

文章编号: 1000- 0615(2003)01- 0090- 07

# 鱼类胸腺研究进展

谢海侠, 聂 品

(中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072)

关键词: 鱼类胸腺; 结构; 功能; 起源; 组织发生; 退化; T 细胞单抗

中图分类号: Q456 文献标识码: A

## Fish thymus research: a review

XIE Hai-xia, NIE Pin

(State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology,  
Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract** Fish thymus is phylogenetically the first well-developed lympho-epithelial structure for most fish species. It supplies microenvironment for T-cell differentiation and is directly involved in defense mechanism. The current status of the fish thymus research was reviewed in the following aspects: 1) structure and possible functions; 2) origin, histogenesis and degeneration; 3) ontogeny and function of T-lymphocyte obtained with monoclonal antibody.

**Key words** fish thymus; structure; function; origin; histogenesis; degeneration; monoclonal antibody to T-cell

胸腺是大多数鱼类最早发育的中枢淋巴器官<sup>[1]</sup>,也是产生功能性 T 淋巴细胞的主要免疫器官<sup>[2]</sup>。在鱼类免疫细胞的发生过程中,胸腺是最先检测到 T 细胞的淋巴组织,T 淋巴细胞在胸腺中发育成熟并被运送到头肾、脾等外周免疫器官<sup>[1, 3]</sup>。另外,许多研究表明鱼类的胸腺直接参与机体防御。例如,胸腺存在 B 细胞、浆细胞和空斑形成细胞,表明胸腺直接参与了抗体的产生<sup>[4]</sup>,即胸腺参与了体液免疫反应。在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的迟缓型超敏性反应中,大胸腺细胞数量急剧增多<sup>[5]</sup>,表明胸腺本身参与了细胞免疫<sup>[6]</sup>。胸腺切除实验表明,胸腺在免疫系统功能方面起重要作用<sup>[7, 8]</sup>,硬骨鱼早期胸腺切除严重削弱了鱼体的移植排斥反应及抗体产生能力<sup>[9]</sup>。如果在鱼类免疫系统尚未发育完善之前就开始免疫接种,就会引发免疫耐受<sup>[10]</sup>。所以,胸腺功能成熟的状况是制订鱼类最佳免疫时间和途径的重要参数,而其功能成熟又与胸腺的位置和微环境、结构和功能、起源和发生、退化以及胸腺细胞的分化等密切相关。为此,本文从这几方面综述有关胸腺的研究工作和进展。

## 1 胸腺的位置及其所处的环境

### 1.1 胸腺的位置

一般而言,鱼类胸腺位于鳃盖与咽腔交界的背上角处,左右对称分布。但鱼种类繁多,每种鱼胸腺的位置又不尽

收稿日期: 2002-03-20

资助项目: 国家杰出青年科学基金资助项目(30023035); 国家自然科学基金资助项目(30130150)

作者简介: 谢海侠(1976-),女,陕西宝鸡人,硕士,主要从事鱼类免疫学研究

通讯作者: 聂 品(1961-),男,湖北武汉人,研究员,主要从事鱼类寄生虫学及鱼类免疫学研究。Tel: 027- 87664736, E-mail: pinnie

相同。如鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)的胸腺位于第4和第5鳃弓的背方、翼耳骨之下<sup>[11]</sup>;胡子鲇(*Clarias batrachus*)的胸腺位于副呼吸器官的后方<sup>[11]</sup>;鳊(*Siniperca chuatsi*)的胸腺在鳃盖与背肌交界的背上角处;虹鳟的胸腺在咽腔上皮<sup>[12]</sup>; ( *Lophius piscatorius* ) 的胸腺特别大, 并且远离咽腔<sup>[13]</sup>; 喉盘鱼(*Gobiosax cephalus*) 每个咽腔都有1对胸腺, 外胸腺发育不良位于咽腔上皮, 而内胸腺则仅以其延伸的一小部分与咽腔上皮相连, 并且随着进一步发育而继续内陷<sup>[14]</sup>。一般而言, 硬骨鱼类的胸腺位于浅表, 并且在个体发育过程中不从咽腔上皮分离开来, 而软骨鱼的胸腺则有些内陷<sup>[15, 16]</sup>。Chilmonczyk<sup>[16]</sup>认为鱼类胸腺的内陷可能是脊椎动物由浅表胸腺向哺乳动物中央胸腺进化的第一步, 如 (*Raja eglanteria*) 的胸腺内陷而肺鱼的胸腺则在位置上与两栖类特别相象。

## 1.2 胸腺的外环境

胸腺的位置不同, 其所处的外环境也不同。比如虹鳟的胸腺位置浅表, 在整个发育过程中始终以咽腔上皮与水环境相接触。虹鳟幼鱼的胸腺表面有小孔存在<sup>[17]</sup>, 但 Tatner 等<sup>[18]</sup>用铁蛋白浸泡虹鳟幼鱼时, 发现铁蛋白只出现在胸腺实质中, 而咽腔上皮处并没有铁蛋白。Castillo 等<sup>[19]</sup>认为, 铁蛋白可能通过胸腺基膜处的结缔组织囊或者通过胸腺原基与咽腔上皮间的细胞外空间进入胸腺。可见, 外源物质不能直接通过胸腺表面的小孔进入胸腺。胸腺位于鳃的基部, 而鳃的表面具有丰富的免疫细胞, 可以在外界微生物或颗粒物质进入胸腺前摄取进入鳃腔的抗原或非抗原物质<sup>[18]</sup>。因此, 胸腺处于相对稳定的微环境中。

