

· 综述 ·

## 脂肪酸对鱼类免疫系统的影响及调控机制研究进展

左然涛, 麦康森, 徐 玮, 艾庆辉\*

(中国海洋大学农业部水产动物营养与饲料重点实验室, 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 替代脂肪源的开发和利用是解决鱼油短缺问题的必然选择。然而,随着替代水平的提高,鱼体常常表现免疫水平和抗病能力降低。鱼油替代的本质为脂肪酸替代,深入研究脂肪酸与鱼类免疫的关系显得尤为重要。本实验综述了脂肪酸对鱼类免疫性能的影响及调控机制。饱和脂肪酸会降低鱼类免疫力,而适量添加 n-3 长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)、共轭亚油酸(CLA)或提高 n-3/n-6 多不饱和脂肪酸(PUFA)的比例有利于鱼体免疫力发挥;饲料中脂肪酸主要通过细胞膜结构、信号传导、类花生四烯酸、细胞因子和类固醇激素等途径对鱼类免疫进行调控。脂肪酸与鱼类的免疫性能具有高度相关性,而调控机制的研究尚有较大空间。未来研究应该侧重于以下几个方面:脂肪酸对免疫相关转录因子的调控机制;鱼类肠道脂肪酸组成改变与菌群结构和免疫性能之间的相关性;环境因子对鱼体脂肪代谢和免疫力的影响;非脂肪酸成分(矿物质、维生素)对鱼类脂肪酸代谢和免疫过程的调控机制。

**关键词:** 脂肪酸; 鱼类; 免疫; 调控机制

**中图分类号:** Q 591; S 917.4

**文献标志码:** A

当前水产动物病害严重,提高或保持水产动物自身免疫力是抗病的基础,而免疫力与营养和饲料有关<sup>[1]</sup>,尤其脂肪酸是营养元素中影响免疫的重要因子,因此脂肪酸与免疫的关系成为新的研究方向。尤其在当前鱼油替代普遍,新脂肪源大量涌现的情况下,越来越多的证据表明,鱼油被新脂肪源替代后会影响鱼类免疫活力<sup>[2-4]</sup>,这使得在当前深入研究脂肪酸与鱼类免疫的关系显得尤为重要。

### 1 脂肪酸种类和来源

脂肪酸是脂肪的重要组成部分,它是由一条长的烃链(尾)和一个末端羧基(头)组成的羧酸。烃链不含双键(三键)的称作饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA);具有 2 个及以上双键的称作多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA);具有 4 个及以上双键且碳链长度大

于 20 的称作长链多不饱和脂肪酸(long chain polyunsaturated fatty acid, LC-PUFA)。不同脂肪酸之间的主要区别在于烃链的长度(碳原子数目)、双键数目和位置。根据第一个双键距离烃链尾的碳原子数目可以将 PUFA 分为 n-3 系列和 n-6 系列。其中 n-3PUFA 主要包括亚麻酸( $\alpha$ -linolenic acid, ALA)、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA);n-6PUFA 主要包括亚油酸(linoleic acid, LA)和二十碳四烯酸(arachidonic acid, AA)。水产饲料常用脂肪源大致分为鱼油、植物油和动物性脂肪,具体分类和脂肪酸组成详见表 1。

### 2 鱼类免疫系统

鱼类免疫系统包括固有免疫(innate immune)和适应性免疫(adaptive immune)系统,

收稿日期:2015-01-07 修回日期:2015-03-07

资助项目:国家自然科学基金(30871930)

通信作者:艾庆辉, E-mail:qhah@ouc.edu.cn

表 1 鱼类饲料中常用脂肪源的碘值和脂肪酸组成(总脂肪酸)<sup>[5]</sup>  
 Tab.1 Iodine value and fatty acid composition (total fatty acids) of  
 common lipid sources used in fish feed formulations<sup>[5]</sup>

油脂种类 oils/fat	碘值 IV	饱和 脂肪酸 SFA	单不 饱和 脂肪酸 MUFA	亚油酸 LA	花生 四烯酸 AA	亚麻酸 ALA	二十碳 五烯酸 EPA	二十二 碳六 烯酸 DHA	n-6 多 不饱和 脂肪酸 n-6PUFA	n-3 多 不饱和 脂肪酸 n-3PUFA	n-3/ n-6PUFA	%
<b>鱼油 fish oils</b>												
鲱鱼油 anchovy oil	180 ~ 200	28.8	24.9	1.2	0.1	0.8	17.0	8.8	1.3	31.2	24.0	
毛鳞鱼油 capelin oil	95 ~ 160	30.0	61.7	1.7	0.1	0.4	4.6	3.0	1.8	12.2	6.8	
鲱油 menhaden oil	150 ~ 200	30.5	24.8	1.3	0.2	0.3	11.0	9.1	1.5	25.1	16.7	
鲱鱼油 herring oil	115 ~ 160	20.0	56.4	1.1	0.3	0.6	8.4	4.9	1.4	17.8	12.7	
鳕鱼肝油 cod liver oil	-	19.4	46.0	1.4	1.6	0.6	10.2	12.6	3.0	27.0	9.0	
<b>植物油 vegetable oil</b>												
天然棕榈油 crude palm oil	44 ~ 58	48.8	37.0	9.1	-	0.2	-	-	9.1	0.2	0.1	
大豆油 soybean oil	120 ~ 141	14.2	23.2	51.0	-	6.8	-	-	51.0	6.8	0.6	
菜籽油 canola/rapeseed oil	110 ~ 126	4.6	62.3	20.2	-	12.0	-	-	20.2	12.0	0.0	
葵花油 sunflower oil	110 ~ 143	10.4	19.5	65.7	-	-	-	-	65.7	0.0	0.0	
棉籽油 cottonseed oil	99 ~ 113	45.3	17.8	51.5	-	0.2	-	-	51.5	0.2	0.0	
花生油 groundnut oil	-	11.8	46.2	32.0	-	-	-	-	32.0	0.0	0.0	
玉米油 corn oil	103 ~ 128	12.7	24.2	58.0	-	0.7	-	-	58.0	0.7	0.0	
亚麻油 linseed oil	177	9.4	20.2	12.7	-	53.3	-	-	12.7	53.3	4.2	
<b>动物性脂肪 animal fats</b>												
牛油 beef tallow	41 ~ 52	47.5	40.5	3.1	0.4	0.6	-	-	3.1	0.6	0.2	
猪油 pork lard	52 ~ 74	38.6	44.0	10.2	-	1.0	-	-	10.2	1.0	0.1	
家禽脂肪 poultry fat	80 ~ 85	28.5	43.1	19.5	-	1.0	-	-	19.5	1.0	0.0	

