

鱼类母源性免疫 及其应用

王志平◎编著



科学出版社

鱼类母源性免疫及其应用

王志平 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

鱼类母源性免疫的发现不仅具有理论价值,在水产养殖中也具有潜在应用价值。本书在介绍鱼类母源性免疫研究进展的基础上,重点阐述了作者在本领域的研究成果。全书分6章,内容主要包括鱼类母源性免疫概述、鱼类母源性免疫因子的研究进展、鱼类母源性免疫的跨代传递机制与影响因素及鱼类母源性免疫的开发与应用。

本书可供水产类专业本科生、研究生,以及水产养殖工作者使用和参考。

图书在版编目(CIP)数据

鱼类母源性免疫及其应用/王志平编著. —北京:科学出版社,2015.8
ISBN 978-7-03-045501-7

I. 鱼… II. 王… III. ①鱼病防治-母源抗体-免疫疗法-研究
IV. ①S942.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 201526 号

责任编辑:刘 丹/责任校对:郑金红

责任印制:徐晓晨/责任设计:铭轩堂

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京京华虎彩印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015年9月第一版 开本:720×1000 B5

2015年9月第一次印刷 印张:8 3/8

字数:167 000

定价:39.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

作者简介

王志平(1978.6~),女,汉族,河北井陉人,中共党员,中国海洋大学海洋生物学博士,陕西师范大学分子生物学博士后,渭南师范学院副教授、硕士生导师。现任渭南师范学院化学与生命科学学院副院长,陕西省河流湿地生态与环境重点实验室副主任,渭南师范学院学科带头人,渭南师范学院大学生创新创业委员会委员,陕西省“春笋计划”高校指导专家。先后主持国家自然科学基金、中国博士后基金、陕西省自然科学基金、陕西省博士后基金、陕西省教育厅研究计划项目等8项课题,以第一作者在国内核心期刊发表学术论文30余篇,其中SCI、EI收录8篇并被引用100余次,参编教材4部,先后获陕西省高等学校科学技术奖、秦皇岛市科学技术奖、青岛市科学技术奖、陕西省自然科学优秀学术论文奖、渭南市青年科技奖、陕西省教育系统“五一巾帼标兵”等多项科研奖励和荣誉称号。

前 言

鱼苗死亡率过高在世界范围内造成了巨大经济损失。我国水资源丰富，养殖鱼类种类繁多，提高鱼苗免疫力对于水产养殖业的健康发展具有重要意义。母源性免疫即母体传递给子代的免疫力，在鱼类个体发育早期具有重要的免疫作用。一些鱼类产卵量大，卵子个体小，给鱼苗免疫带来诸多不便。另外，由于仔鱼不具有完整的免疫反应能力，直接对其进行免疫并不能有效提高其免疫活性。因此，母源性免疫在水产养殖中更具应用价值。

编者在国家自然科学基金项目“斑马鱼母源性补体的传递和功能研究（31000410）”、陕西省自然科学基金项目“斑马鱼母源性溶菌酶的传递和功能研究（2010JQ3010）”、中国博士后基金项目“亲鱼免疫与斑马鱼母源性免疫的传递（2013M540729）”、陕西省博士后基金项目“斑马鱼母源性补体的作用机制研究”、渭南市基础研究计划项目“斑马鱼免疫球蛋白的个体发育研究（2015KYJ-2-5）”的资助下对斑马鱼的母源性免疫开展了一系列研究，积累了大量研究资料。本书在介绍鱼类母源性免疫研究进展的基础上，重点介绍了编者在本领域的研究成果。

全书分为 6 章，第一章介绍鱼类母源性免疫研究概况；第二章主要介绍鱼类母源性免疫球蛋白研究进展；第三章主要介绍鱼类母源性补体研究进展；第四章主要介绍鱼类其他母源性免疫因子；第五章主要介绍鱼类母源性免疫的跨代传递机制与影响因素；第六章主要介绍鱼类母源性免疫的开发与应用。书中涉及的主要参考文献统一列于书后，以便读者进一步查阅。

