中国对虾组织细胞中的过氧化物酶体 *

刘晓云[1] 张志峰[2] 包振民[2] 姜 明[1]

(中国海洋大学 [1]环境科学与工程学院 [2]海洋生命学院 青岛 266003)

提要 运用电镜细胞化学技术,研究中国对虾(*Penaeus chinensis*)组织细胞中的过氧化物酶体,透射电镜下观察中国对虾的淋巴器、肝胰腺、触角腺和中肠4种组织。观察显示:过氧化物酶体主要存在于肝胰腺细胞和触角腺的迷路上皮细胞中。在肝胰腺的R-细胞中过氧化物酶体的形成与粗面内质网、脂滴和胞质溶胶有密切关系。肝胰腺中的R-细胞和触角腺的迷路上皮细胞富含过氧化物酶体,提示这两个组织在对虾降解外来有毒物质的过程中发挥着重要的作用。

关键词 中国对虾(*Penaeus chinensis*),过氧化物酶体,肝胰腺,触角腺

中图分类号 Q2,Q813,Q95 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)11-0043-04

过氧化物酶体作为一种细胞器,含有多种氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶,其功能是通过过氧化氢酶的作用,将有害于细胞的代谢产物(H_2O_2)分解成水和氧,防止对细胞有害的H_2O_2在细胞内堆积,起到保护细胞的作用,并利用H_2O_2通过氧化反应来氧化多种有害的底物,使之成为没有毒性的物质。最近几年,在对甲壳动物的研究中,已把过氧化物酶看作一种具有免疫功能的酶,与其他一些酶共同作为检测甲壳动物免疫功能的指标酶[1-3]。这些研究工作多以测定血清和组织提取液中酶活性为手段,而对含有过氧化物酶的细胞器——过氧化物酶体在甲壳类动物组织中的存在部位则未见报道。了解过氧化物酶体在对虾组织细胞中的存在部位和形成方式,有助于更好地认识这种细胞器,并进一步认识这种细胞器在对虾抵御外来有害物质中所起到的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

从活体中国对虾(*Penaeus chinensis*)上分别切取淋巴器、肝胰腺、触角腺和中肠4种组织进行实验。

1.2 方法

分别将上述4种组织材料切成小于1 mm^3的小块,2.5%戊二醛中预固定1 h,0.1 mol/L的二甲胂酸钠缓冲液冲洗。将经预固定的材料切成60~80 μm的薄片,在含有过氧化物酶孵育液的青霉素小瓶中37℃下孵育1 h(孵育液参照钟慈生译著[4]的方法稍作改动)。0.1 mol/L的二甲胂酸钠缓冲液冲洗,乙醇梯度脱水,Epon812包埋、加温聚合。LKB-Nove超薄切片机超薄切片,醋酸铀染色,H-7000透射电镜观察、拍照。

对照实验在孵育液中去掉H_2O_2并加入50 mmol/L的-氨基-1,2,4-三唑。

2 结果

透射电镜下分别观察中国对虾的淋巴器、肝胰腺、触角腺和中肠4种组织的超薄切片,发现过氧化物酶体主要存在于肝胰腺的R-细胞、F-细胞和触角腺的迷路上皮细胞中(图1-1,1-2,1-3)。

2.1 肝胰腺中的过氧化物酶体

在肝胰腺中,R-细胞中的过氧化物酶体与粗面内质网和脂滴在形态上有着密切的联系,并且这3种细胞超微结构之间的关系存在着一个变化过程。首先,R-细胞的粗面内质网大量聚集在脂滴周围,这些

* 国家重点基础研究发展规划项目G1999012005号;国家自然科学基金项目80070589号。

第一作者:刘晓云,出生于1960年,高级工程师。通信地址:青岛市鱼山路5号,266003,电话:0532-2032447,E-mail:Liuxiaoyun5@2911.net

