

蓝 一, 陈成勋, 王庆奎, 等. 鱼类免疫因子作用机制及其相关技术的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(4): 1-8.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.04.001

鱼类免疫因子作用机制及其相关技术的研究进展

蓝 一¹, 陈成勋^{1,2}, 王庆奎^{1,3}, 王 茜^{1,2}

(1. 天津农学院水产学院, 天津 300384; 2. 天津市水生生态及养殖重点实验室, 天津 300384;

3. 天津市绿色生态饲料重点实验室, 天津 301800)

摘要: 鱼类疾病的不断暴发给水产养殖业带来了严重危害, 因此鱼病的免疫防治变得日趋重要。作为机体免疫的重要组成部分, 鱼类免疫因子日益受到研究者的重视。与人类和高等脊椎动物相比, 鱼类免疫因子的研究起步较晚, 但随着研究的深入, 已发现了多种鱼类免疫因子。本文对现目前已报道的鱼类免疫因子, 如白细胞介素、干扰素、抗体、补体、主要组织相容性复合体、Toll 样受体、抗菌肽、溶菌酶及凝集素等结构与功能、作用机制及它们的研究现状进行概述, 并对部分免疫因子在鱼类养殖中的应用进行了总结; 在鱼类免疫学研究中, 一些现代生物技术被广泛应用。本文概述了转录组技术在快速鉴定和筛选鱼类免疫相关基因、鱼类免疫信号通路的研究进展; 并对鱼类免疫因子的研究发展前景进行展望, 以期为更深入研究鱼类免疫系统的发生、探讨免疫因子在鱼类免疫中的作用和应用提供文献依据和参考, 促进鱼类养殖业的健康持续发展。

关键词: 免疫因子; 鱼类; 作用机制; 转录组技术; 研究进展

中图分类号: S942.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2024)04-0001-08

鱼类是广泛存在于全球各地水域中的生物, 是人类重要的食品资源之一。与陆生动物相比, 鱼类的免疫系统在进化过程中逐渐形成了独特特征。虽然鱼类的免疫系统与哺乳动物的免疫系统有所不同, 但它们也拥有自己的免疫组织、免疫细胞及免疫因子。鱼类免疫系统包括非特异性的防御系统和特异性的防御系统, 非特异性防御系统是先天形成, 仅能清除一般的异物, 而特异性防御系统是后天形成, 能够有目的地清除异物, 使机体获得更强的保护能力^[1]。鱼类免疫系统的发育、维持及正常运行均依赖于各类免疫因子的表达和调控^[2]。鱼类免疫因子的研究可为揭示脊椎动物免疫系统进化史、全面理解鱼类免疫系统组成及机制提供关键依据, 并在鱼类疾病防治及抗病育种中具有广阔的应用前景^[3-4]。免疫因子可协调展开免疫反应, 从而帮助鱼类对抗各种病原体的侵袭, 在保障其生

存和繁衍的同时, 也为鱼类养殖和经济发展提供有力的保障^[5]。

1 免疫因子的种类及作用机制

1.1 白细胞介素

白细胞介素 (interleukin, IL) 是一类细胞因子, 其结构由蛋白质组成。白细胞介素的结构因其种类而异, 但它们通常是由单个多肽链组成, 包括 1 个信号序列、1 个成熟肽序列和 1 个 C 末端序列, 这些多肽链通常包含 100~200 个氨基酸残基, 具有不同的序列和结构^[6]。白细胞介素的结构决定了它们的生物活性和功能。

白细胞介素广泛存在于哺乳动物和鸟类等高等脊椎动物中, 并在调节机体免疫反应中发挥关键作用。近年来, 越来越多研究表明, 鱼类也能产生和分泌多种类型的白细胞介素, 并且白细胞介素在调节鱼类免疫系统也起着至关重要的作用, 如 Wang 等的研究表明, 白细胞介素等细胞因子可促进免疫细胞的增殖、分化、成熟和活化^[7]; Secombes 等通过对白细胞介素的探究发现, 细胞因子可调节细胞间的信号传导和免疫反应^[8]; 薛婷婷等在对褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) 白细胞介素 21 (IL-21) 基因克隆及表达分析中发现, 细胞因子可以在免疫炎症和免疫应答中发挥重要作用^[9]。

收稿日期: 2023-06-06

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 31672264); 天津市淡水养殖产业体系创新团队建设项目 (编号: ITTFRSA2021000); 天津市海水养殖产业技术体系创新团队项目 (编号: ITTMRS2021000)。