由于书中涉及内容广，加之作者水平有限，定有许多不足之处。敬请各位专家和读者批评指正。

王志平

2015 年 5 月

目 录

作者简介

前言

第一章 鱼类母源性免疫概述	1
第一节 鱼类免疫学研究简史	1
一、国际鱼类免疫学研究简史	1
二、我国鱼类免疫学研究简史	2
第二节 鱼类的免疫组织与器官	2
一、胸腺	3
二、肾脏	4
三、脾脏	4
四、黏膜相关淋巴组织（黏膜免疫系统）	5
第三节 鱼类免疫系统概述	6
一、鱼类体液免疫	6
二、鱼类细胞免疫	8
第四节 鱼类母源性免疫及其对子代的保护作用	12
一、鱼类母源性免疫的发现	12
二、鱼类母源性免疫参与胚胎抗感染作用的实验证据	13
三、鱼类母源性免疫对子代的保护作用	16
第二章 鱼类母源性免疫球蛋白	19
第一节 鱼类免疫球蛋白研究概述	19
一、鱼类特异性免疫系统概述	19
二、鱼类免疫球蛋白研究进展	20
第二节 鱼类母源性免疫球蛋白的发现	23
第三节 鱼类母源性免疫球蛋白的功能	24
一、对子代的免疫保护作用	24
二、其他生物学作用	25
第四节 鱼类免疫球蛋白的个体发育	25

一、实验方法	26
二、实验结果	30
三、讨论	32
第三章 鱼类母源性补体	34
第一节 鱼类补体系统研究进展	34
一、鱼类补体系统的组成与激活	34
二、软骨鱼类补体系统研究进展	36
三、硬骨鱼类补体系统研究进展	36
四、鱼类补体的特异性	37
五、鱼类补体的生物学活性	40
第二节 鱼类母源性补体的发现及功能	43
一、鱼类母源性补体的发现	43
二、鱼类母源性补体的功能	44
第三节 鱼类母源性补体的作用机制	46
一、特异性抗体处理分析其作用机制	47
二、离子螯合剂处理分析其作用机制	49
三、特异性化学抑制剂处理分析其作用机制	52
第四节 鱼类母源性补体的跨代传递及其对子代的保护作用	54
一、材料与方法	54
二、实验结果	61
三、讨论	69
第五节 鱼类补体系统的个体发育	70
一、斑马鱼不同发育阶段中补体系统对 LPS 长期暴露的应答	71
二、斑马鱼不同发育阶段中补体系统对 LPS 短期暴露的应答	79
第四章 鱼类其他母源性免疫因子	85
第一节 鱼类母源性溶菌酶	85
一、鱼类溶菌酶概述	85
二、鱼类母源性溶菌酶的发现	86
三、鱼类母源性溶菌酶的功能	87
四、鱼类溶菌酶的个体发育	89
第二节 鱼类母源性凝集素	91

一、鱼类凝集素概述	91
二、鱼类母源性凝集素的发现及其功能	92
第三节 鱼类卵黄蛋白原	92
一、卵黄蛋白原概述	92
二、鱼类卵黄蛋白原的发现	93
三、鱼类卵黄蛋白原对子代的免疫保护作用	93
第五章 鱼类母源性免疫的跨代传递机制与影响因素	94
第一节 鱼类母源性免疫的跨代传递过程与机制	94
一、鱼类母源性免疫球蛋白的传递过程与机制	94
二、鱼类母源非特异性免疫因子的传递过程与机制	96
第二节 鱼类母源性免疫跨代传递的影响因素	97
一、遗传因素	97
二、环境因素	97
第六章 鱼类母源性免疫的开发与应用	99
第一节 鱼类母源性免疫的应用前景	99
第二节 提高鱼类母源性免疫跨代传递的主要措施	99
一、亲鱼筛选	100
二、亲鱼免疫	100
三、营养保障	101
四、其他措施	101
第三节 鱼类母源性免疫的研究趋势	102
主要参考文献	103