## 1.3 胸腺所处的内环境

鱼类的胸腺中也有血管-胸腺屏障结构, 但不及高等脊椎动物的完善。鱼类的胸腺往往在孵化后不久血管就遍布其中, 如虹鳟在孵化后第21天胸腺中开始出现血管<sup>[15]</sup>。胸腺皮质部血管管壁由内及外依次为: 有孔内皮细胞、不完整血管基膜、血管外周空间、间隔基膜、基底面上有小孔的上皮细胞。上皮细胞的胞质包绕着淋巴细胞。髓质部的毛细血管丰富, 其管壁由连接不紧密的内皮细胞构成<sup>[16]</sup>。由此可见, 胸腺中的淋巴细胞可以接收到血源异物的刺激。进入胸腺的血源异物先被抗原呈递细胞(antigen processing cell, APC)摄取, APC再将这一信号传递给胸腺细胞, 促使其分化。

# 2 胸腺的组织结构及其功能

## 2.1 胸腺皮质和髓质的结构及其功能

鱼类的胸腺由结缔组织囊包裹。所有板鳃类<sup>[20]</sup>及大多数硬骨鱼类的胸腺都分为两个区——皮质区和髓质区<sup>[21]</sup>, 而一些硬骨鱼类的胸腺则缺乏明显的皮、髓质分区而分成2到6个区<sup>[15]</sup>。鱼类胸腺的形态学研究以及抗胸腺细胞抗体的研究表明, 硬骨鱼胸腺的皮质区位于胸腺外层, 而髓质区位于胸腺内层<sup>[22]</sup>。皮质区由咽腔上皮及皮质部构成, 淋巴细胞处于由胸腺上皮细胞形成的网状结构中。髓质区位于内层, 由上皮细胞-淋巴细胞复合体及上皮细胞合胞体支持的中、小淋巴细胞构成。关于皮质和髓质的分区, 研究比较多的是鲤(*Cyprinus carpio*)。鲤胸腺皮质起初位于胸腺外区, 在发育过程中与髓质交错分布, 最终到达幼鱼胸腺内区。从幼鱼到成鱼, 胸腺从圆锥形变成不规则形状, 最终皮髓质错位分布<sup>[23]</sup>。

胸腺前体细胞通过穿囊途径进入胸腺。未成熟的胸腺细胞在胸腺皮质区通过与胸腺上皮相互作用接受阳性选择, 即胸腺中产生了 $\alpha$ 、 $\beta$ 链型的T细胞受体, 其能够识别由主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)呈递的外源多肽, 促使T细胞分化<sup>[2]</sup>。在此过程中皮质和髓质中发育的胸腺细胞与胸腺上皮表达的MHC呈递的自身多肽也相互充分作用, 并在髓质中通过与自身反应性T细胞作用, 经历阴性选择, 即在接收到抗原呈递细胞的凋亡信号后, 诱导胸腺细胞发生凋亡<sup>[24]</sup>。通过末端标记DNA片段检测到胸腺细胞的凋亡, 发现从受精后4周开始凋亡细胞更多地出现在皮质区, 表明胸腺细胞在皮质中是持续选择的<sup>[25]</sup>。缺乏皮髓分界的鱼类, 其胸腺的功能并未受到任何影响<sup>[15]</sup>。由此可见, 胸腺皮质和髓质为胸腺细胞的发育、分化和成熟提供了微环境。

## 2.2 胸腺上皮细胞及其功能

胸腺中上皮细胞合胞体构成的网状支架促进了胸腺细胞和上皮细胞的相互作用及胸腺细胞的分化<sup>[2]</sup>。大量研究表明, 胸腺上皮细胞具有异质性。鲤胸腺上皮细胞的分化从受精后1周开始直到幼鱼期才结束<sup>[25]</sup>。Romano 等<sup>[25]</sup>依据鲤胸腺上皮细胞的位置及细胞学特性将其分为4类: (1) 支持性上皮细胞, 分布于亚囊区、血管以及结缔组织小梁周围(peritrabecular zone); (2) 网状上皮细胞, 位于皮质和髓质中; (3) 胸腺抚育细胞, 位于皮髓质交界处; (4) 哈氏小体样结构,