作者简介: 蓝 一 (1999—), 男, 天津人, 硕士研究生, 主要从事水产增养殖的研究。E-mail: layi3018@163.com。

通信作者: 王 茜, 博士, 教授, 主要从事水产增养殖、水产遗传与育种的研究。E-mail: wqgt1999@163.com。

研究发现,鱼类中具有多种类型的白细胞介素,这些白细胞介素在鱼类中的分布和表达水平与不同的物种、组织和免疫状态等因素有关。其中,IL-1 是最早被发现的白细胞介素之一,Ogryzko 等通过研究 IL-1 发现,其信号传导失调可以导致许多病理,从而诱发多种炎症性疾病,结果表明 IL-1 在鱼类免疫系统中起着诱导炎症反应、调节细胞增殖和分化等多个方面的作用^[10];Sáenz-Martínez 等在感染鲑鱼皮氏菌的虹鳟鱼(*Oncorhynchus mykiss*)脾脏中检测到了来自 IL-8 的 C 端片段存在,证明虹鳟鱼 IL-8 的 C 端虽被裂解,但保留了其抗菌特性,为 IL-8 具有调节鱼类炎症反应和吞噬作用提供依据^[11];IL-12 是一种多效性细胞因子,Tsai 等认为 IL-12 能够增强鱼类先天性和适应性免疫应答,并可应用于鱼类抗病原体感染的基本疫苗制剂^[12];IL-17 是一种标志性的炎性细胞因子,Zhang 等发现病原体通过独特的受体亚类 IL-17R 发出信号,可诱导多种细胞产生相关免疫因子,并在宿主防御自身免受病原体入侵中起着关键作用^[13];IL-21 在应对炎症和自身免疫性疾病的发展中起关键作用,Zhang 等对草鱼(*Ctenopharyngodon idella*) IL-21 的特征和生物活性进行研究,首次揭示了鱼类 IL-21 的产生及功能与炎症反应的密切关系,并突出了其抗菌和抗炎能力^[14]。

1.2 干扰素

干扰素(interferon, IFN)早在 20 世纪 80 年代已被科学家关注,但在鱼类中干扰素研究开展较晚,直至 2003 年,鱼类干扰素才被成功克隆。随着硬骨鱼类的干扰素基因被陆续报道,鱼类干扰素的结构越来越明晰^[15]。哺乳类、爬行类和鸟类等动物干扰素基因仅有单个外显子,而鱼类干扰素则截然相反,鱼类 I 型干扰素基因包含 5 个外显子区域和 4 个内含子区域,这是鱼类 IFN 独特的结构^[16]。

IFN 是一类能够诱导细胞产生抗病毒状态的细胞因子,它不直接参与抗病毒的生物学过程,而是通过产生靶基因下游的效应基因来调控病毒的感染,具有多效能、低分子量、分泌型等特点^[17]。通过对细胞表面的受体结合,启动一系列信号传导通路,发挥免疫调节作用,如:IFN 在针对鱼类病毒感染的先天免疫应答中起着至关重要的作用;Ohta 等在对七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)的研究中,报道了来自七带石斑鱼 IFN 基因的克隆和表征,结果表明重组 IFN 蛋白具有抗病毒作用^[18];

Matsuura 等在 IFN 研究中指出 IFN γ 是一种关键的细胞因子,可促进和协调细胞内病原体先天性细胞和适应性细胞介导的免疫^[19]。

1.3 抗体

抗体是脊椎动物为应对外来入侵蛋白(抗原),保护机体不被伤害而分泌的,在体内进行循环的蛋白质分子,是机体体液免疫的主要参与者。作为一种功能蛋白,抗体整体由 4 条多肽链构成,分别为 2 条结构相同的轻链(L chain)和 2 条结构相同的重链(H chain),4 条链形成典型的“Y”形抗体结构,经氨基酸序列比较研究表明,抗体的轻链和重链均由一系列结构相似的单元结构域重复连接组成,每一个单元结构域内大约含有 110 个氨基酸残基,被称为 Ig 结构域^[20]。

抗体,也称为免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig),是适应性免疫系统的主要体液免疫成分,Ig 分为分泌型 Ig 和膜型 Ig 2 种类型,具有抗体活性的分泌型 Ig 主要存在于体液中,与抗原中有关的膜型 Ig 作为抗原受体分布于 B 细胞膜表面^[21]。目前,鱼类抗体主要分别为 IgM、IgD、IgT 和 IgZ 等^[22-25]。硬骨鱼类淋巴细胞由 B 细胞和 T 细胞组成,它们可调控机体发生适应性免疫反应。B 细胞主要作用是参与体液免疫应答并分泌抗体,主要功能包括分泌抗体和呈递抗原^[26];Zhao 等研究大西洋鲑鱼(*Salmo salar*) MHC 基因,成功生产了针对 MHC I 类重链和 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)的单克隆抗体,显示出与重组分子的结合,得出了鲑鱼的抗体通过与病原体特定的抗原结合形成免疫复合物并参与清除病原体的结论^[27]。

1.4 补体

硬骨鱼类的补体系统由 30 多种成分组成,这些成分主要由 3 种途径来激活,C3 是补体激活途径中的核心组分,其激活对于补体系统的功能至关重要,其中, α 链(120 ku)和 β 链(75 ku)通过二硫键和非共价力连接而成^[28-29]。Kato 等的研究表明,在激活后,C3(约 190 ku 的糖蛋白)被 C3 转化酶裂解为 C3a(约 8 ku 的多肽)和 C3b(约 175 ku 的糖蛋白),其中,C3a(C3 α 链的 N 端 8~10 ku 的片段)具有一定的生物活性,主要表现为促进炎症反应、调节免疫细胞功能、增加血管通透性等作用^[30]。

补体系统是机体免疫的重要组成部分,其功能主要是促进吞噬和溶解靶细胞,由于鱼类生存在有众多病原菌的水环境中,因此补体系统在硬骨鱼类

的先天免疫防御中起着至关重要的作用。含 C1q 结构域蛋白(C1q domain containing, C1qDC)是经典补体途径的起始分子,能够识别免疫复合物,启动补体系统经典途径,对免疫有重要影响;Li 等研究了褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)C1qDC 的免疫学特征,表明褐牙鲈 C1qDC 通过与 IgM 相互作用,对细菌感染产生积极影响^[31];Qi 等在对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)的免疫应答试验中验证补体是一种复杂的先天免疫监视系统,对宿主体内平衡、消除炎症和防御病原体方面起着关键作用^[32]。

