



鱼类的H-Y抗原及其意义

ANTIGEN H-Y IN FISHES AND ITS SIGNIFICATION

吴清江

(中国科学院水生生物研究所)

Wu Qingjiang

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica)

在脊椎动物的所有异配性别中,无论是XY型或ZW型,都发现有H-Y抗原,它在XY型动物精巢或ZW型动物卵巢的分化中起着重要作用。为此,弄清H-Y抗原在鱼类中的表达及其免疫机制就可能成为研究性细胞发生、进化及种族鉴定的理想工具,而且还可期望用于控制鱼类的性腺发育。

(一) 脊椎动物中的一种特殊抗原

早在50年代, Eichwald 和 Silmsen^[1] 就发现把雄性小鼠的皮肤移植至高度纯化的同系雌性小鼠体上出现排斥现象,而把同系雌性小鼠的皮肤作为接穗即能有高度的组织相容性。至60年代, Billingham 和 Silver^[2] 把这种具有雄性特异性的抗原称之为H-Y抗原。H为组织相容性(Histocompatibility)一词的第一个字母, Y为Y染色体,因为这种抗原是与Y染色体紧密关联的。

检验H-Y抗原是否存在,早先大多采用组织移植的实验方法。但由于只有少数几种类型的细胞是这种抗体的敏感靶细胞,因此以后发展了血清学方法。其中抗原材料用得最多的是副辜精细胞。例如把同一个高纯度品系的小鼠副辜精细胞给雌鼠作超免疫处理而获得抗H-Y血清,再以它来作血清学检验,以确定受试细胞是否有H-Y抗原存在。

H-Y抗原是一种很微弱的抗原,它在抗血清中的量极少,以致使某些检验在技术上发生困难。至70年代,单克隆抗体技术的应用,使H-Y抗原的检验获得较为完满的结果。Bechtol等(1979年)^[3] 把4月龄的纯品系雄性小鼠的精巢取出,以磷酸盐缓冲液(pH7.2)制备悬浮液。再把含有 5×10^6 个这种精细胞的悬液用腹腔注射的方法注入2月龄同系雌性小鼠的体内。3周后再以26日龄的同系雄性小鼠的精巢细胞磷酸盐缓冲液进行第二次注射来增强小鼠的免疫力。4天后把雌性小鼠的脾脏取出。脾脏富含淋巴细胞,由于经过两次免疫,这种淋巴细胞具有很强的产生抗体的能力。把具有免疫能力的小鼠淋巴细胞与生长迅速的小鼠肿瘤细胞(Myeloma)依Kennett法进行融合获得既生长繁殖迅速,又具有免疫力的杂种细胞。这种杂种细胞经过在96孔的培养板上进行克隆,把具有阳性免疫反应的细胞株再进行次级克隆,则可获得免疫力强的细胞株,扩增后可获得大量的抗体。到目前为止,不仅证明在XY型的异配性别的哺乳动物中有H-Y抗原存在,而且在ZW型的异配性别的鸟类以及爬行类,两栖类和鱼类中都发现有H-Y抗原。当然,ZW型的异配性别的动物H-Y抗原是存在于雌性,而不是雄性个体。

(二) 鱼类中的H-Y抗原及其与进化的关系

目前,已对若干种鱼类进行过实验,发现存在H-Y抗原。已知有H-Y抗原的鱼类分属于5个不同的目,15个种(见表)。其中包括XY型和ZW型的异配性别类型,即有的存在于雄性,有的存在于雌