位于髓质中。胸腺上皮和胸腺上皮细胞对淋巴细胞的抚育作用贯穿于胸腺发育的整个过程。

Wekerle等<sup>[26]</sup>在体外分离了大鼠胸腺上皮细胞复合体,并将其称作胸腺抚育细胞。Flaño等<sup>[27]</sup>结合体外分离和原位特性分析,证实了鱼类胸腺抚育细胞的存在。抚育细胞中存在角蛋白束,表明抚育细胞具有上皮细胞的性质<sup>[28]</sup>。淋巴细胞处于抚育细胞膜衬的空泡中。人们对抚育细胞的功能有不同的看法。Speiser等<sup>[29]</sup>认为胸腺抚育细胞既参与胸腺细胞的阳性选择又参与其阴性选择,并对T细胞的成熟起决定作用;Aguilar等<sup>[30]</sup>认为抚育细胞参与了胸腺的凋亡或凋亡胸腺细胞的清除,而细胞凋亡在胸腺T细胞的选择过程中起重要作用<sup>[31]</sup>。巨噬细胞散布在胸腺的皮质区,而在鲤巨噬细胞团出现于胸腺皮质和髓质的交界处<sup>[29]</sup>。同哺乳动物一样,鱼类巨噬细胞的胞质中存在大量凋亡细胞的残渣,这可能就是自身反应性胸腺细胞的淘汰方式<sup>[32]</sup>。除胸腺抚育细胞-淋巴细胞复合体外,鱼类还有关于巨噬细胞-淋巴细胞复合体的报道<sup>[33, 35]</sup>。所不同的是,处于巨噬细胞胞质空泡中的淋巴细胞有的是正常细胞,有的则正处于解体过程中。Flaño等<sup>[27]</sup>认为胸腺抚育细胞具有酸性成分,可能参与了抗原加工以及这类细胞所表达的MCH-II蛋白的生成过程。由此看来,胸腺抚育细胞主导了胸腺细胞的分化、成熟及凋亡过程。

## 2.3 胸腺中髓质上皮囊和哈氏小体的结构与功能

少数鱼类的胸腺中还有关于髓质上皮囊(epithelial cyst)和哈氏小体(Hassall's corpuscles)的报道<sup>[13]</sup>。髓质上皮囊和哈氏小体是胸腺上皮的衍生物,是高等脊椎动物胸腺的典型结构<sup>[16]</sup>。髓质上皮囊在软骨鱼中比较常见,它分为细胞内囊和细胞外囊。细胞内囊一般出现在成群分布的肥大上皮细胞中<sup>[13]</sup>;细胞外囊由多细胞复合体围绕一个大空腔而成,空腔内填充着一些细胞残体或无定型物质,空腔的外围则绕有大量的电子致密颗粒及肌原纤维丝,此外,还有短的微绒毛或纤毛伸入囊腔中<sup>[15]</sup>。鱼类的髓质上皮囊在形态和功能上与两栖类、爬行类甚至海豚的相似,有人认为它与细胞衰老有关<sup>[34, 35]</sup>。Kendall<sup>[32]</sup>则认为这种囊可能主要负责清除和转运退化的细胞。哈氏小体由数层上皮细胞环绕一个或几个肥大细胞或细胞残体而成,该结构只在喉盘鱼的成鱼及丽鱼(*Cichla ocellaris*)中见到相关报道<sup>[14, 36]</sup>。软骨鱼类虽然没有哈氏小体,但其胸腺上皮细胞含有大量退化的纤维成分,类似于哺乳动物胸腺单细胞哈氏小体中的角蛋白束<sup>[15]</sup>。

## 2.4 胸腺的其它功能

有关胸腺功能的研究还表明,胸腺对鱼类的生长率和生殖率有很大影响。Graebbel将试验鱼分为两组,除了喂食专门饲料外,一组加喂胸腺,在相当短的时间内加喂胸腺的一组鱼的生长率比对照组提高了2~3倍<sup>[11]</sup>。Yada和Azuma<sup>[37]</sup>用RT-PCR方法在虹鳟的胸腺中检测到两种生长激素(GHI和GHII)的表达。这在一定程度上可以说明胸腺提高鱼类生长率的原因。另外有研究者提到用胸腺作饵料可以显著地提高虹鳟(*Plecoglossus altivelis*)的生殖率<sup>[11]</sup>,但其作用机理还不清楚。

## 3 胸腺的起源、发生和退化

### 3.1 胸腺的起源

目前,关于胸腺的起源有两种不同的观点:一种观点认为胸腺是由肠道相关的淋巴样组织(gut associated lymphoid tissue, GALT)演化来的<sup>[2]</sup>。以小鼠为对象研究胸腺的起源,结果表明,小鼠T淋巴细胞亚群产生于消化道上皮<sup>[38]</sup>,而T细胞的阳性选择也同样发生在肠道相关的淋巴组织中<sup>[39]</sup>。小鼠肠道固有膜中的T细胞大多来自胸腺,只有少量是肠道自身产生的<sup>[2]</sup>。肠道能产生抗原特异免疫反应,可见肠道既具有中枢免疫器官的功能又具有免疫效应器官的功能<sup>[2]</sup>。而胸腺主要是为外周免疫器官提供成熟T细胞,具有中枢免疫器官功能。因此,肠相关的免疫组织比胸腺更为原始。另一方面,肠道淋巴组织处于肠上皮下的固有膜层,肠上皮相当于支持淋巴细胞发育的胸腺上皮<sup>[40]</sup>。胸腺上皮形成的三维网络与肠上皮形成的二维结构相拓补。胸腺上皮细胞网络能使淋巴细胞与胸腺上皮细胞间更充分地相互作用以推动淋巴细胞的生长、分化及迁移。淋巴细胞-胸腺上皮细胞相互作用是胸腺从肠相关的淋巴组织向胸腺进化的选择力量。而这一进化历程的主要目的就是扩大淋巴细胞储存空间及T细胞的数量<sup>[2]</sup>。鱼类T细胞单抗的研究为这一观点提供了有力证据。针对鲤肠道白细胞膜分子的单抗被作为粘膜T细胞的标识,因为其主要与粘膜免疫器官肠和鳃上的淋巴细胞反应(50%~70%),与其它组织淋巴细胞的反应则很少(1%~3%),应用这种单抗作为分子标识发现鲤肠壁上分布有大量T细胞,且个体发育的早期阶段T细胞出现在肠道中<sup>[41, 42]</sup>。因此推测,胸腺是从肠相关的淋巴组织演化而来<sup>[2]</sup>。

