

# 鸡球虫病保护性免疫机理探讨

曾智勇<sup>1</sup>, 杨光友<sup>2</sup>, 梁海英<sup>2</sup>

(1.四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014; 2.四川农业大学动物学院营养研究所)

在大力倡导绿色无污染食品的今天, 药物残留给食品安全带来了严重隐患, 鸡球虫病的免疫研究也因此成为目前研究的热点。20世纪80年代后, 随着细胞生物学和分子生物学等学科的发展, 鸡球虫病的免疫学研究也由组织学水平推进到细胞和分子生物学水平。本文主要针对鸡球虫病保护性抗原和免疫机理作一探讨。

## 1 鸡球虫的免疫原性

球虫免疫原性的研究在球虫免疫机理探究和抗球虫疫苗的研制中占有极其重要的地位。由于球虫具有种特异性、生活史复杂、基因组庞大, 不同种类、不同发育阶段的免疫原性和抗原构成都有差异, 同时种间及种内又存有共同的特异性抗原。在所有鸡球虫中巨型艾美耳球虫免疫原性最强, 一次适直接种便可使机体产生完全保护力。柔嫩和毒害艾美耳球虫免疫原性最小, 其它种免疫原性居中。一些选育的早熟虫株具有良好的免疫原性, 已被应用于疫苗生产。鸡球虫免疫原性与侵入组织的深度、致病性之间均不具有相关性。

球虫的内生发育包括无性生殖和有性生殖, 各阶段的免疫原性和抗原的构成不同, 因此对于究竟哪一个阶段在诱发保护性免疫中起关键作用仍众说纷纭。

Jeffers等研究指出细胞内孢子与诱发对肠道损害的保护性免疫无关, 并同Rose等人认为孢子及有性生殖阶段免疫原性很差, 但Jenkin等通过X-射线致弱的柔嫩艾美耳球虫感染鸡发现孢子入侵和早期裂殖体能诱导保护性免疫。McDougald, Jeffers, Johnson等用柔嫩和巨型艾美耳球虫实验证实第二代裂殖体与免疫力的产生有很大关系。然而最近的研究表明孢子和第一代裂殖体可能是最重要的阶段。McDougald等

(1991)的柔嫩艾美耳球虫实验表明第一代裂殖子有很强的免疫原性, 这与他在70年代的研究结果大不相同。Jeurissen等(1996)研究发现, 柔嫩艾美耳球虫孢子在免疫鸡与未免疫鸡绒毛固有层内的分布明显不同。接种48h后, 大部分孢子在免疫鸡的固有层下部被抑制, 这些孢子不能到达隐窝上皮。免疫鸡固有层中大多数孢子被T细胞, 特别是CD8<sup>+</sup> T细胞吞噬或包围, 未免疫鸡固有层中许多孢子被巨噬细胞吞噬或包围, 表明孢子在固有层中的穿透诱导了免疫; 孢子是免疫有关的最重要的发育阶段。Wallach等(1989, 1993)研究表明, 有性生殖阶段的配子体可诱发宿主良好的免疫保护, 配子体表面和成壁体有三种重要的脂蛋白, 可诱导产生强烈的抗体反应, 减少卵囊排出量50%。查红波等的研究也有相似的结论, 即免疫鸡体内虫体从孢子侵入到移行阶段就受到了抑制。随着时间的推移, 这种抑制日益严重, 最终使虫体不能进入有性生殖阶段。组织学研究结果表明: 在裂殖生殖阶段, 保护性免疫主要抑制第一代裂殖体的发育, 而第二代裂殖子盲肠接种后100%能继续发育; 有性生殖阶段同样具有免疫原性, 甚至对不同虫种同一阶段的虫体也有免疫力。