第一章 鱼类母源性免疫概述

就生物的数量和物种的数量而言，鱼类是脊椎动物中的优势物种，并且在水生环境中鱼类的重要性也是不言而喻的。人们把鱼当做一种重要的食物来源，世界渔业也开始面临越来越大的压力。这些压力不仅来自过度捕捞，也来自于环境变化和污染对鱼类的有害作用。养殖业也是如此，养殖操作的紧张环境，鱼群的拥挤和其他压力，常常导致鱼类暴发疾病。另外，从系统进化角度考虑，鱼类是最早具有特异性免疫的纲，关于鱼类免疫系统的研究将有助于阐明人类免疫系统的起源和进化。因此，鱼类免疫学相关研究日益受到重视。

第一节 鱼类免疫学研究简史

一、国际鱼类免疫学研究简史

鱼类免疫学研究开始于 20 世纪初期。1903 年，Babes 和 Riegler 首次发现了丁鳃 (*Tina vulgaris*) 可以产生凝集抗体。随后的近 40 年当中，许多学者逐步开始了鱼类免疫学的研究，如 Lele 等对鱼胸腺的研究。20 世纪 40 年代初，加拿大的 Duff 成功研制出了疥疮疫苗。从 20 世纪 40 年代到 50 年代末，由于抗生素药物的大量使用，使得鱼类免疫学研究的发展十分缓慢。到六七十年代，随着人类医学研究的快速发展，鱼类免疫学研究也逐渐进入了黄金时期。在这个时期，研究内容也相当广泛。1966 年，在美国的 Florida 州召开了鱼类免疫学会，提出了鱼类免疫应答的一些基本概念；1971 年，俄国学者 Lukyanenko 出版了第一本《鱼类免疫学》著作；1974 年，美国学者 Anderson 也出版了一本《鱼类免疫学》著作，对当时鱼类免疫学的应用做了全面的阐述；1975 年，疥疮疫苗进入了商品化生产和应用。因此，到 20 世纪 70 年代中期，鱼类免疫学雏形已基本形成。

进入 20 世纪 80 年代后，鱼类免疫学得到了更加迅速的发展。1981 年，在美国首次召开了鱼用疫苗和血清制品学会议；1984 年，在法国巴黎又举行

了一次国际鱼类疫苗接种研讨会，对鱼类免疫学基础理论和应用技术进行了全面的总结。随着人类医学研究的深入和生物学研究手段的更新，20 世纪 90 年代以来，鱼类免疫学研究更加深入。人类和许多高等脊椎动物中所具有的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、天然杀伤细胞、免疫球蛋白（immunoglobulin, Ig）和天然免疫因子等也相继在鱼类中发现。特别是 Ig 的研究已经进入分子水平。目前，已经有若干个鱼类 Ig 基因被克隆并进行了一级结构、基因重组和转录水平的剪接加工等研究，各种抗病疫苗也从灭活疫苗、化学疫苗、亚单位疫苗逐渐进入到基因疫苗的研制。关于鱼、虾免疫学的期刊 *Fish & Shellfish Immunology* 从 *Journal of Fish Biology* 中分离出来，专门报道该领域的最新研究和状况。但是总体看来，鱼类免疫学仍然是一门新兴学科。

二、我国鱼类免疫学研究简史

我国鱼类免疫学研究起步比较晚，从 20 世纪 80 年代才开始陆续有该方面的报道，并从人类医学免疫学的研究中独立出来。之后随着国际鱼类免疫学研究的不断深入，特别是随着国内外水产养殖业规模的不断扩大，鱼类病害防治和鱼类健康养殖日趋重要，鱼类免疫学的研究越来越受到学术界的重视。

现在，我国已将鱼类免疫学研究纳入国家重点支持的基础研究项目，陆续有很多科研院所和大专院校，如中国科学院水生生物研究所、中国科学院南海海洋研究所、中国科学院海洋研究所、国家海洋局第一海洋研究所、浙江大学、山东大学、山东师范大学和华中农业大学等开展了此方面的工作。相信在不久的将来，国内的鱼类免疫学研究不仅在研究鱼类免疫的基本规律上有所突破，同时在实践应用上也会具有更加广阔的前景。