关于胸腺起源的另一种观点是胸腺起源于粘膜相关的淋巴样组织(mucous associated lymphoid tissue, MALT)。鱼类的胸腺原基位于第3,4对鳃囊原基上方,咽腔上皮内侧。胸腺和鳃的上皮都是由咽腔上皮发育而来,有着共同的构成

份。在硬骨鱼的个体发育过程中,胸腺始终与咽腔上皮相连。而鳃是鱼类重要的粘膜相关淋巴组织的组成成份。故认为胸腺是从粘膜相关淋巴样组织进化而来的<sup>[2]</sup>。

### 3.2 胸腺的发生

鱼类的胸腺是由胚胎期第3和第4鳃原基上方、咽腔上皮内侧的胸腺原基发育而来<sup>[43]</sup>。板鳃类在鳃裂背方内侧有4~6对稍愈合的胸腺原基<sup>[11]</sup>。其它软骨鱼类及硬骨鱼类除第一对鳃囊外,所有鳃囊上方都有胸腺原基,在发育过程中这些原基合并。胸腺组织的发生主要包括3个重要步骤:循环淋巴母细胞在咽腔上皮下定居;胸腺结缔组织携同血管遍布胸腺实质、胸腺实质分区。不同种类的鱼类其胸腺发生的时间不尽相同。一般而言,卵胎生种类胸腺的发生较卵生种类要早得多<sup>[44]</sup>。卵胎生的绵 (*Zoarces viviparus*) 在出生前两个月胸腺就已经分化成两个区<sup>[45]</sup>;卵生的虹鳟在孵化前5 d 出现胸腺原基,孵化时胸腺发育良好<sup>[46, 17]</sup>;丽鱼胸腺原基在受精后24~52 h 出现<sup>[36]</sup>;鲤孵化后2、3 d 胸腺原基才出现<sup>[47]</sup>;鲇(*Silurus asotus*) 孵化后第三天胸腺原基形成<sup>[48]</sup>;褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)、五条 (*Seriola quinqueradiata*) 及真鲷(*Pagrus major*) 的胸腺原基分别出现在孵化后的第10、11和11天<sup>[49]</sup>。在胸腺发育的早期阶段,胸腺主要依靠淋巴细胞素与头肾相联系,有时两者还会融合在一起。如在海鲷(*Sparus aurata*) 的发育过程中,头肾和胸腺不断靠拢,并且在这两者之间能明显地观察到细胞迁移<sup>[1]</sup>。采用胸腺内注射方式,原位标记的胸腺细胞,在肾和脾中都能够检测到<sup>[3]</sup>。采用移植排斥实验来研究鱼类细胞免疫的成熟情况表明:在鱼类个体发育过程中一旦能通过形态学方法检测到T细胞,则指示胸腺达到功能成熟<sup>[8, 22, 50]</sup>。

### 3.3 胸腺的退化

同哺乳动物一样,鱼类的胸腺也经历脂肪性退化及伴随着性成熟的生理性萎缩<sup>[15, 16, 51]</sup>。从组织学的角度来看,胸腺的退化从胸腺体积缩小开始,接着淋巴细胞逐渐被上皮细胞和哈氏小体取代,最后胸腺完全消失。各种鱼胸腺的退化经历不同的过程并伴随有不同的特征。3、4龄以上的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*) 胸腺组织被大量脂肪组织所取代<sup>[52]</sup>;丽鱼胸腺随着年龄增大胸腺中出现黑色素巨噬细胞中心、哈氏小体及脂肪残体<sup>[36]</sup>;青鳉(*Oryzias latipes*) 在4月龄时,胸腺中的结缔组织开始增多,6月龄时上皮囊剧增,12月龄时胸腺彻底退化<sup>[53]</sup>;斑点叉尾 (*Ictalurus punctatus*) 在11~12月龄之间,胸腺急剧增大,13月龄以后体积开始变小,孵化后16月,胸腺中不再有淋巴细胞而仅剩一薄的上皮样层,18月龄时肉眼观察不到胸腺的存在<sup>[54]</sup>;虹鳟在15月龄时胸腺开始退化,成鱼往往很难找到胸腺<sup>[55]</sup>。