性个体(见表1)。

表1 H-Y 抗原在鱼类中的表达

作 者	种 类	抗原存在的性别
Shalev et al (1978)	<i>Salmo gairdneri</i>	♀
	<i>Salvelinus alpinus</i>	♂, ♀
Müller & Wolf (1979)	<i>Lebistes reticulatus</i>	♂
	<i>Rutilus rutilus</i>	♂, ♀
	<i>Carassius auratus</i>	♂, ♀
	<i>Xiphophorus helleri</i>	♂
	<i>Barbus tetrazona</i>	♂, ♀
Pechan et al (1979)	<i>Xiphophorus maculatus</i>	♂
	<i>Haplochromis burtoni</i>	♂
	<i>Orizias latipes</i>	♂
	<i>Tilapia sp.</i>	♂
Shalev & Hueber (1980)	<i>Lebistes reticulatus</i>	♂
Wiberg (1982)	<i>Anguilla anguilla</i>	♀
Zaborski & Brusle (1982)	<i>Serranus cabrilla</i>	♂
Parmentier et al (1982)	<i>Cyprinus carpio</i>	♂
Secombes et al (1982)	<i>Salmo salar</i>	♂

Müller 和 Wolf (1979)^[10] 把用高纯度的大鼠品系制备的 H-Y 抗血清,分别同溪鱒 (*Salvelinus alpinus*)、虹鱒 (*Salmo gairdneri*)、斜齿鱈 (*Rutilus rutilus*)、鲫鱼 (*Carassius auratus*)、虎纹鲃 (*Barbus tetrazona*)、孔雀鱼 (*Lebistes reticulatus*) 和剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri*) 的精巢及卵巢的组织提取液混合。假如这些鱼的性腺组织中存在 H-Y 抗原,则 H-Y 抗血清就会被吸收。把经过鱼类性腺组织的 H-Y 抗原吸收的 H-Y 血清和未被吸收的抗 H-Y 血清对大鼠的上皮细胞作细胞毒性比较试验,发现被吸收的抗 H-Y 血清的毒力大大降低。鲑科及鲤科鱼类的精巢组织及卵巢组织对于抗 H-Y 血清都有反应,但看不出两者之间有何差别。而在鳉科鱼类,抗 H-Y 血清只被精巢组织吸收。这说明 H-Y 抗原系统的表达可能是在进化过程中逐步分化的。在较低等的鱼类中,如等椎类 (Isospondyli) 的鲑科鱼类及骨鳉类 (Ostariophysii) 的鲤科鱼类, H-Y 抗原在两性都表达。而在较为高等的鳉形目鱼类,这种抗原系统的表达则与异配性别有着更为紧密的联系。Pechan 等 (1979)^[12] 将 *Xiphophorus maculatus* 的 XY 及 YY 两类雄性个体精巢提取液对 H-Y 抗血清的吸收能力作了比较,发现 YY 型雄性个体的吸收能力显著高于 XY 型雄性个体。Laird 等 (1978)^[8] 对大西洋蛙的自身免疫实验也发现,雌雄两种性别的性腺对精巢提取液的刺激都有自身免疫反应。

(三) 鱼类 H-Y 单克隆抗体及自身免疫

Parmentier 等 (1982)^[11] 用 Balb/C 品系的小鼠制备鲤鱼精巢的单克隆抗体。经次级克隆培养的免疫小鼠的脾脏及肿瘤的融合细胞,对鲤鱼精子进行荧光免疫试验,发现无论与鲤鱼的精子涂片或精巢的冰冻切片都起阳性反应。而与诸如食管、肝脏、脑、胰脏和肾脏等体细胞都为阴性反应。实验中的所有单克隆抗体均可溶解精细胞。

Secombes 等 (1982)^[10] 把遗传性不同的虹鱒精巢提取液注射到体重 35—40 克的同种虹鱒的腹腔中。每条鱼的注射 50% 精巢与完全佐剂混合液的量是 0.1 毫升。实验鱼饲养于 12—17°C 的水中。注射后分别经过 4、6、8 周采血样。血清以 Baker 缓冲液在微孔滴定板上作系列稀释。每孔加入浓度为 4×10^7 细胞/毫升的新鲜虹鱒精液 50 微升,反应 3 小时后可见精子的凝集现象。这种现象说明是一种自身免疫凝集反应。