第二节 鱼类的免疫组织与器官

免疫是机体识别“自身”与“非己”抗原，对自身抗原形成天然免疫耐受，对“非己”抗原产生排异作用的一种生理功能。生物体在识别和清除“非己”抗原过程中所产生的各种生物学作用总称为免疫功能，使机体发生免疫应答的物质基础即生物的免疫系统。鱼类的免疫功能还没有像高等哺乳动物那样发达，但鱼类已经具备了一个相当完善的免疫系统，在抵抗不良环境、保护鱼体健康的过程中发挥着重要作用。鱼类的免疫系统由免疫组织和器官、

免疫细胞、免疫分子 3 个层次组成。

免疫组织是免疫细胞发生、分化、成熟、定居和增殖及产生免疫应答的场所。鱼类的免疫组织和器官包括胸腺、肾脏、脾脏和分散的淋巴组织。它与哺乳动物在免疫器官组成上的主要区别在于没有脊髓和淋巴结。Ellis 等通过对鲑 (*Salmo salar*) 的研究发现胸腺是最早形成的淋巴组织, 其次是肾脏和脾脏。

一、胸腺

胸腺通常被认为是鱼类的中枢免疫器官, 也是最早出现的免疫器官。胸腺是鱼类淋巴细胞增殖分化的主要场所, 向血液和外周淋巴器官输送淋巴细胞。从鱼类胚胎发育过程看, 胸腺由第二鳃囊发育而成; 但从解剖学看, 胸腺上皮并没有完全从鳃上皮分离出来, 它们是相连的, 暗示着胸腺可能由鳃黏膜进化而来。胸腺位于鳃腔背后方, 表面有一层上皮细胞膜与咽腔相隔, 有效地防止了抗原性或非抗原性物质通过咽腔进入胸腺实质。鱼类胸腺是由淋巴细胞、淋巴母细胞、浆母细胞、分泌样细胞及其他游离间充质细胞、巨噬细胞、肌样细胞和肥大细胞等组成, 它们分布于由网状上皮细胞形成的基质网孔中。

鱼类胸腺可分为内区、中区和外区, 其中内区和中区在组织结构上分别类似于高等脊椎动物胸腺的髓质和皮质。在鲤鱼个体发育过程中, 受精 4 周以后, 胸腺“皮质”比“髓质”出现更多的程序性死亡细胞, 说明了皮质中胸腺细胞的连续选择。硬骨鱼类胸腺中血管的排列结构与高等脊椎动物十分相似, 提示硬骨鱼的胸腺中也可能存在形态学上的“血脑屏障”。Ellis 等的实验也表明硬骨鱼的胸腺可能存在有选择渗透作用的特殊血管内皮。

胸腺在鱼类免疫应答中的作用可能是参与 T 淋巴细胞的成熟, 在鱼类的细胞免疫和体液免疫方面发挥着重要作用。另外, 鱼类胸腺随着性成熟和年龄的增长或在环境胁迫和激素等外部刺激作用下可发生退化, 在一年内各月间胸腺细胞的数量、胸腺大小及其各区间的比例也呈现出规律性的变化。

20 世纪 70 年代, Ellis 和 Parkouse 的研究认为鱼类有类似哺乳动物的 T 细胞和 B 细胞, 它们都来源于胸腺器官。Blaxhall 等认为鱼类是由单一类型的淋巴细胞担负机体的免疫功能, 而淋巴细胞的异质性反映在同一类淋巴细胞的不同发育阶段。80 年代后, Tatner 等用胸腺依赖性抗原与胸腺非依赖性抗

原对照的研究证明了胸腺是 T 细胞源, Ellsasser 等用鲷鱼的胸腺与抗外周血 T 细胞的抗体来研究应答作用, 结果也证明胸腺中淋巴细胞是 T 细胞。现在已基本认为胸腺是 T 细胞的发源地, 主要承担细胞免疫的功能。

二、肾脏

肾脏是成鱼体内最重要的淋巴组织。鱼类的肾脏分为头肾、中肾和后肾。在肾脏的发育过程中, 成鱼的头肾逐步失去了排泄功能, 但保留了造血和内分泌功能, 从而成为造血器官和免疫器官。中肾作为排泄器官, 在造血和免疫方面也有一定作用。