另外,繁殖周期、季节变化及环境胁迫也会导致胸腺体积及细胞组成上的变化。绵 (*Zoarces viviparus*) 出生后1月,胸腺体积达到最大,占身体体积的0.83%,3个月后仅占身体体积的0.048%,此时胸腺组织结构消失,并且由于组织细胞的坏死而染色较深<sup>[45]</sup>。Tamura等<sup>[44]</sup>认为在繁殖期和冬季,鱼类的胸腺会经历一段时间的退化。引起鱼类胸腺季节性变化的因子主要是温度<sup>[56]</sup>、光周期<sup>[44]</sup>和神经内分泌节律<sup>[56, 57]</sup>。胸腺中循环胸腺细胞的数量亦随季节而变化<sup>[20]</sup>,如野欧鲢(*Salmo trutta*) 胸腺细胞的数量在5月和8月最多,而冬季最少<sup>[58]</sup>。然而,到目前为止胸腺退化的生理功能和意义还不太清楚。

## 4 T细胞及T细胞单抗的研究与应用

无论是淡水鱼还是海水鱼,在其个体发育的过程中,胸腺总是第一个获得成熟淋巴细胞的免疫器官<sup>[1, 17, 47]</sup>。T细胞的好几种表面分子标记都能在虹鳟和科(Rajidae)的胸腺中检测到,如T细胞受体(T cell receptor, TCR)的 $\beta$ 链在虹鳟的胸腺中具有较高表达水平<sup>[59]</sup>;胚胎发生的第8周,胸腺表达的TCR水平急剧上升,在孵化和成鱼阶段TCR在外周免疫器官中也有表达,这表明跟哺乳动物一样,胸腺是最早出现T细胞的淋巴器官<sup>[60]</sup>。硬骨鱼T细胞参与的免疫学反应包括:T细胞有丝分裂原所诱导的增生反应<sup>[61]</sup>、混合白细胞反应(mixed leucocyte reaction, MLR)<sup>[62]</sup>、辅助针对胸腺依赖性抗原的抗体的生成<sup>[63]</sup>、分泌淋巴因子<sup>[64]</sup>及移植排斥反应<sup>[22, 47]</sup>。斑马鱼(*Brachydanio rerio*) 的胸腺中能检测到Lak酶的表达,Lak酶是一种参与T细胞成熟和激活的酶<sup>[43]</sup>,T细胞功能的成熟是免疫系统功能成熟的前提和保障。

近年来T细胞单抗的研究取得了很大的进展,推进了T淋巴细胞的研究<sup>[6, 42, 65]</sup>,而这些研究成果可用来指导鱼类的早期免疫。最早的T细胞单抗(WCT4)是以鲤为对象研制出来的,随后出现了越来越多的单抗。如针对鲤胸腺细胞浆膜的单抗(WCL9)及针对肠粘膜T细胞的特异性单抗(WCL38)<sup>[66]</sup>;针对黑鲈(*Dicentrarchus labrax*) 胸腺细胞和外周T细胞的单抗(DLT15)<sup>[50]</sup>;针对斑点叉尾 胸腺细胞和外周T细胞的35kD抗原的单抗(CFT1)<sup>[67]</sup>;针对五条 胸腺细胞的单抗<sup>[68]</sup>等。在针对T细胞膜分子的一系列单抗中,鲤的单抗WCL9能通过免疫组化、免疫电镜等方法来检测未成熟的T细胞,WCL9被认为是早期胸腺细胞表面标识的单抗。幼鱼时期,常常有50%左右的T细胞驻留于胸腺皮质区,WCL9还被用来原位检测鲤鱼胸腺的个体发生,受精后4 d,在胸腺原基上检测到WCL9的阳性信号,受精后4周胸腺分区开始,

阳性细胞只出现在皮质区<sup>[6]</sup>。T 细胞单抗 DLT15 结合流式细胞仪和免疫组织化学被用来研究黑鲈的 T 细胞的发生, DLT15 能够识别早期及成熟的 T 细胞。dos Santos 等<sup>[69]</sup>认为, 早期 T 细胞可能会有不同的来源, 但最终可能都在胸腺中发育成熟。T 细胞单抗的研究还表明 T 细胞主要分布在粘膜免疫器官鳃和肠中<sup>[50]</sup>。针对鲤肠道白细胞膜分子的单抗 WCL38 被作为粘膜 T 细胞的标识, 因其主要跟肠和鳃上的淋巴细胞反应(50% ~ 70%), 与其它组织淋巴细胞的反应则很少(1% ~ 3%)<sup>[50]</sup>。黑鲈的肠壁上大量 T 细胞的分布, 及个体发育的早期阶段 T 细胞在肠道中出现的现象<sup>[41, 42]</sup>, 可能与胸腺的起源有关<sup>[2]</sup>。Scapigliati 等<sup>[50]</sup>则认为, 这可能与肠上皮摄取抗原有关。经口免疫的鱼在后继感染中特异性抗体的效价并没显著提高, 推测鱼类在对肠道抗原方面, 以细胞免疫途径为主<sup>[70]</sup>。可见, T 细胞单抗可用来划分 T 细胞的成熟状况、T 细胞的来源并为胸腺的起源等提供证据。