1.5 主要组织相容性复合体

主要组织相容性复合体(MHC)是脊椎动物中一组高度多态的蛋白复合体,其主要功能为呈递抗原,使其为 T 细胞所识别,激活体液免疫和细胞免疫。与哺乳类相似,鱼类 MHC 主要分为 MHC I 和 MHC II 2 类^[33]。其中,MHC I 复合体由 1 条具有多态性的 MHC I 蛋白重链与 1 条 β_2 -微球蛋白轻链非共价结合组成。

MHC 类分子在鱼类免疫系统中起着重要的作用,可在鱼类的体内展示各种蛋白质片段(抗原),并通过 T 细胞的识别来引发免疫应答。同时,MHC 类分子不仅在免疫反应和非自身识别中发挥着核心作用,还参与了自身免疫调节和免疫耐受等方面,Dirscherl 等重点讨论斑马鱼(*Danio rerio*)MHC I 类基因的多面性,分析不同 I 类谱系间已知和假设的功能差异,为该物种多样化的 MHC 位点提供新的线索^[34];Li 等通过确定香鱼(*Plecoglossus altivelis*)MHC II 类分子的 α (*PaMHCII α*)链基因,发现 MHC II 类分子仅存在于抗原呈递细胞上,为 MHC II 类分子在脊椎动物免疫系统中起主要作用提供依据^[35]。

1.6 Toll 样受体

Toll 样受体(TLRs,Toll like receptors)能特异识别病原相关分子模式(PAMP),是一类在先天免疫和获得性免疫中均发挥重要作用的蛋白质。TLRs 为 I 型跨膜糖蛋白,胞外结构域由 19~25 个前后相连的片段所组成,各片段包括 24~29 个氨基酸残基,带有 $x-L-x-x-L-x-L-x-x$ 基序(L 为亮氨酸, x 为任意氨基酸),称为富含亮氨酸的重复体(leucine-rich repeat, LRR),简称亮氨酸重复序列。

TLRs 基因在宿主防御系统第一防线中起到防止病原体附着和进入的角色,具有物种特异性。TLRs 具有 LRRs 结构域的胞外区,能促进 PAMPs 的

识别;跨膜区,便于与膜体附着;以及含 TIR 结构域的胞内区,可进行下游信号转导。在鱼类中,TLR9 是识别 DNA 中寡核苷酸分子(CpG ODN)的受体,CpG ODN 常见于细菌和病毒的基因组^[36]。

Gao 等采用同源克隆和 cDNA 末端快速扩增(RACE)技术克隆了银鲌(*Pampus argenteus*)中 TLR2 的全长 cDNA,结果表明,TLR2 在宿主的先天免疫中对病原微生物防御起着至关重要的作用^[37];TLRs 能够通过激活信号传递通路,激发宿主的免疫防御反应,在鱼类中,TLRs 的信号传递通路主要包括 2 种类型:MyD88 依赖性和 TRIF 依赖性^[38];TLRs 在鱼类中可调节树突状细胞(DCs)的成熟和抗原呈递,也对免疫应答起到重要的调节作用。具体来说,TLRs 激活 DCs 后能够促进其成熟和功能的增强,从而提高对病原菌的识别和抗原呈递能力,Lauriano 等的研究为上述结论提供支撑^[39]。

1.7 抗菌肽

抗菌肽(AMPs)是生物体产生的一类小分子多肽,对真菌、细菌等病原微生物、具有抑制或杀灭作用,通常被称为“第二防御体系”。按照结构特点鱼类抗菌肽可分为两大类,一类是不含半胱氨酸、具有疏水性或双亲性 α 螺旋结构的抗菌肽,包括 Piscidins、Pleurocidins 和 Misgurins 等;另一类是含有多个半胱氨酸 β 折叠结构的抗菌肽,包括 Hepcidin、Cathelicidins 等。Piscidins 类抗菌肽家族中的成熟肽富含组氨酸和苯丙氨酸,长度一般为 18~26,目前在莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)、条纹狼鲈(*Morone saxatilis*)和条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)中发现 5 个亚型,主要在鳃、皮肤和肠等器官组织中表达,除了具有广谱抗菌性外,还具有抗真菌、抗寄生虫和抗病毒的活性^[40]。Defensins 类抗菌肽含有 18~45 个氨基酸残基,呈阳离子,其中,包含 6~8 个保守的半胱氨酸,具有广谱的抗微生物活性。Defensins 是一类具有抗微生物活性的非特异性免疫分子,通常具有由二硫键稳定的 α 螺旋或 β 折叠结构,根据半胱氨酸的位置和所形成的二硫键结构,可被分为 α -Defensins、 β -Defensins 和 θ -Defensins,鱼类体内被发现的 Defensins 通常为 β -Defensins,具有 6 个保守的半胱氨酸残基,在斑马鱼、虹鳟等鱼的肝脏、肌肉、皮肤、肠道和鳃等多种组织中表达^[41]。Hepcidin 又称铁调素,是一种富含半胱氨酸的抗菌多肽,其前肽含有 85 个氨基酸残基,包含信号肽、前肽和成熟肽 3 个部分。前肽转化