通常认为, 头肾在鱼类的免疫应答过程中发挥着更为重要的作用。鱼类的头肾是继胸腺之后第二个发育的免疫器官, 不依赖抗原刺激可以产生红细胞和 B 淋巴细胞等, 相当于哺乳动物的骨髓; 另外, 受抗原刺激后, 头肾和中肾的细胞都会出现增生, 利用溶血空斑和免疫酶技术证实头肾和中肾中都存在着抗体分泌细胞, 表明头肾是硬骨鱼类重要的抗体产生器官, 相当于哺乳动物的淋巴结。因此可以说, 硬骨鱼类的肾脏有哺乳动物中枢免疫器官及外周免疫器官的双重功能。在鱼类头肾中, B 淋巴细胞总是散布于造血细胞和粒细胞生成细胞群中, 并与黑色素巨噬细胞中心和血管紧密相连, 提示它们在免疫防御中的协同作用。

三、脾脏

脾脏是鱼类免疫系统中最后发生的器官, 也是唯一能在硬骨鱼中发现的淋巴结样器官。脾脏是鱼类红细胞、中性粒细胞产生、贮存和成熟的主要场所。有颌鱼类才出现真正的脾脏, 软骨鱼的脾脏较大, 内含椭圆体, 主要是一个造血器官, 可分为红髓和白髓, 包括椭圆形的淋巴小泡, 内有大量淋巴细胞、巨噬细胞和黑色素吞噬细胞。硬骨鱼类的脾脏虽然没有明显的红髓和白髓, 但同时具有造血和免疫功能。另外, 硬骨鱼类的脾脏内也有明显的椭圆体, 具有捕集各种颗粒性和非颗粒性物质的功能。

与头肾相比, 脾脏在体液免疫反应中处于相对次要的地位, 而且受抗原刺激后其增殖反应以弥散的方式发生在整个器官上。有研究表明, 硬骨鱼类在受到免疫接种后, 其脾脏、肾脏等免疫器官的黑色素巨噬细胞增多, 可与

淋巴细胞和抗体聚集在一起,形成黑色素巨噬细胞中心,其作用主要包括 4 个方面:①参与体液免疫和炎症反应;②对内源和外源异物进行贮存、破坏和脱毒;③作为记忆细胞的原始发生中心;④保护组织免受自由基损伤。这与高等脊椎动物脾脏中的生发中心在组织与功能上相似。

四、黏膜相关淋巴组织(黏膜免疫系统)

黏膜免疫系统是指广泛分布于呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道黏膜下及一些外分泌腺体处的淋巴组织,这些黏液组织存在一些分散的淋巴细胞生发中心,但不具备完整的淋巴结构。黏膜免疫系统主要包括淋巴细胞、巨噬细胞和各类粒细胞等。鱼类皮肤、鳃和消化道是病原侵入鱼体的门户,当鱼体受到抗原刺激时,巨噬细胞可以对抗原进行处理和呈递,抗体分子分泌细胞会分泌特异性抗体,与黏液中的溶菌酶、抗蛋白酶、转移因子、补体、几丁质酶等物质一起组成抵御病原微生物的有效防线。它们是鱼类抵抗环境病原体侵袭的最初屏障,在鱼类的免疫保护方面发挥着重要作用。

目前,关于鱼类黏膜淋巴组织研究较为详细的仅有虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和鲑鱼。肠黏膜淋巴组织是鱼类主要的黏膜免疫反应位点,具有相对于系统免疫之外独立的免疫功能。Rombout 等曾研究发现鲤鱼肠上皮中有许多抗体阴性淋巴细胞,后肠中存在大量抗体阳性的巨噬细胞,固有膜中则有大量抗体阴性和阳性淋巴细胞及粒细胞并存。鲑鱼的胃肠道中有巨噬细胞和淋巴细胞。除肠道黏膜结合淋巴组织外,鱼类的鳃中存在抗体分泌细胞,皮肤黏液中也存在抗体和溶菌酶等免疫因子。