免疫防治能有效预防疾病的发生及流行, 但免疫时间和免疫途径是决定免疫效果的两个重要影响因素, 这两个条件的选择与免疫系统功能成熟密切相关, 而胸腺 T 细胞功能成熟是免疫系统功能成熟的前提。由于每种鱼胸腺位置、微环境、结构及个体发育情况都有所不同, 所以需要每种鱼的胸腺 T 细胞的成熟情况有清楚的了解。T 淋巴细胞在免疫器官中的细胞数量和分布动态、胸腺细胞凋亡、胸腺上皮细胞的种类与对应的功能及胸腺的来源, 这些都是鱼类胸腺研究的热点。许多病毒病都是在鱼苗阶段发病的<sup>[71]</sup>, 但如果在胸腺功能发育成熟前就进行免疫往往会导致免疫耐受<sup>[40]</sup>。因此, 作者认为今后鱼类胸腺研究当以 T 细胞单抗与胸腺细胞凋亡的研究为主要手段, 来确定鱼类早期发育阶段胸腺组织中功能成熟 T 细胞出现的时间, 并以此为主要依据来确定鱼类最佳免疫接种时机。

## 参考文献:

- [1] Jósefsson S, Tatner M F. Histogenesis of the lymphoid organs in sea bream (*Sparus aurata* L.) [J]. Fish Shellfish Immunol, 1993, 3: 35- 49.
- [2] Matsunaga T, Rahman A. In search of the origin of the thymus: the thymus and GALT may be evolutionarily related [J]. Scand J Immunol, 2001, 53: 1- 6.
- [3] Tatner M F. The migration of labelled thymocytes to the peripheral lymphoid organs in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. Dev Comp Immunol, 1985, 9: 85- 91.
- [4] Ortiz Muniz G, Sigel M. Antibody synthesis in lymphoid organs of two marine teleosts [J]. J Reticuloendothel Soc, 1971, 9: 42- 52.
- [5] Bartos J M, Sommer C V. *In vivo* cell mediated immune response to *M. tuberculosis* and *M. salmoniphylum* in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Dev Comp Immunol, 1981, 5: 75- 83.
- [6] Romano N, Taveme Thiele J J, van Maanen J C, et al. Leucocyte subpopulations in developing carp (*Cyprinus carpio* L.): immunocytochemical studies [J]. Fish Shellfish Immunol, 1997, 7: 439- 453.
- [7] Nakanishi T. Effects of X radiation and thymectomy on the immune response in the marine teleost *Sebastes maraoratus* [J]. Dev Comp Immunol, 1986, 10: 519- 528.
- [8] Tatner M F. Natural changes in the immune system of fish [A]. Iwama Q, Nakanishi T: The fish immune system: organism, pathogen and environment [M]. San Diego, US: Academic Press, 1996. 255- 287.
- [9] Sailendri K. Studies in the development of lymphoid organs and immune responses in the teleost *Tilapia mossambica* [D]. Madurai University.
- [10] Manning M J, Grace M F, Secombes C J. Ontogenic aspects of tolerance and immunity in carp and rainbow trout: studies on the role of thymus [J]. Dev Comp Immunol, 1982, 2: 1075- 1082.
- [11] Meng Q W, Su J X, Li W D. Comparative anatomy of fishes [M]. Beijing: Science Press, 1987. 345- 361. [孟庆闻, 苏锦祥, 李婉端. 鱼类比较解剖[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 345- 361.]
- [12] Tatner M F, Manning M J. The morphology of the trout, *Salmon gairdneri* Richardson, thymus: some practical and theoretical considerations [J]. J Fish Biol, 1982, 21: 27- 32.
- [13] Finge R, Pulsford A. The thymus of the angler fish *Lophius piscatorius* (Pisces: Teleostei): a light and electron microscopic study [A]. Manning M J, Tatner M F. Fish immunology [M]. London: Academic Press, 1985. 293- 311.
- [14] Gorgolón P. Fine structure of the thymus in the adult cling fish *Sicyopterus sanguineus* (Pisces, Gobiessocidae) [J]. J Morphol, 1983, 177: 25- 40.
- [15] Zapata A G, Chibá A, Varas A. Cells and tissues of the immune system of fish [A]. Iwama G K, Nakanishi T. The fish immune system: organism, pathogen, environment [M]. Vancouver: Academic Press, 1996. 1- 62.
- [16] Chilmonczyk S. The thymus in fish: development and possible function in the immune response [J]. Ann Rev Fish Dis, 1992, 181- 200.
- [17] Chilmonczyk S. Evolution of the thymus in rainbow trout [A]. Manning M J, Tatner M F. Fish immunology [M]. London: Academic Press, 1985. 285- 292.
- [18] Zapata A, Amemiya C T. Phylogeny of lower vertebrates and their immunological structures [A]. Pasquier Du L, Litman G W. Origin and evolution of the vertebrate immune system [M]. Germany: Scientific Publishing Services (P) Ltd, Madras, 2000. 67- 107.
- [19] Castillo A, Razquin B, Villera A, et al. Thymic barriers to antigen entry during the posthatching development of the thymus of rainbow trout,

