

牙鲆外周血细胞的超显微结构观察研究^{*}

王宏田 张培军

(中国科学院海洋研究所)

姜 明

(青岛海洋大学)

鱼类的外周血细胞是其免疫系统的重要组成部分,对于血细胞形态与结构的观察,有助于更好地理解鱼类免疫机理。作者在实验中发现,不同鱼类血细胞的种类及其结构并不完全相同,因此,有必要进行大量的实验以确定鱼类外周血细胞的组成是否可以反映其种间差异。

牙鲆是中国重要的海水经济鱼类,目前有关其血细胞的形态学的研究尚未见报道。本文以牙鲆外周血细胞为材料研究其超显微结构,以便能准确地了解牙鲆血细胞的分类及不同血细胞的形态结构。

一、材料与方法

1. 牙鲆的饲养

实验用牙鲆 7 条,平均体重为 $460 \pm 30\text{g}$,于中国科学院海洋研究所水族楼饲养。饲养水体为 $(2 \times 1.5 \times 1.5)\text{m}^3$,通气,定时换水。

2. 电镜样品制备

采用尾静脉取血,血液于 4°C 放置 24 h 后血细胞与血清分离,吸取上层血清,将血细胞先用 3.0% 的戊二醛固定,1% 锇酸后固定,常规脱水, Epon 812 包埋, LKB NOVA 超薄切片机超薄切片,双铅染色, H-7000 电镜观察。

二、结 果

1. 红细胞 (图版 a, b)

细胞椭圆形或长饼状,表面光滑。细胞核位于细胞的中央,呈梭形或不规则的长椭

^{*} 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3867 号。
国家 973 课题“鱼类的特异性免疫系统和疫苗免疫”资助项目, G1999012006 号。
收稿日期: 2000 年 1 月 18 日。

圆形，细胞核核膜清晰，异染色质在核内呈片状分布。胞质均一，电子密度较低，其中有线粒体与内质网分布。有些红细胞的胞质中含有囊泡，有的囊泡含有吞饮泡（图版 b）。

2. 血栓细胞（图版 c, d）

细胞呈纺锤形，质膜表面的胞质呈犬齿状连接，使整个细胞的外周显得具有较多的囊泡状结构。细胞核位于细胞的中央，核膜清晰，异染色质在核中呈片状分布。胞质染色较均一，其中可见线粒体等细胞器。胞质中含有泡状结构，其中含有吞饮泡。

3. 淋巴细胞（图版 e）

牙鲆的淋巴细胞呈圆形，细胞的周围有细长或粗短的突起，有的淋巴细胞外表呈现一种星形状态。淋巴细胞的胞核体积及核质均较大。胞质中含有线粒体、核糖体等细胞器。

4. 单核细胞（图版 f, g）

单核细胞的外形呈长方形，表面较光滑。细胞核在细胞中所占体积较小，往往偏于细胞的一侧。异染色质在核中呈片状分布。胞质中分布有线粒体等细胞器。有些细胞的胞质含有染色较深、体积大小不一的电子致密颗粒。胞质中含有空泡结构，有的空泡中有电子致密物质或吞饮泡。

5. 粒细胞（图版 h, i）

I 型粒细胞（图版 h） 细胞椭圆，外表光滑，胞核圆形，核内几乎充满异染色质。细胞核的一侧环绕着丰富的内质网结构。胞质染色较浅，分布着丰富的颗粒结构，颗粒染色较浅。胞质中囊泡结构发达，其中含有吞饮泡。

II 型粒细胞（图版 i） 细胞圆形，外表较光滑。胞核偏于细胞的一侧，核仁及核周间隙清晰。异染色质含量较少，沿核内缘分布。空泡中含有吞饮泡或电子致密颗粒。这类粒细胞的颗粒体积较大，数量较少。胞质中分布有线粒体等细胞器。

三、讨 论

1. 鱼类血细胞的分类

人和哺乳动物体内的血细胞通常分为红细胞和白细胞，鱼类亦如此。鱼类白细胞又分为淋巴细胞、单核细胞、粒细胞、血栓细胞等，也有的学者将不成熟的白细胞作为一种独立的细胞类型（Fänge, 1994）。