鱼类黏膜免疫系统相对于系统免疫具有一定的自主性,不同的免疫接种途径会引起两种体液免疫应答显示出不同的动态规律。鱼体经腹腔注射免疫后,黏液抗体效价会随着血清抗体效价而变化,呈现出血清抗体向皮肤黏液渗透的现象。但是近年来的研究表明黏膜免疫和系统免疫应答机制并不一致。例如,通过浸泡免疫引起的系统免疫应答有时很弱甚至检测不到,但是并不表明鱼体没有产生免疫应答,而是免疫应答主要发生在鳃局部的黏膜免疫组织中,而且在某些情况下血清抗体的浓度与免疫保护并不相关;用颗粒抗原进行浸泡免疫时,皮肤摄取抗原的能力远大于鳃;免疫 24 d 后,大部分颗粒抗原仍停留在皮肤和鳃中,只有少数抗原被转运到头肾和脾脏中。Cain 等发

现经肠道灌注可溶性抗原后, 肠道黏膜的抗体水平出现高峰的时间早于血清, 并认为黏膜抗体的产生并不依赖于外周血, 而是在局部免疫应答中产生的; 经腹腔免疫 4 周后, 头肾、血液和鳃中抗体分泌细胞数量同时达到峰值, 但直到第 7 周, 肠中才有显著反应。鱼体经口腔免疫后, 头肾、血液和肠中都出现抗体分泌细胞, 但是鳃中几乎没有, 而且在血清中可检测到的特异性抗体, 在皮肤黏液中检测不到。经肛门插管注射抗原可诱导肠和皮肤黏液及胆汁中产生特异性抗体, 而血清中没有。Xu 等也证实离体培养的皮肤还具有分泌特异性抗体的功能。这些证据都表明, 黏膜免疫系统可独立于系统免疫, 完成免疫应答。

第三节 鱼类免疫系统概述

像其他脊椎动物一样, 鱼类有着强大的防御机制, 可以抵抗微生物的感染。鱼类免疫系统可分为三大类: 体液免疫、细胞免疫和黏膜免疫。

一、鱼类体液免疫

(一) 特异性体液免疫

从进化方面看, 鱼类是最早同时具有获得性免疫和先天性免疫的脊椎动物。鱼类经抗原刺激后会产生特异性体液免疫, 在特异性体液免疫中最重要的是 Ig。研究表明, 硬骨鱼类的血清中可能存在 3 种 Ig, 即 IgM、IgD 和 IgT/Z。然而, 正因为特异性免疫在鱼类最早出现, 其功能与哺乳动物等温血动物相比显得很不完善。其抗体生成是温度依赖性的, 作为一种变温动物, 鱼类特异性免疫容易受到环境水温变化的影响, 而且其抗体产生的数量和抗体的多样性比较有限。与哺乳动物和鸟类相比, 鱼类抗体的形成期长, 抗体滴度增加缓慢。

鱼类 Ig 主要以可溶性的抗体形式分泌于血液和其他体液中介导体液免疫, 还可以作为抗原受体结合在 B 淋巴细胞膜表面, 即膜表面免疫球蛋白。目前已经从 30 多种硬骨鱼的血清中分离出了 Ig。鱼类 Ig 的重要生物学活性为特异性结合抗原, 并通过重链恒定区介导一系列生物学效应, 包括激活补体、调理吞噬、胞外杀伤及免疫炎症等, 最终达到排除外来抗原的目的。图 1-1 为斑马鱼两种适应性免疫反应示意图。