酶通过识别 C 端的 R - X - K/R - R 结构进行前肽酶切,形成有活性的成熟 Hepcidin 抗菌肽^[42]。鱼类 Hepcidin 具有一定的抗肿瘤、抗病毒活性,还作为免疫调节因子调控鱼类的免疫功能,参与肝细胞和巨噬细胞铁释放的调控^[43-44]。Cathelicidins 是一类成熟肽序列相似性很低的抗菌肽,广泛存在于脊椎动物体内,它是根据保守的 N 端 Cathelin 结构域命名的,该区域保守的 4 个半胱氨酸残基形成 2 对二硫键。在斑马鱼体内鉴定得到了来源于鱼类的 Cathelicidins,该类抗菌肽具有强大的免疫调节功能和广谱的杀菌作用^[45-46]。

1.8 溶菌酶

溶菌酶是生物体内重要的非特异性免疫因子,与抵御细菌感染的免疫功能密切相关^[47]。水产动物在抵抗外来病原体的入侵时,溶菌酶能够增强其他免疫因子的抗菌活性,并通过协同作用来抵制病原微生物的入侵^[48]。溶菌酶是一种天然的碱性抗菌蛋白,通过水解肽聚糖 β - 1,4 - 糖苷键发挥溶菌功能^[49]。根据来源、免疫特性、结构及催化特征的不同,动物体内的溶菌酶主要分为 G 型、C 型和 I 型,广泛存在于免疫器官和细胞中^[50]。近年来,越来越多研究发现,水生动物 G 型溶菌酶在不同组织中发挥一定的免疫防御作用,如紫贻贝 (*Mytilus edulis* linnaeus)、长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 和栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 等^[51-53]。

1.9 凝集素

凝集素是一类含有糖识别结构域 (carbohydrate recognition domain, CRD), 可与糖类可逆结合的非酶、非抗体的蛋白质或糖蛋白,凝集素还参与凝血、细胞黏连、蛋白转运及创伤修复等系列的生理进程^[54]。目前,从鱼类中鉴定出的凝集素主要为半乳糖凝集素 (galectins)、C - 型凝集素 (C - type lectins) 和 F - 型凝集素 (F - type lectins) 等,具有广谱的抗菌、病毒、寄生虫和真菌活性,及免疫调节的功能^[55]。半乳糖凝集素广泛表达于各种细胞,典型的特征是具有保守的 CRD,根据分子结构可分为 3 类:原型 (proto), 包含 1 个 CRD,多以非共价键连接的二聚体形式存在;串联重复型 (tandem - repeat), 包含 2 个由短肽相连的 CRD,多以单体的形式发挥作用;嵌合型 (chimera), 在 C 端含有 1 个 CRD, N 端富含脯氨酸和甘氨酸,一般形成多聚体发挥作用^[56]。

2 转录组技术在免疫因子研究中的应用

2.1 鱼类免疫相关基因的研究

转录组技术是一种利用高通量测序技术对细胞或组织中所有的 mRNA 进行测序和分析的方法。通过转录组技术,可对这些免疫因子的基因表达谱进行分析,了解它们在不同生理和病理状态下的变化规律,并对免疫因子在鱼类免疫系统中的表达及其调控机制进行深入的研究。目前,转录组技术已成功应用于免疫相关基因的研究,通过转录组技术,研究者已经发现了许多鱼类免疫相关基因。如,虹鳟的 *TLR4*、翘嘴鲌 (*Siniperca chuatsi*) 的 *NLRP3*、鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 的 *NLR - C* 等^[57-59]。这些基因在免疫反应过程中起到关键作用,对于探究鱼类免疫机制具有重要意义,如, Yang 等使用 HiSeq™2 500 (Illumina) 获得了感染和未感染的草鱼脾脏转录组图谱,对感染嗜水气单胞菌的草鱼脾脏进行转录组分析,发现 2 121 个差异表达基因,对 105 个重要的免疫相关基因进行了分类和讨论,为了解草鱼对嗜水气单胞菌感染的免疫反应提供依据^[60];许宝红分析了感染呼肠孤病毒 (GCRV) 的草鱼脾脏转录组,为后续分子标记辅助育种或转基因育种方法解决草鱼出血病问题提供基础^[61];潘玉财采用 RNA - Seq 技术对感染和未感染传染性造血器官坏死病病毒 (IHN) 的虹鳟脾脏进行了转录组分析,筛选并获得参与抗 IHN 非特异性免疫反应的关键基因,这些免疫相关基因的表达,提示它们在调控虹鳟抗 IHN 免疫过程中发挥了重要作用^[62];Niu 等研究模拟了自然的寄生虫感染,并对受感染的金鲳鱼 (*Trachinotus ovatus*) 鱼鳃进行转录组分析,探索宿主对眼点淀粉卵涡鞭虫 (*Amyloodinium ocellatum*) 侵袭的免疫反应,确定了 4 388 个差异表达基因,揭示了眼点淀粉卵涡鞭虫侵袭引起的宿主免疫反应中编码和非编码 RNAs 的分子变化,对全面了解眼点淀粉卵涡鞭虫侵袭的宿主免疫反应提供很大帮助^[63]。以上研究表明,转录组分析可获得丰富的免疫学信息,为分析鱼类对病原体入侵的防御机制及进一步研究鱼类免疫学奠定了基础。

随着利用转录组研究鱼类相关免疫基因技术的不断发展,研究者们筛选出具有抗病性优势的基因,该研究的开展将对抗病性育种和提高水产养殖的经济效益具有重要指导意义,同时为进一步理解水产动物免疫机制提供新思路。如, Zhao 等通过