注: - :未测定

Notes: - :without detection

其中固有免疫又称为非特异性免疫(non-specific immune),是鱼类免疫的第一道防线<sup>[6]</sup>,包括细胞免疫和非特异性体液免疫。免疫细胞又称白细胞,包括粒细胞、单核细胞和淋巴细胞3类细胞。其中粒细胞又可分为嗜酸、碱、中性3种,其中中性粒细胞是血液中主要的吞噬细胞,细胞中含有大量的溶酶体酶。固有免疫指标主要包括吞噬指数、呼吸爆发、凝集素、溶菌酶、抗蛋白酶、C-反应蛋白、干扰素-1、转移因子以及补体,其中补体又包括替代途径补体和经典途径补体<sup>[7]</sup>。研究表明,鱼类的替代途径补体活力水平远远高于哺乳类<sup>[8]</sup>,这说明鱼类比高等动物更依赖于替代途径补体来抵御病害入侵。

适应性免疫又称为特异性体液免疫,是鱼类受到抗原刺激后机体进行免疫应答产生特异性抗体的过程。在硬骨鱼中已发现鱼类具有完善的适应性免疫参数如MHC、TcR和Ig等,但某些鱼类由于对抗原刺激反应较低,不能产生抗体或产生

量很少。对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的二次攻毒实验表明,首次攻毒时鱼类主要以固有免疫进行防御,二次攻毒时鱼类的适应性免疫才发挥显著作用,这说明鱼类的适应性免疫需要较长时间的适应才能产生,具有明显的滞后性,因此鱼类主要利用固有免疫来发挥抗病作用<sup>[9]</sup>。

### 3 脂肪酸对鱼类免疫的影响研究进展

#### 3.1 多不饱和脂肪酸对鱼类免疫的影响

脂肪酸对鱼类免疫力的影响,已有了一些报道<sup>[4,10-11]</sup>。鱼类免疫力会受到饲料脂肪酸种类、剂量和比例的影响。一般来说,饱和脂肪酸会抑制鱼类免疫<sup>[10]</sup>;饲料中添加适量多不饱和脂肪酸尤其是n-3PUFA时,鱼类的生长及免疫力均得到显著提高<sup>[3,12-13]</sup>,但是当超过需求量时,鱼类的免疫力并不能进一步提高,而是出现免疫抑制现象<sup>[10]</sup>,这可能是由于过量的n-3LC-PUFA降低了鱼类免疫器官表面病原识别受体(TLR22)及其接

头蛋白(MyD88)的表达所致<sup>[12]</sup>,另一方面,过量的 n-3LC-PUFA 容易导致该种脂肪酸发生过氧化反应,超氧阴离子会攻击免疫细胞膜,从而大大降低其免疫性能<sup>[14]</sup>。Wang 等<sup>[11]</sup>发现,饲料中添加适量的维生素 E 能够显著提高牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)的免疫性能。

### 3.2 功能性脂肪酸对鱼类免疫的影响

共轭亚油酸(conjugated linoleic acid, CLA)是亚油酸的一组含有共轭二烯键的空间和几何异构体,在鱼类中是被研究最多的功能性脂肪酸。根据双键的位置和空间构型的不同可将 CLA 分为多种异构体,其中顺 9,反 11(c-9, t-11)和反 10,顺 12(t-10, c-12)是 2 种主要的异构体并已被证明具有生物学活性。在人类和哺乳动物中 CLA 已被证实具有较为明显的抗炎、抗氧化和抗癌作用<sup>[15-17]</sup>。而在水产动物上有关该脂肪酸对免疫性能的影响仅在少数几种鱼类,如舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)<sup>[17]</sup>、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)<sup>[18]</sup>和草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[19]</sup>有所涉及,结果表明,适量 CLA 能够明显增强动物的免疫力。有关 CLA 各种异构体功能的研究在鱼类更为缺乏,哺乳动物中的研究证实顺 9,反 11(c-9, t-11)和反 10,顺 12(t-10, c-12)这 2 种异构体具有不同的生物活性<sup>[20]</sup>。