(四) 应用前景

在商品鱼生产中,人们都希望能把饵料更有效地转换成鱼肉。然而性腺的发育无疑地消耗大量的养料。而在那些繁殖力极高的罗非鱼,更由于在一定水域中过量的繁殖而大大降低了渔产量和商品质量。因此很早有些学者在研究用各种方法来抑制鱼类的性腺发育。诸如生产单性鱼(Purdom, 1969^[14]; Stanley, 1976^[17]; 1978^[18]; Pruginin et al., 1975^[13]; Shelton, 1982^[19]; Johnston & Youngson, 1982^[21])、人工诱发三倍体(Purdom, 1972^[16]; Walters, 1981^[20])和人工去势。人工去势包括手术去势和以高剂量的激素处理幼鱼,以及自身免疫技术。由于手术去势很麻烦,在大规模生产上意义不大。睾丸酮虽能有效地把雌鱼逆转为雄性鱼,但大量使用这种激素来生产商品鱼已有人提出对人体是否有不利影响的怀疑。

Parmentier 等人(1982)^[21]的实验表明,鲤鱼的 16 个单克隆抗体都不与食管、肝、脑、脾、肾等体细胞起任何反应,而能专一地与鲤鱼的精子起作用。即能与精细胞凝集并能分解精子。Secombes 等人(1982)^[14]在大西洋鲑及虹鳟上的自体免疫试验也发现有相同的现象。因而他们提出有可能应用 H-Y 抗体来诱导无性鱼。这对于养殖那些因过量繁殖而影响鱼类生长和产量的养殖业来说,无疑是个福音。Jaird 等(1978)^[13]详细地研究了大西洋鲑性器官及免疫系统的发生过程,发现性腺的胚芽在孵化前 6 天开始出现,而免疫系统的淋巴细胞早在孵化前 22 天就已经形成。因此以低渗抗原(Amend & Antipa, 1976)^[11]处理大西洋鲑的胚胎可能获得大量的无性鱼。当然 H-Y 抗原在性分化过程中所起作用及其机理,还待进一步研究。而且如何把这种原理广泛地应用于渔业生产,还有许多技术问题需待解决。

由于 H-Y 抗原在 XY 型动物的精巢分化及 ZW 型动物的卵巢分化过程中起着重要的作用,用单克隆抗体制备的 H-Y 抗体可能成为研究精、卵细胞发生的一种很好的研究工具。尽管在鱼类中关于 XY 和 ZW 等的异配性别已有不少报导,但并不象哺乳动物的性染色体与常染色体有那样明显的形态差异。应用 H-Y 抗原理论,能较容易地判别受试鱼类的异配类型。假如 H-Y 抗原存在于精巢,说明这类鱼为 XY 型的异配性别类型;如果 H-Y 抗原存在于卵巢,则说明这类被试鱼为 ZW 型的异配性别类型。由于 XY 型的异配类型, H-Y 抗原的表达存在于 Y 染色体上。因而,当进行吸收反应时 YY 型的超雄性个体与同种的 XY 型雄性个体有着十分显著的差别^[12]。因此, H-Y 抗原可能成为建立鉴别 XY 型及 YY 型雄性个体的方法的理论基础。当然,对于较低等的鱼类, H-Y 抗原也可能同时存在于精巢和卵巢组织中。

众所周知,特异性和记忆是免疫反应的最基本的特征。所谓特异性和识别,就是由一种外来蛋白所建立的记忆或免疫性,并不能防止另一种外来蛋白的入侵。也就是说机体所产生的一种识别特定抗原的抗体是很专一的,它并不能识别另一种抗原。应用这一原理, H-Y 抗原就很有希望成为鉴别鱼类种和品种的一种有效工具。有些鱼类同属的不同种或亚种不同,往往在形态上很难以区分。对于同一种的不同品种之间,靠形态特征来鉴别就更为困难了。尤其是品种之间杂交后代分离出的一些个体,外形上与某个亲本就更无法找出差别来了。如能用原来纯品种的 H-Y 抗原制备抗体,通过免疫学血清学方法,对可疑个体进行检验,可望作出更为准确的判断。