RNA 测序技术对 2 组幼蚌进行基因分型,开发抗病单核苷酸多态性(SNP)标记,结果表明 SNPs 与疾病具有显著相关性,此研究有助于深入了解水产动物免疫相关基因抵抗病原体感染过程中的作用,也为抗病性育种的研究提供理论依据^[64]。

2.2 鱼类免疫信号通路的研究

转录组技术在鱼类免疫信号通路研究中具有广泛应用,近年来出现多种信号通路的研究,其中,Toll 样受体信号通路、NLR 信号通路和 JAK - STAT 信号通路等在鱼类免疫反应中发挥着重要作用^[65-67]。通过对差异表达基因的功能注解和信号通路分析,研究者可揭示鱼类免疫反应过程中的关键调控节点和信号通路,如,Huang 等利用转录组高通量测序分析点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)虹彩病毒(SGIV)感染点带石斑鱼脾脏的基因表达情况,表明某些与丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、趋化因子、Toll 样受体信号通路和 RIG - I 信号通路相关的基因在 SGIV 感染后出现了交替,证明 Toll 样受体信号通路和 RIG - I 信号通路参与了点带石斑鱼免疫反应过程,推测 MAPK 在病毒感染过程中可能发挥着关键作用^[68];Mo 等为了研究刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)对虎龙石斑鱼杂交种(*Epinephelus fuscogutatus* × *Epinephelus lanceolatus*)的感染程度,从而对其进行了比较转录组分析,在对照组和感染组间的虎龙石斑鱼杂交种皮肤中鉴定出 6 464 个 DEGs,表明先天免疫成分,如补体系统、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)、白细胞介素 17(IL - 17)信号通路和 TLR 信号通路,在感染期间上调,结果表明,C. *irritans* 感染可诱发虎龙石斑鱼杂交种的显著炎症反应,其中,IL - 17 信号通路和 TLR 信号通路在其免疫反应中起到重要作用^[69]。

3 免疫因子在鱼类养殖中的应用

免疫因子在鱼类免疫方面的应用越来越广泛。通过研究鱼类免疫因子,可开发出多种免疫工具和免疫保健品,如疫苗、饲料添加剂等,以期来提高鱼类抗病能力、降低养殖成本、保障鱼类生产和经济效益。近年来,研究人员已经开始尝试利用基因修饰技术改良鱼类免疫系统,使其更为强大、高效和可靠。

3.1 饲料添加剂

某些情况下,在饮食中添加鱼类免疫调节剂已

被证明可增强鱼类先天免疫防御机制。近期研究表明,在鱼蛋白水解物中发现的多肽级分子可能会刺激鱼类中对抗病性很重要的因子。Serradell 等研究发现,在海鱼日粮中使用陆地原料替代鱼粉(FM)和鱼油(FO)可能会影响鱼类的生长性能和健康,同时在膳食中补充转基因生物和植物化合物会增加已经感染疾病鱼类的血清溶菌酶,将免疫因子添加到鱼类饲料中,能够提高鱼类的免疫力,增强其抗病能力^[70];Gisbert 等研究水解虾蛋白(shrimp protein hydrolysate, SPH)对幼年挪威舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)体细胞生长性能、先天免疫应答的影响,通过挪威舌齿鲈在感染弧菌(*Vibrio*)时的死亡率,发现日粮中加入 SPH 显著增强了体液非特异性免疫应答(溶菌酶、溶菌和补体活性),显示出 SPH 对促进鱼类健康和预防疾病具有免疫调节作用^[71]。

3.2 疫苗

利用免疫因子制备的疫苗可有效地预防鱼类病原体感染。如,Yuan 等为提高草鱼抗 GCRV 的能力,研究制备干扰素 α (IFN - α) 疫苗,通过腹腔注射,评估 IFN - α 疫苗对草鱼感染 GCRV 的免疫反应,结果表明,IFN - α 疫苗可启动先天免疫应答,保护草鱼免受 GCRV 感染,为预防 GCRV 感染提供有效的策略^[72];近年来,使用分子佐剂来提高 DNA 疫苗免疫原性的研究越来越多,Huang 等为提高点带石斑鱼 DNA 疫苗(pcacfA)的效果,构建质粒 pcMyD88,并通过与编码 AcfA 的 DNA 疫苗联合注射来探索 MyD88 作为分子佐剂的能力,结果显示 pcMyD88 增强了 pcacfA 对溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)感染的免疫保护,证明 MyD88 是 pcacfA 的有效佐剂^[73]。以上利用免疫因子所制备的疫苗能够为提高鱼类的免疫力及抗病毒能力提供佐证。

4 未来与展望

未来,随着对免疫因子机制的深入研究和应用技术的不断发展,免疫因子在鱼类养殖中的应用和前景将会更加广阔和重要。主要有以下方面的趋势。

4.1 转录组技术的发展

转录组技术为鱼类免疫因子研究提供了一种高效、全面、系统的方法,可深入了解鱼类免疫因子在免疫反应中的作用及其调控机制。未来,随着转

录组技术的不断发展和完善,我们有理由相信,将有更多的鱼类免疫因子得到深入研究,并为鱼类养殖的健康管理和免疫防治提供更为有效的支持。

4.2 基因编辑技术的发展

基因编辑技术在免疫因子应用方面具有广阔的未来发展前景。通过基因编辑技术,可精确地修改免疫因子的基因序列,使其在鱼类体内的表达量和活性得到优化,提高鱼类对病原体的免疫能力。这不仅可有效预防和控制鱼类疾病的发生,还能够提高养殖效益和水产品的质量,具有重要的经济和社会意义。此外,基因编辑技术还可用于研究免疫因子的功能和调控机制,为深入理解鱼类免疫系统提供新的思路和方法。