### 3.3 n-6 与 n-3 脂肪酸的含量与比例对鱼类免疫的影响

由于植物油中含有大量的 n-6 系列多不饱和脂肪酸,而相对缺乏 n-3 系列多不饱和脂肪酸,所以用植物油取代鱼油会导致 n-6/n-3 比例发生改变,而高比例的 n-6/n-3 会降低鲑(*Salmo salar*)的免疫力<sup>[3,21]</sup>,这可能是由于高含量的 n-6 系列脂肪酸会增加鱼体炎症因子(IL-1 $\beta$ 和 TNF $\alpha$ )的表达所致<sup>[3]</sup>。体内过度炎症反应会导致机体出现氧化应激,因此寻找适当方法调控炎症反应至适当水平成为治疗养殖鱼类“亚健康”亟待解决的问题。已有研究表明,上述由亚油酸引发的高炎症水平可以通过添加部分共轭亚油酸(CLA)<sup>[18]</sup>或者适当提高饲料 ALA/LA 的比例来适当抑制<sup>[22]</sup>。Gjøen 等<sup>[23]</sup>认为鲑中不同比例的 n-6/n-3 对抗病力没有显著影响,只是在鱼油和豆油等比例混合组(n-6/n-3 约为 1.6),鱼体会产生较高水平的 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub>。造成这一差异的原因可能是不同的饲料基础配方、实验条件和实验

鱼种类。Wu 等<sup>[24]</sup>发现,当饲料中 ALA 和 LA 总和在 2% 且二者比例为 3 时点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)的免疫性能最高。

适宜的 DHA/EPA/AA 对于鱼类免疫也具有重要意义。鱼类饲料 n-3 LC-PUFA (DHA 和 EPA)含量较丰富,AA 则相对缺乏,Harel 等<sup>[25]</sup>研究表明,饲料中缺乏 AA 会降低仔稚鱼的抗应激能力,从而抑制免疫系统发育。因此,在富含 EPA 和 DHA 的饲料中,AA 会提高鱼的健康状况和质量,尤其是在高密度养殖中<sup>[26-27]</sup>。AA 发挥生理作用主要是通过 AA 的活性代谢产物类花生四烯酸如 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 来执行的。一定浓度的 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 具有刺激免疫细胞增殖的作用,但是高浓度的 PGE<sub>2</sub> 会对免疫产生抑制作用,而 Koven 等<sup>[28]</sup>认为 AA 抑制免疫是由于体内代谢产生了高浓度的可的松,可的松作为一种肾上腺糖皮质激素,可以通过减少循环淋巴细胞的实际噬菌率来抑制免疫。此外,AA 还可以作为第二信使刺激巨噬细胞进行呼吸爆发。由于淡水鱼和海水鱼具有不同种类的必需脂肪酸以及不同的脂肪酸代谢途径,所以 DHA/EPA/AA 比例的确定在 2 种鱼中也不完全一样。在淡水鱼中,这一比例较难确定,由于淡水鱼类能够利用 ALA 合成 EPA 和 DHA, LA 合成 AA,因此确定其适宜 DHA/EPA/AA 比例较为困难,且意义也不如在海水鱼类中重要。而海水鱼由于不能自身由 ALA 合成 EPA 和 DHA, LA 合成 AA,因此 DHA/EPA/AA 比例的确定所受的干扰相对较小<sup>[29-30]</sup>。目前已得到一些海水仔稚鱼的最适 DHA/EPA 需求,然而该比例在海水幼鱼或早期成鱼阶段研究较少,有关该比例对机体免疫力和脂肪代谢的影响及调控机制的探讨更是少之又少<sup>[31]</sup>。当 DHA/EPA 在 1.53 ~ 2.08 时,花鲈(*Lateolabrax japonicus*)的生长、免疫和抗干露能力最强<sup>[32]</sup>。

## 4 脂肪酸的免疫调控机制研究进展

### 4.1 细胞膜结构调控途径

细胞膜的结构骨架是磷脂双分子层,脂肪酸是磷脂的重要组分,因此,细胞膜的流动性取决于膜的脂肪酸组成<sup>[23]</sup>。细胞培养液中和食物中的脂肪酸组成会改变免疫细胞细胞膜的脂肪酸组成,进而影响鱼类免疫。Montero 等<sup>[2]</sup>发现鱼类吞噬活性与 n-3PUFA 成正比,与单不饱和脂肪酸

(主要是油酸)和亚麻酸的量成反比。培养液中的 n-3PUFA 能够显著增加诸如淋巴细胞和免疫细胞等的流动性,而棕榈酸对 Caco-2 细胞膜的流动性却没有显著影响<sup>[33]</sup>。巨噬细胞脂肪酸组成与其在食物中的含量也呈剂量反应,鱼吞噬细胞中 AA 与食物中 AA 的比率维持在 3~7,而吞噬细胞中 EPA/食物 EPA 维持在 1 左右,而 DHA 的这一比例也维持在 2 左右。用不同的植物油取代 60% 或 80% 的鱼油后进行摄食生长实验,结果发现添加豆油组实验鱼的巨噬细胞中亚油酸的含量有所提高,而添加亚麻酸实验鱼的巨噬细胞中亚麻酸含量也相应增加,替代组巨噬细胞中油酸的含量显著提高,而鱼油组巨噬细胞具有更高含量的 n-3PUFA。相应地,巨噬细胞的免疫功能如吞噬活性和呼吸爆发在鱼油组要显著好于植物油替代组,这说明巨噬细胞的脂肪酸组成与其免疫功能之间具有显著相关性<sup>[2]</sup>。

4.2 信号转导途径

膜连接酶、受体或离子通道功能与细胞信号转导密切相关,脂肪酸可以作为第二信使或孔道、膜连接酶的调节亚基来影响免疫细胞的功能。在多核粒细胞的培养液中外源性添加花生四烯酸(AA)能够刺激吞噬细胞和粒细胞进行呼吸爆发,这一方面是由于 AA 产生的生理活性物质类花生四烯酸能够调控免疫反应,另一方面 AA 本