2. 红细胞

牙鲆血液中的红细胞具有细胞核，胞质中含有细胞器，这与许多鱼的红细胞相似（吴维宁，1990；袁仕取等，1998），表明牙鲆红细胞代谢较旺盛。牙鲆的红细胞中还存在着空泡结构，有的空泡含有吞饮物，这一现象在已经研究过的鱼类中还未见报道。许多实验表明鱼类的红细胞具有吞噬功能（王旭东等，1996），这种吞噬功能可能与空泡结构的存在相适应。

3. 血栓细胞

牙鲆的血栓细胞中含有丰富的空泡状和囊状结构，与鳅鱼（袁仕取等，1998），鲫鱼（朱洪文等，1985）以及猫鲨（Morrow *et al.*, 1980）相似。血栓细胞通常被认为与

鱼类凝血作用有关,其功能相当于哺乳动物中的血小板,鱼类血栓细胞表面的连接系统与哺乳类动物中血小板的表面连接系统极为相似(Behnke, 1968),这可能与增加血小板的凝血功能相适应。Morrow等(1980)在电镜样品中观察到猫鲨的外周血液中含有3种形态的血栓细胞,在牙鲆外周血细胞的电镜样品中,主要存在纺锤形血栓细胞。在牙鲆的外周血液中还观察到一类血细胞(图版j),胞质中的囊泡结构十分发达,与血栓细胞相似。Morrow等(1980)认为这类细胞属于血栓细胞的一种,但这种细胞表面十分光滑,没有典型的犬齿状交错结构,因此,我们还难以肯定这类细胞是血栓细胞,它可能是一种已经脱颗粒的粒细胞。

血栓细胞是否具有吞噬功能,不同的研究者有争议,Ellis(1977)和Morrow等(1980)认为,血栓细胞能够通过质膜上的小孔机械地摄入胞外物质,但不具备吞噬功能;Barber等(1981),Ferguson(1976),袁仕取等(1998)认为某些鱼类的血栓细胞可能具有吞噬功能。牙鲆血栓细胞泡状结构中吞饮泡的存在,表明牙鲆的血栓细胞可能同样具有吞噬功能。

4. 淋巴细胞

淋巴细胞的特征是细胞核在胞质中所占体积较大。虽然有的学者将淋巴细胞分为大、小两类,但更多的学者认为不应该将淋巴细胞的大、小作为分类标准(袁仕取等, 1998)。Morrow等(1980)在猫鲨的外周血中观察到两种形态的淋巴细胞,我们在牙鲆的外周血中只观察到一种形态的淋巴细胞,细胞表面有许多细小的突起。这些突起表明淋巴细胞可能具有吞噬功能(朱洪文等, 1985)。

5. 单核细胞

与鳕鱼等鱼类相比,牙鲆单核细胞中的空泡结构并不发达,也许是由于发育阶段不同,或是鱼类种间差异所造成的,还需进一步验证。

电镜观察中发现了很像巨噬细胞的一种细胞(图版e-II),细胞形状极不规则,表面伪足样突起十分发达。核周围有丰富的内质网结构,胞质外周的泡状结构较丰富,有的透明,有的含有电子致密颗粒。

6. 粒细胞

在不同的鱼类中,粒细胞的形态不完全相同。在光镜水平下根据粒细胞对Romanowsky染料的亲合特性及其形态特征,将粒细胞分为嗜酸性、嗜碱性、嗜中性3种类型。在电镜观察中如何将粒细胞分类,不同的报道并不一致,而且不同的鱼类间其粒细胞的形态有时差异较大。猫鲨外周血中的粒细胞有4种类型(Morrow *et al.*, 1980)。鲫鱼外周血中存在有3种形态的粒细胞(朱洪文等, 1985),鳕鱼的外周血中存在两种类型的粒细胞(袁仕取等, 1998)。在牙鲆的外周血中我们观察到两种形态的粒细胞,根据粒细胞形态的差异,我们将其分为I型、II型两种类型,这两种类型的粒细胞与猫鲨、鲫鱼、鳕鱼等的粒细胞结构不完全相同。造成这种差异可能与鱼的种类不同有关,也可能与粒细胞处于不同的发育时期有关。

7. 浆细胞

鱼类外周血中是否存在浆细胞,不同的研究结论不同。Morrow等(1980)在猫鲨的外周血中发现了一个浆细胞。鲫鱼(朱洪文等, 1985)、鳕鱼(袁仕取等, 1998)的外周血中也发现了类似于解剖学浆细胞的细胞。Ellis(1976, 1977)认为鱼类体内不存在