4.3 精准免疫技术的发展

精准免疫技术是指根据鱼类免疫系统的特点,精确地选择和设计免疫因子,从而实现精准的免疫治疗和预防。利用精准免疫技术,可快速、准确地诊断鱼类疾病,并且可对鱼类免疫基因进行编辑和调控,从而增强或抑制鱼类免疫反应,提高其抗病能力。未来,随着精准免疫技术的不断发展和应用,将有助于提高鱼类的免疫力,减少疾病发生和死亡率,促进养殖业的可持续发展。

4.4 免疫因子与微生物群落的相互作用

微生物群落是指生活在鱼类肠道和周围环境中的微生物群体。近年来的研究表明,免疫因子与微生物群落间存在着复杂的相互作用关系^[74]。未来,将从深入了解免疫因子与微生物群落的相互作用入手,探究其对免疫调节和养殖效益的影响,为鱼类养殖业的发展提供新的思路和途径。

总之,免疫因子作为一种重要的免疫调节分子,在鱼类养殖中具有广泛的应用前景,要继续深入研究免疫因子的机制和应用,发掘新型免疫因子,提高免疫因子的应用效果和经济效益,促进我国鱼类养殖业的快速发展。

参考文献:

- [1] 姚一彬,刘臻,鲁双庆,等. 鱼类免疫因子作用机制及其应用[J]. 湖南饲料,2011(3):32-35.
- [2] Mokhtar D M, Zacccone G, Alesci A, et al. Main components of fish immunity; an overview of the fish immune system[J]. Fishes, 2023, 8(2):93.
- [3] Zhu L Y, Nie L, Zhu G, et al. Advances in research of fish immune-relevant genes: a comparative overview of innate and adaptive immunity in teleosts [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2013, 39(1/2):39-62.
- [4] Kordon A O, Pinchuk L, Karsi A. Adaptive immune system in fish [J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2021, 22(4):TRJFAS20235.
- [5] 徐昊,梁化亮,戈贤平,等. 团头鲂必需氨基酸营养研究进展[J]. 动物营养学报,2020,32(11):5105-5116.
- [6] Kwak A, Lee Y, Kim H, et al. Intracellular interleukin (IL) - 1 family cytokine processing enzyme [J]. Archives of Pharmacal Research, 2016, 39(11):1556-1564.
- [7] Wang W, Wang J Y, Lei L N, et al. Characterisation of IL - 15 and IL - 2R β in grass carp: IL - 15 upregulates cytokines and transcription factors of type I immune response and NK cell activation [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 107:104-117.
- [8] Secombes C J, Wang T, Bird S. The interleukins of fish [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2011, 35(12):1336-1345.
- [9] 薛婷婷,郑津辉,周密,等. 褐牙鲢白细胞介素 21 基因克隆及表达分析[J]. 水产科学,2020,39(2):151-159.
- [10] Ogryzko N V, Renshaw S A, Wilson H L. The IL - 1 family in fish: swimming through the muddy waters of inflammasome evolution[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2014, 46(1):53-62.
- [11] Sáenz - Martínez D E, Santana P A, Aróstica M, et al. Immunodetection of rainbow trout IL - 8 cleaved - peptide: tissue bioavailability and potential antibacterial activity in a bacterial infection context[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2021, 124:104182.
- [12] Tsai J L, Jose Priya T A, Hu K Y, et al. Grouper interleukin - 12, linked by an ancient disulfide - bond architecture, exhibits cytokine and chemokine activities[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 36(1):27-37.
- [13] Zhang X Y, Cao M, Xue T, et al. Characterization of IL - 17/IL - 17R gene family in *Sebastes schlegelii* and their expression profiles under *Aeromonas salmonicida* and *Edwardsiella piscicida* infections [J]. Aquaculture, 2022, 551:737901.
- [14] Zhang A Y, Jian X Y, Wang D, et al. Characterization and bioactivity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) interleukin - 21: inducible production and involvement in inflammatory regulation [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 99:19-26.
- [15] Chen L, Liu J, Yan J, et al. Cloning and characterization of type IV interferon from black carp *Mylopharyngodon piceus* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2023, 140:104614.
- [16] Qi Z T, Nie P, Secombes C J, et al. Intron - containing type I and type III IFN coexist in amphibians: refuting the concept that a retroposition event gave rise to type I IFNs [J]. The Journal of Immunology, 2010, 184(9):5038-5046.
- [17] 孔德荣,王智诚,刘海映,等. 重组鱼类干扰素研究进展[J]. 河北渔业,2016(7):75-78,84.
- [18] Ohta T, Ueda Y, Ito K, et al. Anti - viral effects of interferon administration on sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30(4/5):1064-1071.
- [19] Matsuura Y, Takano T, Matsuyama T, et al. Development of a