身或者含有 AA 的磷脂酸以及二酯酰甘油可作为第二信使直接调节机体免疫<sup>[34]</sup>。细胞膜闭合蛋白能形成和维持细胞的稳固结合,EPA 能上调细胞膜闭合蛋白的产生,降低细胞对大分子的渗透,而 AA 和油酸则下调细胞膜闭合蛋白的表达。此外,膜连接酶的活性对脂肪酸环境特别敏感,如内皮细胞膜连接酶 Na,K-ATPase 对血管的收缩功能具有重要的作用,而 n-3PUFA 可抑制它的活性,而其他类型的脂肪酸作用较弱;在 n-3PUFA 中,DHA 对膜流动性和钠离子通道阻滞的作用较 ALA 强<sup>[35]</sup>。

Toll 样受体(TLRs)是存在于动物免疫细胞表面的一类病原识别受体,能够特异性识别病原关联分子结构(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)如脂多糖(LPS)、肽聚糖、非甲基化 CpG DNA<sup>[36]</sup>。当感受外界病原刺激时,TLRs 可以将信号通过依赖 MyD88 或不依赖 MyD88 的途径进行信号传递,最终激活免疫反应,从而消灭外界病原<sup>[37]</sup>。已有研究表明,饲料脂肪酸水平或组成会影响 TLR22 和 MyD88 的 mRNA 表达量来调控大黄鱼免疫力和抗刺激隐核虫的能力<sup>[12,31]</sup>。此外,脂肪酸也可以通过与 TLRs 的直接接触来调控该信号途径,且不同类型脂肪酸对 TLRs 的激活作用不同,从而导致免疫调控能力的差异<sup>[38]</sup>。

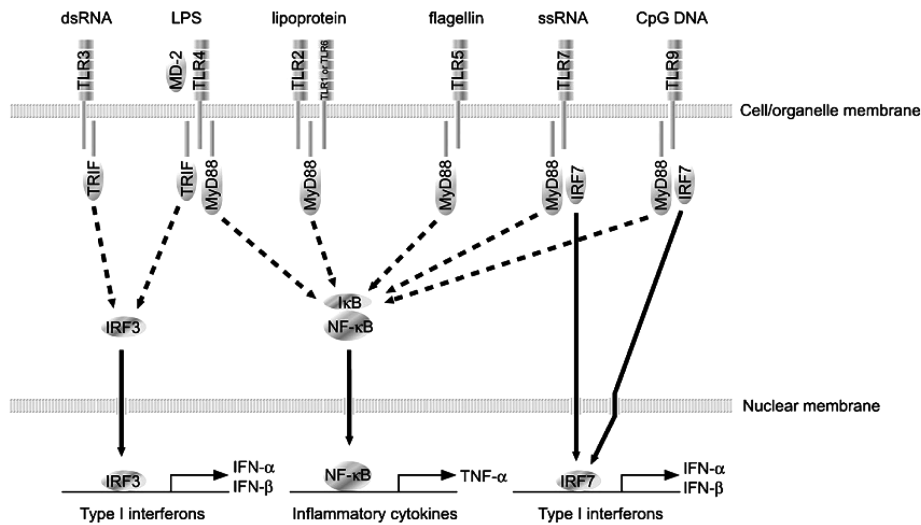


图 1 Toll 样受体信号传导通路<sup>[37]</sup>

Fig. 1 The signal pathway of toll-like receptors<sup>[37]</sup>

4.3 类花生四烯酸途径

类花生四烯酸是机体内部由 C<sub>20</sub> PUFA 衍生

成的具有生理活性作用的物质,主要有前列腺素(prostaglandin, PG)、凝血恶烷(thromboxane, TX)

和白三烯(Leukotriene, LT)。鱼体的磷脂酰肌醇(PI)能够选择性积累 C<sub>20</sub> PUFA 如 AA、EPA 和 DHGLA,故认为 PI 是类花生四烯酸前体物质的主要来源。磷脂酰肌醇的 sn-2 位上常常是 PUFA 如 EPA 和 AA,在磷脂酶-2(PLA-2)的作用下,AA 或 EPA 水解下来,在环氧化酶(cyclooxygenase, COX)和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)的作用下 AA 生成前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)和白三烯 B<sub>4</sub>(LTB<sub>4</sub>),而 EPA 生成前列腺素 E<sub>3</sub>(PGE<sub>3</sub>)和白三烯 B<sub>5</sub>(LTB<sub>5</sub>)。PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 的生物学活性明显高于 PGE<sub>3</sub> 和 LTB<sub>5</sub>,具有提高免疫活性的作用。PGE<sub>2</sub> 能够调节免疫细胞的功能,并且具有剂量效应。有研究表明,低密度的 PGE<sub>2</sub>( $< 10^{-9}$  mol/L)对于维持正常的免疫功能 and T 细胞分化来说都是必需的;而浓度超过  $10^{-8}$  mol/L 则会引起免疫抑制。LTB<sub>4</sub> 在免疫调节中同样具有重要作用,LTB<sub>4</sub> 是免疫细胞功能的有效调控者,能够促使 T 细胞和 B 细胞增殖,促使单核细胞和 T 细胞释放细胞因子如白细胞介素-1,此外还可以作为化学引诱物提高自然杀伤细胞的活性。同样,LTB<sub>4</sub> 在低浓度( $< 10^{-9}$  mol/L)时具有免疫调节作用,当浓度超过  $10^{-7}$  mol/L 时,则具有免疫抑制作用<sup>[39]</sup>。