- Oncorhynchus mykiss* [J]. Fish Shellfish Immunol, 1998, 8: 157–170.
- [20] Zapata A G, Cooper E L. The immune system: comparative histophysiology [M]. Chichester: John Wiley and Sons, 1990.
- [21] Sailendri K, Muthukkanuppan V R. The immune response of the teleost, *Tilapia mossambica* to soluble and cellular antigens [J]. J Exp Zool, 1975, 191: 371–382.
- [22] Manning M J, Tumeer R J. Immunology: a comparative approach [M]. Chichester, England: John Wiley & Sons, 1994. 69–100.
- [23] Romano N, Picchietti S, Tavernier Thiele J J, et al. Distribution of macrophages during fish development: an immunohistochemical study in carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Anat Embryol, 1998, 198: 31–41.
- [24] Bevan M J. In thymic selection, peptide diversity gives and takes away [J]. Immunol, 1997, 7: 175–178.
- [25] Romano N, Tavernier Thiele A J, Fanelli M, et al. Ontogeny of the thymus in a teleost fish, *Cyprinus carpio* L: developing thymocytes in the epithelial microenvironment [J]. Dev Comp Immunol, 1999, 23: 123–137.
- [26] Wekerle H, Ketelsen U P, Ernst M. Thymic nurse cells. Lymphoepithelial cell complexes in murine thymuses: morphological and serological characterization [J]. J Exp Med, 1980, 151: 925–944.
- [27] Flaño E, Alvarez F, López Fierro P, et al. *In vitro* and *in situ* characterization of fish thymic nurse cells [J]. Dev Immunol, 1996, 5: 17–24.
- [28] Toussaint Demyelle D, Scheiff J M, Haumont S. Thymic nurse cells in culture: morphological and antigenic characterization [J]. Cell Tissue Res, 1993, 272: 343–354.
- [29] Speiser D E, Pircher H, Ohashi P S, et al. Clonal deletion induced by either radioresistant thymic host cells or lymphohemopoietic donor cells at different stages of class I restricted T cell ontogeny [J]. J Exp Med, 1992, 175: 1277–1284.
- [30] Aguilar L K, Aguilar Cordova E, Cartwright E, et al. Thymic nurse cells are sites of thymocyte apoptosis [J]. J Immunol, 1994, 152: 2645–2651.
- [31] Surch C D, Sprent J. T cell apoptosis detected *in situ* during positive and negative selection in the thymus [J]. Nature, 1994, 372: 100–103.
- [32] Kendall M D. Functional anatomy of the thymic microenvironment [J]. J Anat, 1991, 177: 1–29.
- [33] Pulsford A, Morrow W J W, Fänge R. Ultrastructural studies on the dogfish, *Scyliorhinus canicula* L [J]. J Fish Biol, 1984, 25: 353–360.
- [34] Li P P, Wang P. Advance in studies of reptilian thymus development and functional morphology [J]. Chinese Zool, 1999, 34: 48–53. [李丕鹏, 王平. 爬行类胸腺的发育及形态功能研究进展[J]. 动物学杂志, 1999, 34(2): 48–53.]
- [35] Wunschmann A, Siebert U, Frese K. Thymic cysts in harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) from the German North Sea, Baltic Sea, and waters of Greenland [J]. Vet Pathol, 1999, 36: 391–396.
- [36] Fishelson L. Cytological and morphological ontogenesis and involution of the thymus in cichlid fishes (Cichlidae, Teleostei) [J]. J Morphol, 1995, 223: 175–190.
- [37] Yada T, Azuma T. Hypophysectomy depress immune functions in rainbow trout [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2002, 131: 93–100.
- [38] Rocha B, Vassali P, Guy Grand D. Thymic and extrathymic origins of gut intraepithelial lymphocyte populations in mice [J]. J Exp Med, 1994, 180: 681–686.
- [39] Poussier P, Julius M. Thymus independent positive and negative selection of T cells expressing a major histocompatibility complex class I restricted transgenic T cell receptor  $\alpha/\beta$  in the intestinal epithelium [J]. J Exp Med, 1993, 178: 1947–1957.
- [40] Fichtelius K E, Finstad J, Good R A. Bursa equivalent of bursaless vertebrates [J]. Lab Invest, 1968, 19: 339–351.
- [41] Abelli L, Picchietti S, Romano N, et al. Immunohistochemistry of gut associated lymphoid tissue of the sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) [J]. Fish Shellfish Immunol, 1997, 7: 235–246.
- [42] Picchietti S, Terribili F R, Mastrolia L, et al. Expression of lymphocyte antigenic determinants in developing gut associated lymphoid tissue of the sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) [J]. Anat Embryol, 1997, 196: 457–463.
- [43] Trede N S, Zon L I. Development of T cells during fish embryogenesis [J]. Dev Comp Immunol, 1998, 22: 253–263.
- [44] Tamura E, Honma Y, Kitamura Y. Seasonal changes in the thymus of the viviparous surfperch, *Ditrema temminckii*, with special reference to its maturity and gestation [J]. Jap J Ichthyol, 1981, 28: 295–303.
- [45] Bly J E. The ontogeny of the immune system in the viviparous teleost *Zoarces viviparus* L [A]. Manning M J, Tatner M F. Fish immunology [C]. London: Academic Press Inc (London) Ltd, 1985. 327–341.
- [46] Grace M F, Manning M J. Histogenesis of the lymphoid organs in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson 1836 [J]. Dev Comp Immunol, 1980, 4: 255–264.
- [47] Botham J W, Manning M J. The histogenesis of the lymphoid organs in the carp *Cyprinus carpio* L and the ontogenetic development of allograft reactivity [J]. J Fish Biol, 1981, 19: 403–414.
- [48] Zhong M C, Hang Z. Ontogeny of lymphomyeloid organs in catfish (*Silurus asotus* L.) [J]. J Fish China, 1995, 19: 258–262. [钟明超, 黄浙. 鲇鱼淋巴样器官的发育[J]. 水产学报, 1995, 19: 258–262.]