参 考 文 献

- [1] Amend, D. & D. Antip, 1976. Uptake of bovine serum albumin by trout from hyperosmotic solutions: a model for vaccinating fish. *Science*, 192: 732—734.
- [2] Bechtol, K. B., S. C. Brown & R. H. Kennel, 1979. Recognition of differentiation antigens of spermatogenesis in the mouse by using antibodies from spleen cell/myeloma hybrids after syngeneic immunization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76(1): 363—369.

- [3] Billingham, R. E. & W. K. Silver, 1960. Studies on tolerance of the Y Chromosome antigen in mice. *J. Immunol.*, **85**: 14—26.
- [4] Bishop, D. W. & G. C. Carlson, 1971. Immunologically induced spermatogenesis in guinea pigs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **124**: 247—266.
- [5] Edward, M. Donaldson & G. A. Hunter, 1982. The ocean release and contribution to the fishery of all-female and sterile groups of coho salmon (*Oncorhynchus Kitutch*). *Proc. Intern. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, **78**.
- [6] Eichwald, E. J. & C. R. Silmsen, 1955. Untitled communication, *Transp. Bull.*, **2**: 148—149.
- [7] Johnstone, R. & A. F. Youngson, 1982. The production of genetically all-female salmon stocks. *Proc. Intern. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, **79**.
- [8] Laird, L. M., A. F. Ellis, A. R. Wilson & F. G. Holliday, 1978. The development of the gonadal and immune systems in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and a consideration of the possibility of inducing autoimmune destruction of the testis. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **18**(4): 1101—1106.
- [9] Laird, L. M., A. R. Wilson & F. G. T. Holliday, 1980. Field trials of a method of induction of autoimmune gonad rejection in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Reprod. Natur. Develop.*, **20**: 1781—1788.
- [10] Müller, U. & U. Wolf, 1979. Cross-reactivity to mammalian anti-H-Y antiserum in teleostean fish. *Different.*, **14**: 158—187.
- [11] Parmentier, H. K., L. P. M. Timmermans, E. Egberts & J. J. M. van Gronigen, 1982. Monoclonal antibodies in the study of gonadal differentiation in the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Proc. Intern. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, **80**.
- [12] Pechan, P., S. S. Wachtel & R. Reinboth, 1979. H-Y Antigen in the Teleost. *Different.*, **14**: 189—192.
- [13] Pruginin, Y., S. Rothbard, G. Wolfarth, A. Halevy, R. Moav & G. Hulata, 1975. All-female broods of *Tilapia nilotica* × *T. aurea* hybrids. *Aquacult.*, **6**: 11—21.
- [14] Purdom, C. E., 1969. Radiation-induced gynogenesis in fish *Heredity*, **24**: 431—444.
- [15] Purdom, C. E., 1972. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity*, **29**: 11—24.
- [16] Secombes, C. J., L. M. Laird & I. G. Priede, 1982. Fish sterilisation: the autoimmune approach. *Proc. Intern. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, **81**.
- [17] Stanley, J. G., 1976. Production of hybrid, androgenetic and gynogenetic grass carp and carp. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **105**: 10—16.
- [18] Stanley, J. G., 1978. Control of sex in fishes with special references to checking reproduction in grass carp. *Proc. Intern. Grass Carp Confe*, Gainesville, Florida, Jan. 9—12. 42pp.
- [19] Shelton, W. L., 1982. Monosex grass carp production through breeding sex-reversed broodstock. *Proc. Intern. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, **82**.
- [20] Walters, W. R., G. S. Libey & C. L. Chrisman, 1981. Induction of triploidy in channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **310**—312.