免疫细胞产生 PGE<sub>2</sub> 的能力与磷脂中 AA 含量呈正相关的关系<sup>[40]</sup>,动物摄食的饲料中各脂肪酸的组成和比例会使磷脂中的 AA 含量发生相应改变,其中的机理如下:(1)磷脂中 AA 的含量与食物中 AA 的摄入量呈正相关关系,鱼体摄入的 AA 越多,其免疫细胞中 AA 也相应增加;(2)食物中 n-3HUFA(如 EPA 和 DHA)的摄入会竞争 AA 加入免疫细胞中,导致 AA 的溶入比率下降<sup>[41-42]</sup>,从而使 AA 的类花生四烯酸产物 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 减少<sup>[43-45]</sup>;(3)食物中富含 18:2n-6 会导致 AA 的类花生四烯酸产物降低,在鲑上的研究表明,饲喂富含亚油酸或者亚麻酸的植物油会导致包括总红细胞,总白细胞及呼吸爆发在内的非特异性免疫系数的降低,这主要是由于植物油中 ARA 不足,且大量的亚油酸在体内转变成 DHGLA(20:3n-6),DHGLA 作为环氧化酶和脂氧合酶的竞争性底物,会降低 AA 生成类花生四烯酸,结果导致类花生四烯酸的活性成分如 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 生成量不足以调节正常的免疫反应<sup>[46-49]</sup>。Li 等<sup>[50-51]</sup>首次建立了离体大黄鱼巨

噬细胞模型,发现随着细胞液中 AA 添加量的增加,前列腺素 PGE<sub>2</sub> 的浓度显著升高,而随着 EPA 和 DHA 浓度的升高,PGE<sub>2</sub> 的浓度显著降低,且 DHA 较 EPA 具有更强的抑制作用。

总之,导致 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 生成量不足的原因有二:一是 AA 的绝对含量减少;二是 AA 的相对含量降低,这是由于 EPA、DHA 以及 DHGLA(20:3n-6)竞争抑制环氧化酶和脂氧化酶的底物结合位点,导致 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 相应减少。所以食物中 AA 的含量越高,AA/EPA、AA/DHA 以及 AA/DHGLA 的比率越高,机体相应产生 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 的量也越多。

#### 4.4 细胞因子途径

鱼类免疫系统包括细胞免疫和体液免疫,细胞因子(Cytokine)是其中重要的组成部分。细胞因子是一类由免疫细胞和非特异性免疫细胞合成或分泌的小分子多肽物质,具有调节多种细胞生理功能的作用。在一般状况下,细胞因子的分泌量很低,或处于失活状态;但在机体的免疫细胞或组织受到刺激发生新的基因转录后,其含量将会大幅度上升,并识别细胞上高亲和性的表面受体,以协同形式结合其他的细胞因子或者抗病毒分子发挥生物学效应,发挥免疫调节作用<sup>[52]</sup>。目前已经分离出了包括肿瘤坏死因子(TNF),白细胞介素(IL),干扰素(IFN),一氧化氮合成酶(iNOS)和一些趋化因子(Chemokines)在内的细胞因子。除此之外,许多实验还证实,鱼类体内细胞因子的结构、作用机制与哺乳动物的具有相似性,但是目前研究较深入的 2 种细胞因子是干扰素(IFN)和白细胞介素(IL)。

##### (1) 脂肪酸通过干扰素(IFN)调节免疫

干扰素是脊椎动物体内的一种可溶性蛋白,主要由巨噬细胞分泌,生成速度受温度影响。鱼中的干扰素主要为 I 型包括 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$ ,其基因在多种鱼中被克隆。当生物体受到病毒或者抗原(如单链 DNA 或者脂多糖)侵扰后,干扰素可以作用于相应细胞的 IFN- $\alpha/\beta$ -receptor,然后激活 JAK-STAT 信号转导途径,使相应细胞分泌出一系列具有抗病毒特性的蛋白质,故而在抗病毒的防御机制中发挥着核心调节作用<sup>[53]</sup>。干扰素调节免疫主要是通过诱导表达抗病毒蛋白来发挥作用,尽管干扰素诱导产生一系列的基因如 Mx、PKR、Viperin、ISG15、IFI56 和 IFI58,但迄今为止,

只有鲑和牙鲈的 Mx 蛋白被证实具有抗病毒活性<sup>[54]</sup>。Montero 等<sup>[4]</sup>发现不同的脂肪源会影响 Mx 抗病毒蛋白的表达, Mx 抗病毒蛋白是由干扰素控制产生的, 所以推测 Mx 在各处理组的表达差异是通过脂肪酸作为转录因子在分子水平上控制了干扰素基因的表达来实现的, 其中亚油酸能够提高金头鲷 (*Sparus aurata*) Mx 的表达。

#### (2) 脂肪酸通过白细胞介素调节免疫

白介素 (IL) 是与鱼类致炎作用以及调理功能密切相关的一个功能性蛋白家族。白介素家族的典型成员包括了 IL-1、IL-2、IL-6 和 IL-8。但目前研究较多也较深入的是 IL-1 $\beta$ <sup>[52,55-56]</sup>, 它主要是由肝脏中被病原激活的巨噬细胞产生, 通过结合靶细胞受体 IL-1R 受体复合体, 启动早期固有免疫反应, 如刺激鲑和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) APP (acute phase proteins) 的表达<sup>[56]</sup>。Jorgensen 等<sup>[57]</sup>发现在感染致病菌的鱼中 IL-1 $\beta$  的表达量升高, 淋巴细胞会相应增殖。Kono 等<sup>[55]</sup>用 DNA 注射方法研究鲤 (*Cyprinus carpio*) 对于 IL-1 $\beta$  的免疫反应, 发现注射有 IL-1 $\beta$  的鲤淋巴细胞在受到刺激后发生显著增殖, 巨噬细胞吞噬力和超氧阴离子含量也有明显上升, 因此对于嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 的抗性大大增强。AA 的类花生四烯酸产物 LTB<sub>4</sub> 会促使单核细胞和巨噬细胞分泌 IL-1。所以脂肪酸可能是通过活性代谢中间产物来调控 IL 表达, 最终调节鱼类免疫的。