- method to quantify endogenous IFN γ protein in amberjack species [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 107: 251 – 259.
- [20] 刘 峰, 李家乐. 草鱼免疫因子研究进展[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(4): 502 – 507.
- [21] Luo Y, Liu L, Yang P, et al. Advances in intestinal mucosal immunoglobulins of teleost fish (review) [J]. Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh, 2019, 71: 1 – 8.
- [22] Wu L T, Yang Y J, Gao A L, et al. Teleost fish IgM⁺ plasma – like cells possess IgM⁺ secreting, phagocytic, and antigen – presenting capacities [J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 1016974.
- [23] Gutzzeit C, Chen K, Cerutti A. The enigmatic function of IgD: some answers at last [J]. European Journal of Immunology, 2018, 48(7): 1101 – 1113.
- [24] Zhang Y A, Salinas I, Li J, et al. IgT, a primitive immunoglobulin class specialized in mucosal immunity [J]. Nature Immunology, 2010, 11(9): 827 – 835.
- [25] Ryo S, Wijdeven R H M, Tyagi A, et al. Common carp have two subclasses of bonyfish specific antibody IgZ showing differential expression in response to infection [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2010, 34(11): 1183 – 1190.
- [26] Zhu L Y, Lin A F, Shao T, et al. B cells in teleost fish act as pivotal initiating APCs in priming adaptive immunity: an evolutionary perspective on the origin of the B – 1 cell subset and B7 molecules [J]. The Journal of Immunology, 2014, 192(6): 2699 – 2714.
- [27] Zhao H, Stet R J M, Skjødtt K, et al. Expression and characterization of recombinant single – chain salmon class I MHC fused with β_2 – microglobulin with biological activity [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 24(4): 459 – 466.
- [28] 马自有. 草鱼补体分子 C3a 通过受体 C3aR 促进 IgM + B 细胞吞噬活性的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2022: 3 – 5.
- [29] Liao Z W, Wan Q Y, Yuan G L, et al. The systematic identification and mRNA expression profiles post viral or bacterial challenge of complement system in grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 86: 107 – 115.
- [30] Kato Y, Nakao M, Shimizu M, et al. Purification and functional assessment of C3a, C4a and C5a of the common carp (*Cyprinus carpio*) complement [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2004, 28(9): 901 – 910.
- [31] Li M F, Zhang H Q, Sun J S. A novel C1qDC (PoC1qDC) with a collagen domain in *Paralichthys olivaceus* mediates complement activation and against bacterial infection [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2023, 132: 108472.
- [32] Qi P Z, Wu B, Guo B Y, et al. The complement factor H (CFH) and its related protein 2 (CFHR2) mediating immune response in large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2018, 84: 241 – 249.
- [33] Cardwell T N, Sheffer R J, Hedrick P W. MHC variation and tissue transplantation in fish [J]. Journal of Heredity, 2001, 92(4): 305 – 308.
- [34] Dirscherl H, McConnell S C, Yoder J A, et al. The MHC class I genes of zebrafish [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2014, 46(1): 11 – 23.
- [35] Li C H, Ding F F, Chen J, et al. Cloning, expression, and functional analyses of MHC class II A in ayu, *Plecoglossus altivelis* [J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2018, 18(9): 1091 – 1100.
- [36] 王冠杰, 胡国斌. Toll 样受体 9 (TLR9) 在鱼类中的研究进展 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2021(2): 17 – 18.
- [37] Gao Q X, Xiao Y P, Zhang C J, et al. Molecular characterization and expression analysis of toll – like receptor 2 in response to bacteria in silvery pomfret intestinal epithelial cells [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 58: 1 – 9.
- [38] Tang X Q, Yang M J, Liu J X, et al. Identification, functional characterization and expression pattern of myeloid differentiation factor 88 (MyD88) in *Nibea albiflora* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2022, 124: 380 – 390.
- [39] Lauriano E R, Faggio C, Capillo G, et al. Immunohistochemical characterization of epidermal dendritic – like cells in giant mudskipper, *Periophthalmodon schlosseri* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 74: 380 – 385.
- [40] Chen W, Cotten M L. Expression, purification, and micelle reconstitution of antimicrobial piscidin 1 and piscidin 3 for NMR studies [J]. Protein Expression and Purification, 2014, 102: 63 – 68.
- [41] Chen Y Y, Zhao H, Zhang X S, et al. Identification, expression and bioactivity of *Paramisgurnus dabryanus* β – defensin that might be involved in immune defense against bacterial infection [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 35(2): 399 – 406.
- [42] Hilton K B, Lambert L A. Molecular evolution and characterization of hepcidin gene products in vertebrates [J]. Gene, 2008, 415(1/2): 40 – 48.
- [43] Chen J Y, Lin W J, Lin T L. A fish antimicrobial peptide, tilapia hepcidin TH2 – 3, shows potent antitumor activity against human fibrosarcoma cells [J]. Peptides, 2009, 30(9): 1636 – 1642.
- [44] 何建瑜, 刘慧慧, 薛超波. 鱼类铁调素 (Hepcidin) 的研究进展 [J]. 水产养殖, 2011, 32(7): 50 – 53.
- [45] Uzzell T, Stolzenberg E D, Shinnar A E, et al. Hagfish intestinal antimicrobial peptides are ancient cathelicidins [J]. Peptides, 2003, 24(11): 1655 – 1667.
- [46] Chen C, Wang A L, Zhang F, et al. The protective effect of fish – derived cathelicidins on bacterial infections in zebrafish, *Danio rerio* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 92: 519 – 527.
- [47] 张 洁, 王国栋. 杂色鲍 C 型溶菌酶基因的克隆及表达分析 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2020, 25(5): 328 – 335.
- [48] 魏世娜, 秦启伟. 鱼类溶菌酶和组织蛋白酶研究进展 [J]. 广西科学, 2018, 25(1): 32 – 35.
- [49] 颜倩倩, 陶 妍, 李 雯, 等. 鲤鱼 c 型溶菌酶在毕赤酵母中的重组表达及其抑菌活性 [J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(11): 1912 – 1922.
- [50] 邱本丹. 大黄鱼溶菌酶对鳃弧菌胁迫的响应研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2016: 6 – 9.
- [51] 岳志远, 张 仪, 郭云海, 等. 福寿螺感染广州管圆线虫后 G 型