## 2 鸡球虫病保护性免疫机理

鸡感染球虫后, 既可引起体液免疫应答也可引起细胞免疫应答。体液免疫主要通过依赖腔上囊B淋巴细胞实现, 细胞免疫主要是通过依赖胸腺的T淋巴细胞实现。分别摘除胸腺和腔上囊的实验结果表明抗体作用居于次要地位, 而细胞免疫居于主要地位, 产生免疫应答的第一步是宿主获取抗原信息, 这些信号包括侵入和发育阶段释放的信号即吞噬和在细胞外阶段被分解的信号。球虫抗原先被吞噬, 然后再提供给免疫系统, 接

收稿日期: 2003-03-28

着出现一系列的体液和细胞免疫应答以及炎症反应。

## 2.1 体液免疫应答机理

球虫病产生特异性的体液免疫应答反应的第一步是获取球虫抗原信号。这些信号包括侵入和发育阶段释放的信号,结合和表达在宿主细胞膜上的信号,吞噬和在细胞外阶段被分解的信号。球虫抗原先被吞噬,然后再提供给免疫系统。目前认为只要具有与吞噬细胞一样能表达MHC2区基因编码的细胞表面分子的细胞均能充当提供抗原信息的细胞,这些细胞至少包括上皮细胞、肠上皮间淋巴细胞(IEL)等。提供的抗原信息被辅助性T细胞(TH)所接受,TH细胞通过释放一些可溶性因子调节所有其它细胞的反应和直接与B细胞相互作用诱导体液免疫的产生。

20世纪80年代很多实验报道鸡感染球虫后可产生抗体IgM、IgG、IgE、IgA,一般在接种卵囊一周内便可检测出循环抗体。Rose等(1979)通过化学方法切除鸡的法氏囊,使其严重缺乏IgG、IgM和IgA,而T细胞功能正常,这种鸡对球虫的初次感染的易感性增大,对再次感染的抵抗力降低;Davis等(1979)用体外试验证实IgA能阻止孢子侵入和发育;Smith等(1994)报道种蛋鸡感染巨型艾美耳球虫后,卵黄中含有抗巨型艾美耳球虫的IgG抗体,这种母源抗体可使雏鸡获得抗同源巨型艾美耳球虫感染的母源免疫力,对柔嫩艾美耳球虫的感染也具有部分保护力。鸡感染球虫后一周左右,血清中产生IgG和IgM类特异性抗体,血清抗体与球虫表面抗原结合,能激活鸡补体的不同成分(经典激活途径),显示出各种免疫反应。现已肯定,血清抗体具有溶解孢子和裂殖子以及调理作用。将经灭活抗血清作用过的孢子或裂殖子接种于培养的腹腔巨噬细胞,巨噬细胞球虫的能力明显高于吞噬未处理球虫的能力,这被认为是由于IgG抗体与球虫表面抗原结合,暴露出IgG的Fc段,并与巨噬细胞表面的Fc受体结合,从而使巨噬细胞吞噬球虫的能力增强。

但也有很多学者认为体液免疫应答产生的抗体在鸡球虫病保护性免疫中的作用很小。因为鸡球虫是在肠道粘膜组织内增殖的原虫,往往不能直接接触血清抗体,使得抗体不能直接发挥作用;Speer等(1985)报道与抗体接触后柔嫩孢子

子发生帽化(capping),并排出免疫复合物;Lillehoj(1987)用激素或化学方法切除法氏囊发现并不影响初次感染或再次攻毒的过程;谢庆阁等(1996)报道血清中特异性IgG水平与抗球虫感染的保护力无相关性,在柔嫩或堆型感染鸡的肠道可检测到SIgA,但用柔嫩或堆型攻毒后并无SIgA的记忆反应。