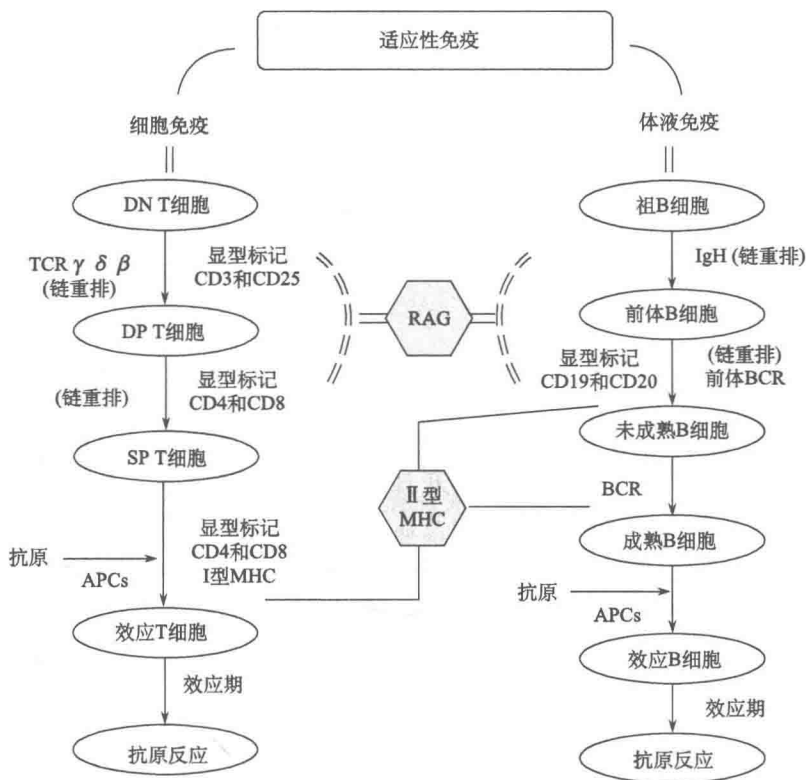


图 1-1 斑马鱼两种适应性免疫反应示意图

DN T 细胞指 $CD4^-/CD8^-$ 双阴性 T 淋巴细胞; DP T 细胞指 $CD4^+/CD8^+$ 双阳性 T 淋巴细胞; SP T 细胞指 $CD4^+/CD8^+$ 单阳性 T 淋巴细胞

鱼类的免疫球蛋白不仅存在于血清和组织液中，还存在于消化道、皮肤及鳃的黏液及胆汁中。与哺乳动物类似，鱼类的 Ig 亚型在基因型、结构、理化性质、生物学功能等方面各有差异。通常，IgM 是鱼类血液含量最丰富的 Ig 亚型，其主要作用是抑制、凝集并溶解入侵体内的细菌；IgD 与 B 细胞的分化和发育密切相关；IgZ 可能是哺乳动物 IgA 的同源物，主要参与黏膜免疫反应。

(二) 非特异性体液免疫

非特异性免疫激活迅速且对致病微生物具有广泛的抑制作用，故在鱼类中天然免疫要比温血动物（如哺乳动物和鸟类）担负更重要的作用，成为鱼类抵抗病毒、细菌等病原入侵的第一道重要的屏障。鱼类主要的非特异性体液免疫因子有以下几种：补体、干扰素、凝集素、溶菌酶、急性期蛋白等。

这些物质的作用一是直接分解细菌或真菌，如溶菌酶和补体；二是抑制细菌或病毒的复制，如急性期蛋白能使真菌、细菌和寄生虫的糖类和磷酸酯产生沉淀；三是作为调理素增加吞噬细胞的吞噬量或中和细菌。非特异性体液免疫因子不像免疫球蛋白那样仅特异性对某些抗原起作用，而是能够同许多种类的抗原物质和异物发生非特异性反应。它们对病原微生物和其他有害物质具有先天的无选择性的免疫功能，形成了鱼体内强大的多功能防御机制。

二、鱼类细胞免疫

硬骨鱼中存在着迟发型超敏反应、同种异体移植物排斥反应、混合淋巴反应、巨噬细胞移动抑制等现象，并且具有淋巴细胞毒素。用疫苗免疫某些鱼类之后，测得白细胞的吞噬指数及血清的调理指数都相应提高。这些现象使人们推测鱼体中存在着细胞免疫功能。另外，某些鱼类的机体受到侵染后，在体内还未检测到抗体大量表达的情况下，仍然具有不同程度的免疫保护力，这可能与细胞免疫作用具有一定的关系。但迄今为止，细胞免疫的详细生理机制尚不清楚。