收稿日期:2003-04-24;修回日期:2003-09-01

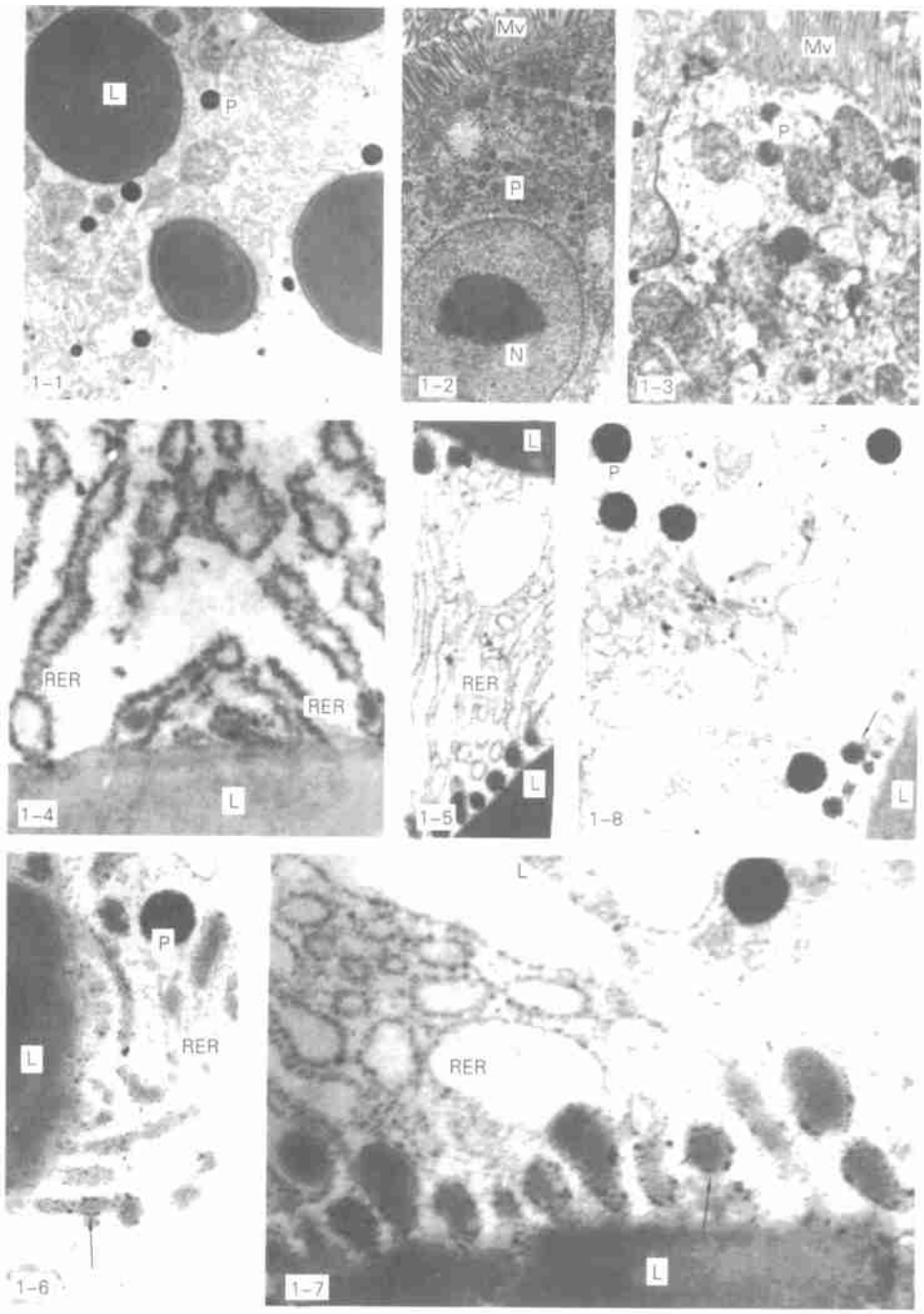

图 1　中国对虾组织细胞中的过氧化物酶体

Fig.1　The peroxisome in the tissue cell of *Penaeus chinensis*

1-1.R-细胞中的脂滴和过氧化物酶体,×6 000;1-2.F-细胞,×3 500;1-3.迷路上皮细胞,×4500;1-4.R-细胞中的脂滴和粗面内质网,×3 500;1-5.R-细胞中的脂滴和粗面内质网,×1 600;1-6.R-细胞中脂滴表面芽状突起呈弱的过氧化物酶阳性反应(→),×2 300;1-7.R-细胞中脂滴表面的芽状突起与粗面内质网,×3 400;1-8.R-细胞中的初生过氧化物酶体(→)和成熟过氧化物酶体(P),×1 600.