## 2.2 细胞免疫应答机理

### 2.2.1 T细胞免疫应答机理

T细胞免疫应答反应在球虫免疫应答中处于核心地位,T细胞反应与整个抗球虫免疫效应的表达过程密切相关。T细胞参与免疫反应有2类不同的细胞亚群。一类是具免疫调节功能的T细胞亚群,如TH细胞和Ts细胞,另一类是免疫效应T淋巴细胞,如细胞毒T细胞和分泌淋巴因子的效应T细胞等。主要的T淋巴细胞为CD<sup>4+</sup>T细胞和CD<sup>8+</sup>T细胞。CD<sup>4+</sup>T细胞具有辅助性T细胞(TH)功能,与MHC II类分子结合,在鸡免疫应答中起极为重要的作用,可产生细胞因子,调节免疫应答,辅助B细胞和TCR3细胞的免疫应答和细胞毒性反应。CD<sup>8+</sup>T细胞具有抑制性T细胞(Ts)和杀伤性或细胞毒性T细胞(Tk/Tc)的效应,与MHC I类分子结合,可杀死病毒感染细胞和恶性细胞。CD<sup>4+</sup>T与CD<sup>8+</sup>T的比值是评价机体免疫状态的重要指标。正常情况下比值为2:1,偏离此值,甚至比值倒置,说明机体免疫机能失调。

T淋巴细胞的免疫机理可能是其作为效应细胞释放某种介质,既可单独作用,又可能通过辅助细胞的介导发生作用。程金科等(1994)发现,机体对球虫感染具有显著的T细胞应答,并且其数量的变化趋势与球虫体内的发育过程密切相关,T细胞可能在机体抗球虫免疫的形成、发展和效应中起重要作用。

### 2.2.2 巨噬细胞免疫应答机理

单核-巨噬细胞(MΦ)也是细胞免疫的效应细胞,鸡体单核-巨噬细胞系统的激活,在鸡球虫的抗感染与免疫中有积极的意义。单核-巨噬细胞表面分布有许多膜受体,如Fc受体,CJb受体、LFN- $\gamma$ 受体等。MΦ被激活后,能发挥强大的吞噬消化功能,破坏吞噬和清除侵入鸡体内的球虫孢子和裂殖子。巨噬细胞在免疫应答中具有向T细胞和B细胞提呈球虫抗原的作用,并且能释放

蛋白酶、溶菌酶、白细胞介素 (IL-1)、干扰素 (INF)、前列腺素、血浆蛋白和各种补体成分等多种细胞因子。Morila等(1973)用柔嫩艾美耳球虫感染鸡的脾组织碎块作试验, 获得了巨噬细胞游走抑制试验的阳性结果。其游走抑制的机理可能是: 鸡体内的T淋巴细胞受到球虫感染的免疫刺激, 成为致敏T细胞, 当再次与球虫相遇时, 致敏T细胞能产生游走抑制因子和巨噬细胞激活因子, 使巨噬细胞和嗜酸性白细胞滞留在球虫存在的局部, 增强杀灭球虫的作用。

### 2.2.3 细胞因子在免疫应答中的作用

CD<sup>4</sup>T细胞和CD<sup>8</sup>T细胞等可通过释放细胞因子, 在鸡球虫病保护性免疫中起作用。CD<sup>4</sup>T细胞在有丝分裂原或抗原的刺激以及IL-1的作用下产生IL-2。IL-2的主要作用是促进CD<sup>4</sup>T细胞和CD<sup>8</sup>T细胞的增殖, 维持T细胞生长, 促进自然杀伤细胞(NK)和B细胞功能。柔嫩艾美耳球虫孢子、裂殖子可刺激鸡HDLL巨噬细胞和外周血中巨噬细胞产生肿瘤坏死因子(TNF), 适量的TNF有利于机体清除虫体。实验证实, INF-r处理上皮细胞后, 可抑制柔嫩艾美耳球虫孢子的侵入和发育, 但INF-r本身对孢子并无毒害作用。INF-r可激活巨噬细胞, 加强MHC I II类抗原的表达, 提高K细胞, NK细胞的毒性作用, 促进IL-1、IL-6和TNF-a的分泌。INF-r可激活艾美耳球虫感染动物巨噬细胞和其他一些细胞, 促进这些细胞产生自由基, 以杀伤球虫或宿主细胞, 从而使鸡抗球虫感染。鸡的转移因子(IF)所转移的迟发超敏反应具有抗原特异性, 已成功地用鸡源IF转移了对柔嫩艾美耳球虫的免疫保护, 而巨噬细胞移动抑制因子(MIF)则抑制巨噬细胞移动, 使其停留聚集于感染部位, 起清除球虫感染的作用。