#### 4.5 类固醇激素途径

鱼体在感受到压力后机体的可的松含量会升高, 而可的松水平的上升会引起免疫抑制, Montero 等<sup>[58]</sup>发现机体在缺乏必需脂肪酸或维生素 E 后机体处于营养不足引发的慢性胁迫中可的松含量会显著上升, 从而抑制鱼体免疫性能发挥。同样, 在金头鲷中用亚麻酸取代 80% 的鱼油实验结束后进行拥挤压力实验, 结果发现, 亚麻油组鱼体的可的松水平明显高于鱼油组。这是由于脂肪酸缺乏或者比例失调会刺激丘脑-垂体-肾上腺轴 (hypothalamic-pituitary-interrenal, HPI), 使得血浆中促肾上腺皮质激素和肾上腺皮质激素浓度上升, 从而抑制机体免疫力。脂肪酸调节 HPI 来控制可的松含量的机理虽还不清楚, 但有些学者将其也作为一个免疫指标<sup>[2,58]</sup>。

## 5 展望

脂肪酸与鱼类的免疫性能具有高度相关性, 而调控机制的研究尚有较大空间。未来的研究应该侧重于以下几个方面: (1) 脂肪酸是如何通过转录因子调节鱼类免疫的; (2) 脂肪酸是如何通过改变肠道脂肪酸组成或菌群结构调控鱼类免疫的; (3) 脂肪酸介导的免疫因子与鱼体脂肪代谢和免疫力的关系; (4) 非脂肪酸成分 (矿物质、维生素) 调控鱼类脂肪酸代谢和免疫过程的机制。

#### 参考文献:

- [1] Ai Q H, Mai K S. Advance on nutritional immunity of fish [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31 (3): 425 - 429. [艾庆辉, 麦康森. 鱼类营养免疫的研究进展. 水生生物学报, 2007, 31 (3): 425 - 429.]
- [2] Montero D, Kalinowski T, Obach A, et al. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): Effects on fish health [J]. Aquaculture, 2003, 225 (1): 353 - 370.
- [3] Montero D, Mathlouthi F, Tort L, et al. Replacement of dietary fish oil by vegetable oils affects humoral immunity and expression of pro-inflammatory cytokines genes in gilthead sea bream *Sparus aurata* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 29 (6): 1073 - 1081.
- [4] Montero D, Grasso V, Izquierdo M S, et al. Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets; Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 24 (2): 147 - 155.
- [5] Turchini G M, Torstensen B E, Ng W K. Fish oil replacement in finfish nutrition [J]. Reviews in Aquaculture, 2009, 1(1): 10 - 57.
- [6] Akira S, Takeda K. Toll-Like Receptor Signaling [J]. Nature Reviews Immunology, 2004, 4 (7): 499 - 511.
- [7] Nie P. Recent advances of non-specific immunity in fish [J]. Journal of Fisheries of China, 1997, 21 (1): 69 - 73. [聂品. 鱼类非特异性免疫研究的新进展. 水产学报, 1997, 21 (1): 69 - 73.]
- [8] Yano. The nonspecific immune system; Humoral defense A [M] // Iwama G, Nakanishi T, eds. The Fish Immune System: Organism, Pathogen and Environment. San Diego: Academic Press, 1996, 15:

- 105 - 107.
- [ 9 ] Solem S T, Stenvik J. Antibody repertoire development in teleosts-a review with emphasis on salmonids and *Gadus morhua* L [ J ]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2006, 30 ( 1 ): 57 - 76.
- [ 10 ] Kiron V, Fukuda H, Takeuchi T, *et al.* Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [ J ]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1995, 111(3):361 - 367.
- [ 11 ] Wang Z L, Mai K S, Liufu Z G, *et al.* Effect of high dietary intakes of vitamin E and n-3HUFA on immune responses and resistance to *Edwardsiella tarda* challenge in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck and Schlegel) [ J ]. *Aquaculture Research*, 2006, 37(7):681 - 692.
- [ 12 ] Zuo R T, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids on growth, nonspecific immunity, expression of some immune related genes and disease resistance of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) following natural infestation of parasites (*Cryptocaryon irritans*) [ J ]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32 ( 2 ): 249 - 258.
- [ 13 ] Korver D R, Klasing K C. Dietary fish oil alters specific and inflammatory immune responses in chicks [ J ]. *Journal of Nutrition*, 1997, 127 ( 10 ): 2039 - 2046.
- [ 14 ] Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors [ J ]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2010, 48(9):1121 - 1132.
- [ 15 ] Belury M A. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action [ J ]. *Annual Review of Nutrition*, 2002, 22 ( 1 ): 505 - 531.
- [ 16 ] Risérus U, Smedman A, Basu S, *et al.* CLA and body weight regulation in humans [ J ]. *Lipids*, 2003, 38 ( 2 ): 133 - 137.
- [ 17 ] Makol A, Torrecillas S, Fernandez-Vaquero A, *et al.* Effect of conjugated linoleic acid on dietary lipids utilization, liver morphology and selected immune parameters in sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) [ J ]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & molecular biology*, 2009, 154(2):179 - 187.
- [ 18 ] Zuo R T, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of conjugated linoleic acid on growth, non-specific immunity, antioxidant capacity, lipid deposition and related gene expression in juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed soybean oil-based diets [ J ]. *British Journal of Nutrition*, 2013, 110(7):1220 - 1232.
- [ 19 ] Dong G F, Zou Q, Wang H, *et al.* Conjugated linoleic acid differentially modulates growth, tissue lipid deposition, and gene expression involved in the lipid metabolism of grass carp [ J ]. *Aquaculture*, 2014, 432(8):181 - 191.
- [ 20 ] Terpstra A H M. Differences between humans and mice in efficacy of the body fat lowering effect of conjugated linoleic acid: Role of metabolic rate [ J ]. *Journal of Nutrition*, 2001, 131(7):2067 - 2068.
- [ 21 ] Thompson K D, Tatner M F, Henderson R J. Effects of dietary (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid ratio on the immune response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [ J ]. *Aquaculture Nutrition*, 1996, 2 ( 1 ): 21 - 32.
- [ 22 ] Zuo R T, Mai K S, Xu W, *et al.* Dietary ALA, but not LNA, increase growth, reduce inflammatory processes, and increase anti-oxidant capacity in the marine finfish *Larimichthys crocea* [ J ]. *Lipids*, 2015, 50(2):149 - 163.
- [ 23 ] Gjøen T, Obach A, Røsjø C, *et al.* Effect of dietary lipids on macrophage function, stress susceptibility and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [ J ]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2004, 30(2):149 - 161.
- [ 24 ] Wu F C, Chen H Y. Effects of dietary linolenic acid to linoleic acid ratio on growth, tissue fatty acid profile and immune response of the juvenile grouper *Epinephelus malabaricus* [ J ]. *Aquaculture*, 2012, 324 - 325(1):111 - 117.
- [ 25 ] Harel M, Gavasso S, Leshin J, *et al.* The effect of tissue docosahexaenoic and arachidonic acids levels on hypersaline tolerance and leucocyte composition in striped bass (*Morone saxatilis*) larvae [ J ]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2001, 24 ( 2 ): 113 - 123.
- [ 26 ] Xu H G, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary arachidonic acid on growth performance, survival, immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [ J ]. *Aquaculture*, 2010, 307(1):75 - 82.
- [ 27 ] Khozin-Goldberg I, Cohen Z, Pimenta-Leibowitz M, *et al.* Feeding with arachidonic acid-rich triacylglycerols from the microalga *Parietochloris*

- incisa improved recovery of guppies from infection with *Tetrahymena* sp. [J]. *Aquaculture*, 2006, 255 (1):142 – 150.
- [28] Koven W, van Anholt R, Lutzky S, *et al.* The effect of dietary arachidonic acid on growth, survival, and cortisol levels in different-age gilthead seabream larvae (*Sparus auratus*) exposed to handling or daily salinity change [J]. *Aquaculture*, 2003, 228 (1): 307 – 320.
- [29] Sargent J R, Tacon A G J. Development of farmed fish: A nutritionally necessary alternative to meat [J]. *Proceedings of Nutrition Society*, 1999, 58(2): 377 – 383.
- [30] Sargent J R, Tocher D R, Bell J G. The lipids[M]// Halver J E, Hardy R W, eds. *Fish Nutrition*, San Diego: Academic Press, 2002, 181 – 257.
- [31] Zuo R T, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary docosahexaenoic to eicosapentaenoic acid ratio (DHA/EPA) on growth, nonspecific immunity, expression of some immune related genes and disease resistance of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) following natural infestation of parasites (*Cryptocaryon irritans*) [J]. *Aquaculture*, 2012, 334 – 337(3):101 – 109.
- [32] Xu H G, Mai K S, Xu W, *et al.* Dietary docosahexaenoic acid to eicosapentaenoic acid (DHA/EPA) ratio influenced growth performance, immune response, stress resistance and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier) [J]. *Aquaculture Research* 2014 DOI:10.1111/are.12532.
- [33] Nano J L, Nobili C, Girard-Pipau F, *et al.* Effects of fatty acids on the growth of Caco-2 cells [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2003, 69 (4):207 – 215.
- [34] Ely E W, Seeds M C, Chilton F H, *et al.* Neutrophil release of arachidonic acid, oxidants, and proteinases; Causally related or independent [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1995, 1258(2):135 – 144.
- [35] Leifert W R, McMurchie E J, Saint D A. Inhibition of cardiac sodium currents in adult rat myocytes by n-3 polyunsaturated fatty acids [J]. *Journal of Physiology*, 1999, 520(3):671 – 679.
- [36] Xiao X Q, Qin Q W, Chen X G. Molecular characterization of a Toll-like receptor 22 homologue in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and promoter activity analysis of its 5'-flanking sequence [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30 (1): 224 – 233.
- [37] Uenishi H, Shinkai H. Porcine Toll-like receptors: The front line of pathogen monitoring and possible implications for disease resistance [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2008, 33 (3):353 – 361.
- [38] Rebl A, Goldammer T, Seyfert H M. Toll-like receptor signaling in bony fish [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2009, 134 (3 – 4):139 – 150.
- [39] Kinsella J E, Lokesh B. Dietary lipids, eicosanoids and the immune system [J]. *Critical Care Medicine*, 1990, 18 (Suppl. 2):94 – 113.
- [40] Peterson L D, Jeffery N M, Thies F, *et al.* Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acid composition and prostaglandin E<sub>2</sub> production but have different effects on lymphocyte functions and cell-mediated immunity [J]. *Lipids* 1998, 33(2):171 – 180.
- [41] Yaqoob P, Pala H S, Cortina-Borja M, *et al.* Encapsulated fish oil enriched in  $\alpha$ -tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions [J]. *Europe Journal of Clinical Investigation*, 2000, 30 (3):260 – 274.
- [42] Kew S, Mesa M D, Tricon S, *et al.* Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on immune cell composition and function in healthy humans [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79(4):674 – 681.
- [43] Chapkin R S, Akoh C C, Miller C C. Influence of dietary n-3 fatty acids on macrophage glycerophospholipid molecular species and peptidoleukotriene synthesis [J]. *Journal of Lipid Research*, 1991, 32(7):1205 – 1213.
- [44] Yaqoob P, Calder P C. Effects of dietary lipid manipulation upon inflammatory mediator production by murine macrophages [J]. *Cell Immunology*, 1995, 163(1):120 – 128.
- [45] Peterson B C, Manning B, Li M. CLA-enriched diets for channel catfish [J]. *Global Aquaculture Advocate*, 2003, 6(1):48 – 50.
- [46] Bell J G, Ashton I, Secombes C J, *et al.* Dietary lipid affects Phospholipid fatty acid compositions, eicosanoid production and immune function in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential fatty acids*, 1996, 54(3): 173 – 182.