分化完全的浆细胞。本实验在牙鲆的外周血中未发现浆细胞或类似细胞。对于哺乳动物而言，浆细胞是B细胞分化发育的终极细胞，能够分泌抗体，发挥着重要的免疫作用。为更好地理解牙鲆的免疫机理，有必要在今后的工作中确定其体内是否存在浆细胞。

依据哺乳动物血细胞分类的方法，作者将鱼类血细胞进行了分类。有些细胞在形态、结构上比较容易辨别，如红细胞、血栓细胞等，但有的细胞不是很容易分类，如粒细胞，这主要是因为不同鱼类的细胞形态差异较大，而且某些环境因子以及样品的处理过程也有可能影响细胞形态。因此，在未来的工作中，有必要研究清楚各种血细胞的功能，把各种血细胞的功能与形态相结合对细胞进行分类是一种更加完善的方法。

参 考 文 献

- 王旭东、饶家荣，1996，红细胞广泛吞噬作用的发现和研究，水产学报，20（1）：72—75。
- 朱洪文、王浩、秦国强，1985，鲫鱼（*Carassius auratus*）外周血细胞显微和亚显微结构的观察，动物学研究，6（2）：147—153。
- 吴维宁，1990，团头鲂血细胞发生的研究，水产学报，14（4）：328—335。
- 袁仕取等，1998，鳊鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察，水生生物学报，22（1）：39—45。
- Barber, D. L., J. E. M. Westermann, M. G. White, 1981, The blood cells of the Antarctic icefish *Chaenocephalus aceratus* L.: light and electron microscopic Observation, *J. Fish Biol.*, 19: 11—28.
- Behnke, O., 1968, An electron microscope study of the Megacaryocyte of the Rat Bone Marrow. 1) The development of the demarcation membrane system and the platelet surface coat, *J. Ultrastruct. Res.*, 24: 412—433.
- Ellis, A. E., 1976, Leucocytes and related cells in the plaice (*Pleuronectes platessa*), *J. Fish Biol.*, 8（2）：143—156.
- Ellis A. E., 1977, The leucocytes of fish: A review, *J. Fish Biol.*, 11: 453—491.
- Fänge, R., 1994, Blood cells, haemopoiesis and lymphomyeloid tissues in fish, *Fish and Shellfish Immunol.*, 4: 405—411.
- Ferguson, H. W., 1976, The ultrastructure of plaice (*Pleuronectes platessa*) leucocytes, *J. Fish Biol.*, 8: 139—146.
- Morrow, W. J. W. and A. Pulsford, 1980, Identification of peripheral Blood leucocytes of the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.) by electron microscopy, *J. Fish Biol.*, 17: 461—475.
- Rombout, J. H. W. M., H. E. Bot and J. J. Taverne-Thiele, 1988, Immunological importance of the second gut segment of carp II Characterization of mucosal leucocytes, *J. Fish Biol.*, 35: 167—178.

IDENTIFICATION OF PERIPHERAL BLOOD CELLS OF FLOUNDER *PARALICHTHYS OLIVACEUS* BY ELECTRON MICROSCOPY*

Wang Hongtian, Zhang Peijun

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

Jiang Ming

(Ocean University of Qingdao)

