仍是当前面临的重要课题,急待解决。而且非特异性免疫机制(杀伤细胞、干扰素、补体、溶菌酶、C-反应蛋白、 $\alpha$ -沉淀素、 $\beta$ -沉淀素、几丁酶)在鱼类免疫保护中究竟起何作用,仍待进一步调查与研究。

参 考 文 献

- 1 Ellis A. E. Phyligeny of the lymphoid system. I. A study of the fate of circulating lymphocytes in plaice. *Eur. J. Immunol.* 1974, 4: 338—343
- 2 Chilmonczyk S. Rainbow trout lymphoid organs. Cellular effects of corticosteroids and anti-thymocytes serum. *Dev. Comp. Immunol.* 1982, 6: 271—280
- 3 Rijkers G. T. et al The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*) *Immunology.* 1980, 41: 91—97
- 4 Ruben L. N. et al Phylogenetic origins of immune recognition: lymphoid heterogeneity and hapten/carrier effect in the goldfish, *Carassius auratus*. *Cell. Immunol.* 1977, 31: 266—283
- 5 Secombes C. J. et al Separation of lymphocyte subpopulation in carp *Cyprinus carpio* L. by monoclonal antibodies: immunohistochemical studies. *Immunology* 1983, 48: 165—175
- 6 ——— Histophysiology of a primary immune response against *Aeromonas hydrophila* in carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Exp. Zoology.* 1986, 238: 71—80
- 7 ——— Neutralization of bacterial exotoxin (tetanus toxin) by channel catfish IgM antibody. *Immunology* 1982, 45: 49—53
- 8 ——— Structural diversity of channel catfish immunoglobulins. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1986, 12: 7—12
- 9 王亚辉. 分子免疫学. 科学出版社. 1982, 513—541.
- 10 Anderson D. P. Investigation of immunological memory in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to DNP-conjugates. *Dev. Comp. Immunol.*, Supplement 1982, 2: 115—122
- 11 Dunier M. 1984 Absence of anamnestic to DNP-haemocyanin and DNP-Ficoll in rainbow trout. Proceedings of the Fish Immunology Symposium 11—13 July 1983, Plymouth
- 12 Lamers C. H. J. et al The reaction of the immune system of fish to vaccination: Development of immunological memory in carp, *Cyprinus carpio* L., following direct immersion in *Aeromonas hydrophila* bacterin. *J. Fish Dis.* 1985, 8: 253—262
- 13 Lobb C. J. et al The metabolic relationships of the immunoglobulins in fish serum, cutaneous mucus, and bile. *J Immunol.* 1981, 127: 1525—1529
- 14 Clerx J. P. M. 1978 Study on pike fry rhabdovirus and the immunoglobulin of pike (*Esox lucius*). Thesis, Drukkerij J. H., Pasmans, S'Gravenhage
- 15 Smith P. T. et al 1980 "Further studies on furunculosis vaccination" in W. Ahne(ed), Fish Disease, 3rd COPRAQ Session, Springer-Verlag, 113—119.
- 16 Bartos J. M. et al *In vivo* cell mediated immune response to *M. tuberculosis* and *M. salmoniphilum* in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Dev. Comp. Immunol.* 1981, 5: 75—83
- 17 Botham J. W. et al 1980 "Ontogeny of first and second set alloimmune reactivity in fish" in M. J. Manning (ed) Phylogeny of Immunological Memory Elsevier 83
- 18 Song Y. L. et al Immune response of eels (*Anguilla japonica*) against *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella anguillimorhisterum* (E. tarda) infection. Proc. Repub. of China. U. S. Coop. Sci. Seminar on Fish Dis. *Nat Sci. Conn. Series.* 1981, 3: 107—115
- 19 ——— Evolution of the lymphoid system. II. Evidence for immunoglobulin determinants on all rainbow trout lymphocytes and demonstration of mixed leukocyte reaction. *Eur. J. Immunol.* 1977, 7: 881—887
- 20 Grondel J. L. et al Phylogeny of interleukin growth factors produced by the cyprinid fish, *Cyprinus carpio* L. *Immunology* 1984, 52: 477—482
- 21 Sigel M. M. et al Phylogenetic studies on lymphokines. Fish lymphocytes respond to human IL-1 and epithelial cell produce an IL-1 like factor. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1986, 12: 47—58