- [47] Bell J G, Farndale B M, Dick J R, *et al.* Modification of membrane fatty acid composition, eicosanoid production, and phospholipase A activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) gill and kidney by dietary lipid [J]. *Lipids*, 1996, 31(11): 1163 - 1171.
- [48] Good J E, Bell J G, Thompson K D, *et al.* Assessment of immune response in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) receiving alternative oil diets [C]. An abstract and poster presentation at the 5th Nordic Fish Immunology Symposium. Oslo: Institute of Pharmacy, University of Oslo, 2001.
- [49] Ganga R, Bell J G, Montero D, *et al.* Effect of dietary lipids on plasma fatty acid profiles and prostaglandin and leptin production in gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 142(4): 410 - 418.
- [50] Li Q F, Ai Q H, Mai K S, *et al.* In vitro effects of arachidonic acid on immune functions of head kidney macrophages isolated from large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Aquaculture*, 2012, 330 - 333(2): 47 - 53.
- [51] Li Q F, Ai Q H, Mai K S, *et al.* A comparative study: In vitro effects of EPA and DHA on immune functions of head-kidney macrophages isolated from large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(3): 933 - 940.
- [52] Secombes C J, Bird S, Cunningham C, *et al.* Interleukin-1 in fish [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1999, 9(4): 335 - 343.
- [53] Byrne C D. Fatty liver: Role of inflammation and fatty acid nutrition [J]. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential fatty acids*, 2010, 82(4 - 6): 265 - 271.
- [54] Wan X, Chen X H. Molecular characterization and expression analysis of interferon-inducible protein 56 gene in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2008, 364(2): 91 - 98.
- [55] Kono T, Fujiki K, Nakao M, *et al.* The immune responses of common carp, *Cyprinus carpio* L., injected with carp interleukin-1 beta gene [J]. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 2002, 22(4): 413 - 419.
- [56] Scapigliati G, Costantini S, Colonna G, *et al.* Modelling of fish interleukin-1 and its receptor [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2004, 28(5): 429 - 441.
- [57] Jorgensen J B, Lunde H, Jensen L, *et al.* Serum amyloid A transcription in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes is enhanced by stimulation with macrophage factors, recombinant human IL-1 beta, IL-6 and TNF alpha or bacterial lipopolysaccharide [J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2000, 24(6): 553 - 563.
- [58] Montero D, Tort L, Izquierdo M S, *et al.* Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead sea bream caused by  $\alpha$ -tocopherol and n-3HUFA dietary deficiencies [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1998, 18(4): 399 - 407.

## Advance of studies on the effects of fatty acids on immune responses and nutritional regulation mechanism in fish species

ZUO Rantao, MAI Kangsen, XU Wei, AI Qinghui\*

(Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feed, Ministry of Agriculture, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** With the fast development of aqua-feed industry, fish oil has seen a great shortage, which limits the sustainable development of aquaculture industry. Alternative oils are thought to be the key to solve this problem. However, decreased immune response and disease resistance have been found as the substitution level increased. The nature of fish oil replacement is actually the fatty acid replacement. Thus, a review was made on the effects of fatty acids on immune response and mechanism involved in this process. Dietary saturated fatty acids could decrease fish immunity, while optimal inclusion of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids(LC-PUFA) and conjugated fatty acid(CLA) or enhancing the ratio of n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acids( PUFA) were beneficial to nonspecific immune responses of fish species. There have been a lot of studies which aimed to elucidate mechanism about how dietary fatty acid regulates fish immunity. Overall, dietary fatty acid could regulate fish immunity through several pathways such as membrane structure, signal transmission, eicosanoid, cytokine and steroid etc. These indicated that fatty acid is a critical factor to regulate fish immunity. Greater efforts should be made to study mechanism involved in this process. Future studies should be emphasized from the following perspectives: how dietary fatty acid regulate transcription factor about immunity; Relationship between fatty acid composition of intestine, bacterial community structure, and immune responses; Effects of environmental factors on fatty acid metabolism and immunity of fish species; how non-fatty acid nutrients( minerals and vitamins) regulate fatty acid metabolism and fish immunity.

**Key words:** fatty acid; fish species; immune response; regulation mechanism

**Corresponding author:** AI Qinghui. E-mail: qhai@ouc.edu.cn