ABSTRACT

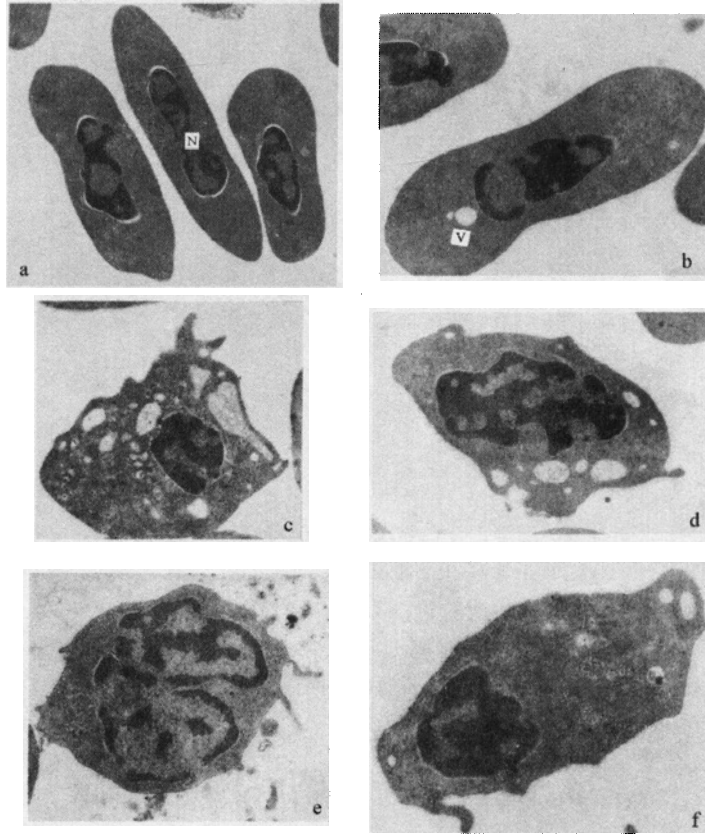
Electron microscopy examination of the ultrastructure of the peripheral blood cells of *Par-*

* Contribution No. 3867 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.

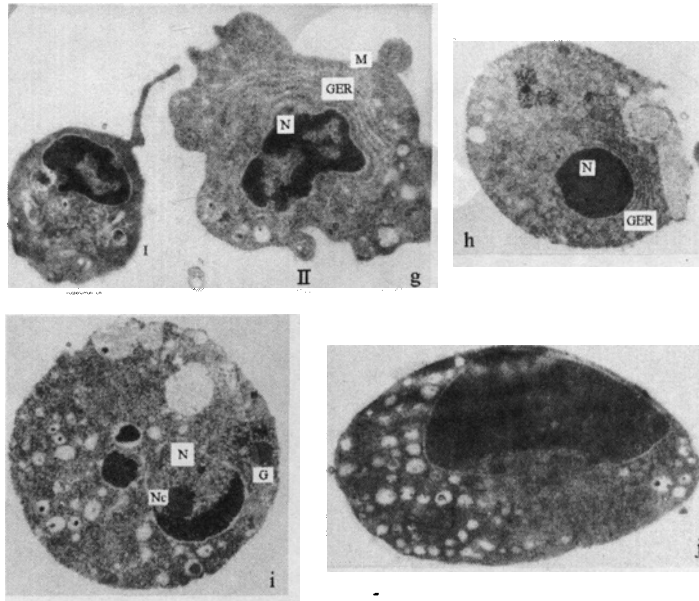
alichthys olivaceus showed that its blood cells were classifiable as erythrocytes (red cells) and leucocytes (white blood cells). The leucocytes were classifiable as lymphocytes, monocytes, thrombocytes and two types of granulocytes. A phagocyte-like leucocyte was observed in the peripheral blood too. The ultrastructure of these cells were described in details. According to the structure, no plasma cells were found in the peripheral blood.

王宏田等：牙鲆外周血细胞的超显微结构观察研究

图版 (Plate)



- a. 牙鲆血红细胞的超显微结构, $\times 7\,500$, N (nucleus) 表示细胞核;
b. 牙鲆红细胞中含有空泡结构, $\times 12\,000$, V (vesicle) 表示囊泡;
c. 牙鲆血栓细胞的超显微结构, $\times 13\,500$;
d. 牙鲆血栓细胞的超显微结构, $\times 15\,000$;
e. 牙鲆淋巴细胞的超显微结构, $\times 15\,000$;
f. 牙鲆单核细胞的超显微结构, $\times 12\,000$



g. I 未知类型的细胞, $\times 12\,000$; II 类似巨噬细胞的血细胞超显微结构, $\times 12\,000$, GER (rough endoplasmic reticulum) 表示粗面型内织网; M (mitochondria) 表示线粒体; N (nucleus) 表示细胞核; V (vesicle) 表示囊泡; h. I 型粒细胞超显微结构, $\times 10\,500$, GER (rough endoplasmic reticulum) 表示粗面型内织网; G (granule) 表示颗粒; i. II 型粒细胞的超显微结构, $\times 12\,000$, N: nucleus, 细胞核; Nc (Nucleus core) 表示核仁; G (granule) 表示颗粒; j. 一种难以判断类型的血细胞, 可能是血栓细胞或者是脱颗粒的粒细胞, $\times 18\,000$