- [49] Chantanahookhin C, Seikai T, Tanaka M. Comparative study of the ontogeny of the lymphoid organs in three species of marine fish [J]. *Aquac*, 1991, 99: 143–155.
- [50] Scapigliati G, Romano N, Abelli L. Monoclonal antibodies in fish immunology: identification, ontogeny and activity of T and B lymphocytes [J]. *Aquac*, 1999, 172: 3–28.
- [51] Luer C A, Walsh C J, Bodine A B, et al. The elasmobranch thymus: anatomical, histological and preliminary functional characterization [J]. *J Exp Zool*, 1995, 273: 342–352.
- [52] Lu Q Z. Studies on the histology of thymus of the grass carp [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 1991, 15: 327–334. [卢全章. 草鱼胸腺组织学的研究 [J]. *水生生物学报*, 1991, 15: 327–334.]
- [53] Cooper E L, Zapata A G, Barutia M G, et al. Aging changes in lymphopoietic and myelopoietic organs of the annual cyprinodont fish [J]. *Exp Gerontol*, 1983, 18: 29–38.
- [54] Ellsaesser C F, Bly J E, Clem L W. The thymus of the channel catfish [J]. *Dev Comp Immunol*, 1988, 12: 787–799.
- [55] Tatner M F, Manning M J. Growth of the lymphoid organs in rainbow trout from one to fifteen months of age [J]. *J Zool*, 1983, 199: 503–520.
- [56] Zapata A G, Varas A, Torroba M. Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates [J]. *Immunol Today*, 1992, 13: 142–147.
- [57] Zapata A. Periodic cycles and immunity [A]. Marsh J A, Kendall M. *Physiology of immunity* [C]. Boca Raton, FL: CRC Press, 1996. 377–394.
- [58] Alvarez F, Razquin B E, Villena A J, et al. Seasonal changes in the lymphoid organs of wild brown trout, *Salmo trutta* L: a morphometrical study [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1998, 64: 267–278.
- [59] Partula S, de Guerra A, Fellah J S, et al. Structure and diversity of the T cell antigen receptor  $\beta$  chain in a teleost fish [J]. *J Immunol*, 1995, 155: 699–706.
- [60] Miracle A L, Anderson M K, Litman R T, et al. Complex expression patterns of lymphocyte specific genes during the development of cartilaginous fish implicate unique lymphoid tissues in generating an immune repertoire [J]. *Int Immunol*, 2001, 13: 567–580.
- [61] Sizemore R G, Miller N W, Cuchens M A, et al. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: the cellular requirements for the *in vitro* mitogenic responses of channel catfish leukocytes [J]. *J Immunol*, 1984, 133: 2920–2924.
- [62] Miller N W, Sizemore R C, Clem L W. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: the cellular requirements for *in vitro* antibody responses of channel catfish leukocytes [J]. *J Immunol*, 1985, 134: 2884–2888.
- [63] Miller N W, van Ginkel J E, Ellsaesser F, et al. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity: identification and separation of functionally distinct subpopulations of channel catfish lymphocytes with monoclonal antibodies [J]. *Dev Comp Immunol*, 1987, 11: 739–748.
- [64] Seombes C J, Hardie L J, Daniels G. Cytokines in fish: an update [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 1996, 6: 291–304.
- [65] Abelli L, Picchiatti S. Immunocytochemical detection of thymocyte antigenic determinants in developing lymphoid organs of sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 1996, 6: 493–505.
- [66] Rombout J H W M, Joosten P H M, Engelsma M Y, et al. Indication of a distinct putative T cell population in mucosal tissue of carp [J]. *Dev Comp Immunol*, 1998, 22: 63–67.
- [67] Passer B J, Chen C H, Miller N, et al. Identification of a T lineage antigen in the catfish [J]. *Dev Comp Immunol*, 1996, 20: 441–450.
- [68] Nishimura H, Ikemoto M, Kawai K, et al. Cross reactivity of anti yellowtail thymic lymphocyte monoclonal antibody (YeT-2) with lymphocytes from other fish species [J]. *Arch Histol Cytol*, 1997, 60: 113–119.
- [69] dos Santos N M, Romano N, de Sousa M, et al. Ontogeny of B and T cells in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. *Fish and Shellfish Immunol*, 2000, 10: 583–96.
- [70] dos Santos N M, Taverner Thiele J J, Barnes A C, et al. The gill is a major organ for antibody secreting cell production following direct immersion of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in a *Photobacterium damsela* sp. piscicida bacterin: an ontogenetic study [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2001, 11: 65–69.
- [71] Shao Z J. Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: current perspectives and future possibilities [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 50: 229–243.