### 3 结 语

目前研究已表明: 鸡球虫病保护性免疫通过多种机理作用, 其中T淋巴细胞介导的细胞免疫起主要作用; T淋巴细胞分泌的各种淋巴因子对不同发育阶段的虫体有不同的杀伤作用; 巨噬细胞和NK细胞共同参与, 从不同方面辅助或抑制机体的免疫反应, 鸡在这些因子的共同作用下产生免疫保护力。但因鸡球虫生活史复杂, 鸡球虫病保护性免疫

机理目前仍然没有真正弄清楚。鸡球虫病的免疫保护似乎与细胞内干扰素的化学信号和天然杀伤细胞的免疫细胞存在重要的联系。美国农业部Lillohoj博士在第六次国际球虫会议上报道了孢子入侵肠道组织后, 白细胞刺激r-干扰素的释放, 进而刺激NK产生, 从而NK分泌更多r-干扰素。但r-干扰素是增强球虫感染的免疫保护还是减少球虫感染及抑制卵囊生产, 仍不清楚。

现阶段虽在进行鸡球虫基因工程疫苗的研制, 但因保护机理不十分清楚, 还不能准确定位免疫反应的靶点及加工和呈递寄生虫抗原的细胞以及介导免疫的细胞, 球虫虫株的变异也影响着重组抗原的研制过程。深入地研究免疫细胞及其细胞因子的网络调节, 将有助于全面揭示鸡球虫病的免疫机理, 为研制鸡球虫疫苗奠定基础。

### 参 考 文 献:

- 1 蒋建林, 蒋金书. 鸡球虫基因及基因工程疫苗的研究进展. 中国兽医科技, 1999; 29(6): 21~26
- 2 张龙现, 韩谦, 林昆华. 生物学新技术在球虫研究中的应用. 中国兽医杂志, 1996; 22, (10): 47~49
- 3 查红波, 蒋金书, 孙玉杰, 等. 巨型艾美耳球虫在免疫鸡体内发育的组织学观察. 中国兽医科技, 1998; 28(9): 3~5
- 4 胡最辉, 赵水前, 李红斌. 布氏艾美耳球虫早熟虫株的免疫原性及毒力. 中国兽医学报, 1998; 18(5): 483~485
- 5 胡最辉, 邹仁明, 乔美花. 布氏艾美耳球虫早熟弱毒虫株的选育. 畜牧兽医学报, 1999; 30(1): 1~5
- 6 索勋, 李国清. 鸡球虫病学. 中国农业出版社, 1998.
- 7 程金科, 段嘉树. 球虫免疫研究进展. 寄生虫与昆虫学报, 1994; 1(1): 61~67
- 8 缪德年, 樊超生, 赵惠娟译. 柔嫩艾美耳球虫与鸡体内的相互作用. 国外畜牧学猪与禽, 1998; 1: 43~44
- 9 查红波, 蒋金书. 雏鸡感染巨型艾美耳球虫后细胞免疫的研究. 中国农业大学学报, 1998; (增刊): 47~51
- 10 E. J. L.Soulbsy. Immune responses in parasitic infections. Florida: Boca Raton, CRC Press, 1989, 276~312
- 11 樊超生. 鸡球虫病免疫研究概况. 上海畜牧兽医通讯, 1990; (5): 7~9
- 12 Speer C A, Wong R B, Blixt J A et al. Capping of immune complexes by sporozoites of Eimeria tenella. J. Parasitol., 1985; 71: 33~42