- 溶菌酶基因差异表达分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2019, 37(3): 326–331.
- [52] Itoh N, Takahashi K G. A novel peptidoglycan recognition protein containing a goose – type lysozyme domain from the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J]. Molecular Immunology, 2009, 46 (8/9) : 1768 – 1774.
- [53] Zhao J M, Song L S, Li C H, et al. Molecular cloning of an invertebrate goose – type lysozyme gene from *Chlamys farreri*, and lytic activity of the recombinant protein [J]. Molecular Immunology, 2007, 44(6): 1198 – 1208.
- [54] El – Maradny Y A, El – Fakharany E M, Abu – Serie M M, et al. Lectins purified from medicinal and edible mushrooms: insights into their antiviral activity against pathogenic viruses [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 179: 239 – 258.
- [55] Ayona D, Fournier P E, Henrissat B, et al. Utilization of galectins by pathogens for infection [J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 1877.
- [56] 吴宝兰. 黄姑鱼抗菌肽和凝集素基因的免疫功能研究[D]. 厦门: 集美大学, 2021: 3 – 6.
- [57] 卢军浩, 李兰兰, 权金强, 等. 小瓜虫对虹鳟组织病理变化及 TLR 信号通路基因表达影响[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(4): 739 – 750.
- [58] 欧阳号锋, 韩 崇, 卢灏铭, 等. 翘嘴鲶雄性特异 *NLRP3* 基因 cDNA 的克隆及表达分析[J]. 海南热带海洋学院学报, 2021, 28(5): 1 – 8.
- [59] 张 珍, 杨桂文, 黄建勋, 等. 鲤鱼 *NLR – C* 基因分子克隆及其特性分析[J]. 济南大学学报(自然科学版), 2013, 27(1): 92 – 96.
- [60] Yang Y, Yu H, Li H, et al. Transcriptome profiling of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) infected with *Aeromonas hydrophila* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 51: 329 – 336.
- [61] 许宝红. 感病草鱼脾脏的比较转录组分析[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012: 1 – 11.
- [62] 潘玉财. 虹鳟感染 IHNV 后脾脏的转录组分析及复方中草药对其非特异性免疫的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2022: 1 – 13.
- [63] Niu J J, Sun M M, Li Z Y, et al. Whole transcriptome analysis provides new insight on immune response mechanism of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) to *Amyloodinium ocellatum* infestation[J]. Aquaculture, 2022, 560: 738396.
- [64] Zhao X L, Wan J J, Fu J P, et al. Identification of SNPs associated with disease resistance in juveniles of *Sinonovacula constricta* using RNA – seq and high – resolution melting analysis[J]. Aquaculture, 2021, 544: 737109.
- [65] 赵 飞, 谭爱萍, 孔璐璐, 等. 多子小瓜虫感染后草鱼 TLR 信号通路基因的表达动态[J]. 南方农业学报, 2019, 50(9): 1885 – 1892.
- [66] 高风英. 尼罗罗非鱼 RLR 与 NLR 家族 6 个基因的克隆、功能分析及 *IPS – I* 基因、*NOD1* 基因 SNPs 与抗病性状的相关性分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018: 7 – 13.
- [67] Liu Y P, Du H L, Wang S H, et al. Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) TNK1 modulates JAK – STAT signaling through phosphorylating STAT1 [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2021, 116: 103951.
- [68] Huang Y H, Huang X H, Yan Y, et al. Transcriptome analysis of orange – spotted grouper (*Epinephelus coioides*) spleen in response to Singapore grouper iridovirus [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 556 – 556.
- [69] Mo Z Q, Wu H C, Hu Y T, et al. Transcriptomic analysis reveals innate immune mechanisms of an underlying parasite – resistant grouper hybrid (*Epinephelus fuscogutatus* × *Epinephelus lanceolatus*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2021, 119: 67 – 75.
- [70] Serradell A, Torrecillas S, Makol A, et al. Prebiotics and phytonics functional additives in low fish meal and fish oil based diets for European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects on stress and immune responses [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 100: 219 – 229.
- [71] Gisbert E, Fournier V, Solovyev M, et al. Diets containing shrimp protein hydrolysates provided protection to European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) affected by a *Vibrio pelagius* natural infection outbreak[J]. Aquaculture, 2018, 495: 136 – 143.
- [72] Yuan X M, Yao J Y, Liu L, et al. Preparation of liposome – encapsulated interferon alpha (IFN – α) vaccine and anti – grass carp reovirus effect [J]. Aquaculture Research, 2019, 50(9): 2600 – 2607.
- [73] Huang Y C, Cai S H, Pang H Y, et al. Immunogenicity and efficacy of DNA vaccine encoding antigenic AcpA via addition of the molecular adjuvant Myd88 against *Vibrio alginolyticus* in *Epinephelus coioides* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 66: 71 – 77.
- [74] Connelly M T, McRae C J, Liu P J, et al. Lipopolysaccharide treatment stimulates *Pocillopora* coral genotype – specific immune responses but does not alter coral – associated bacteria communities [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2020, 109: 103717.