凡参与免疫应答或与免疫应答有关的细胞均称为免疫细胞，主要存在于免疫器官和组织及血液和淋巴液中。免疫细胞分为两大类：一类是淋巴细胞，另一类是吞噬细胞。

（一）淋巴细胞

在哺乳动物中参与特异性免疫应答的淋巴细胞主要有两类，即 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞。Sizemore 等用抗斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 免疫球蛋白的抗体从外周血细胞中分离出膜表面免疫球蛋白阳性 (SmIg^+) 细胞，虽然能与脂多糖 (LPS) 作用但只有在辅佐细胞存在时才能对刀豆蛋白 A (ConA) 或 LPS 产生应答。Ellsaesser 等用 ConA 刺激斑点叉尾鲷胸腺细胞，发现在辅佐细胞存在时出现增生，但也有少数细胞对 LPS 产生应答。以上报道中的 SmIg^+ 细胞或胸腺细胞对 LPS 产生应答，说明细胞分离技术不够成熟或是胸腺中滞留少量 B 细胞。Blaxhall 等用 Percoll 不连续密度梯度对褐鲟 (*Salmo trutta*) 外周血淋巴细胞进行分离，发现分布于低密度的淋巴细胞大多表面光滑，对 PHA 的刺激较敏感，可能相当于哺乳动物的 T 细胞；而分布于高密度

的淋巴细胞大多表面被毛,电镜观察发现其胞质内具有较多线粒体,可能相当于哺乳动物的 B 细胞。另外,当使用抗鱼类免疫球蛋白的多抗时,几乎所有淋巴细胞都呈现出 SmIg⁺反应,这可能是因为多抗具有抗碳水化合物活性,与所有淋巴细胞非特异性发生反应。近年来,单克隆抗体技术、分子生物学技术和流式细胞术等新技术的应用,为淋巴细胞的辨别和分离提供了有效的手段和有力的证据,从而证实了鱼类同样存在相当于哺乳动物 T 细胞、B 细胞的两类淋巴细胞。

针对免疫球蛋白或 T 细胞、B 细胞的单克隆抗体,现已被用来研究个体发育中各组织不同淋巴细胞的分布和组成。鲤 (*Labeo rohita*) 在孵化后几周内, T 细胞在胸腺中达到 70%,在头肾中也有分布。但是以后除胸腺外,其余免疫器官中的 T 细胞逐渐减少甚至消失;孵化后第 2 周 B 细胞在头肾中出现,随后出现在脾和血液中,但是在胸腺和肠道中却很少。

在成体鱼类的头肾、脾和外周血中 B 细胞通常达到 22%~40%,而胸腺中仅有 2%~5%。在大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 和海鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 的肠黏膜和黏膜下层分布有较多的 T 细胞,而 B 细胞主要在固有层中参与黏膜免疫应答。

现在已经明确, T 细胞主要来源于鱼类的胸腺, B 细胞主要来源于头肾。硬骨鱼的 B 淋巴细胞能够表达膜表面免疫球蛋白,而 T 淋巴细胞则不能产生免疫球蛋白。两种淋巴细胞在外周血中都存在。利用分子生物学技术和流式细胞术等手段来区分两种类型的淋巴细胞,为淋巴细胞的研究提供了更加准确的技术保证。

(二) 吞噬细胞

鱼类吞噬细胞除作为辅佐细胞具有特异性免疫功能外,也是组成非特异性防御系统的关键成分,在抵御微生物感染的各个阶段发挥重要作用。其中,黏膜吞噬细胞构成抗感染的第一道屏障;单核细胞和粒细胞等血细胞作为第二道防线可以破坏出现在循环系统中的病原生物;最后器官和组织中具有吞噬活性的细胞能够摄取和降解微生物及其产物。

鱼类的吞噬细胞主要包括单核细胞、巨噬细胞和各种粒细胞。其中,单核细胞与哺乳动物相似,有较多的胞质突起,可进行活跃的变形运动,具有较强的黏附和吞噬能力,能够在血流中对异物和衰老的细胞进行吞噬消化。