L- 脂滴;P- 过氧化物酶体;RER- 粗面内质网;N- 细胞核

1 - 1. The lipid and peroxisome in the R- cell, × 6000; 1 - 2. F- cell, × 3 500; 1 - 3. The labyrinth epithelium, × 4 500; 1 - 4. The lipid and rough endoplasmic reticulum in the R- cell, × 3 500; 1 - 5. The lipid and rough endoplasmic reticulum in the R- cell, × 1 600; 1 - 6. Weak peroxisome positive reaction on the buds of lipid's face in the R- cell, × 2 300; 1 - 7. The buds on the face of lipid and rough endoplasmic reticulum in the R- cell, × 3 400; 1 - 8. The original peroxisome(→) and the mature peroxisome(P) in the R- cell, × 1 600. L- lipid; P- peroxisome; RER- rough endoplasmic reticulum; N- nucleus.

内质网的一端连接于脂滴表面(图 1 - 4,1 - 5),随后脂滴中的成分开始进入粗面内质网腔,使脂滴呈现放射状出芽,这些脂滴表面的芽状结构开始表现出过氧化物酶阳性反应(图 1 - 6)。局部放大芽状物,更清楚地显示出它们与粗面内质网及脂滴的关系(图 1 - 7)。进一步,粗面内质网在近脂滴端发生缢缩,并与脂滴分离,形成一些小圆形或椭圆形的呈过氧化物酶弱阳性反应的结构,这些圆形或椭圆形结构的体积会逐渐增大,过氧化物酶阳性反应亦逐渐增强,最终成为呈过氧化物酶强阳性反应的成熟过氧化物酶体(图 1 - 8)。当细胞中出现许多成熟的过氧化物酶体时,脂滴表面变得平滑(图 1 - 1)。F- 细胞中有和 R- 细胞中一样的过氧化物酶体颗粒(图 1 - 2)。

2.2 触角腺中的过氧化物酶体

在触角腺中,过氧化物酶体颗粒主要出现在迷路上皮细胞中(图 1 - 3),其形态、大小与肝胰腺细胞中的过氧化物酶体相似。

3 讨论

在所取对虾的 4 种组织中,过氧化物酶体主要存在于肝胰腺细胞和触角腺的迷路上皮细胞中。由于过氧化物酶体的主要作用之一是清除外来药物或毒物对机体的侵害,即当有害物质被吸收到细胞中,细胞中存在的过氧化物酶体作为一个“来料加工”型的细胞器,通过膜上的运输蛋白将底物从细胞质运进过氧化物酶体,在酶分子的作用下将底物分解,从而完成对有毒物质的解毒作用[5]。肝胰腺的 R- 细胞具有吸收功能;触角腺作为甲壳类的排泄器官具有对尿液成分进行重吸收的作用,触角腺的迷路相当于哺乳动物肾脏中的近曲小管,是重吸收的重要部位[5,6]。对虾肝胰腺的 R- 细胞和触角腺的迷路上皮细胞富含过氧化物酶体,提示这两种组织在对虾降解有毒物质的过程中发挥着重要的作用。F- 细胞是肝胰腺中合成与分泌酶成分的细胞,细胞所合成的酶可被分泌至肝小管中[7]。与 R- 细胞及触角腺迷路上皮两种具吸收功能细胞中含有过氧化物酶体不同的是,F- 细胞合成的过氧化物酶可能通过分泌作用提高对虾血淋巴中的过氧化物酶浓度,关于这一点,有待进一步研究证实。

过去一般认为过氧化物酶体由内质网以出芽方式形成。最近几年的研究认为,过氧化物酶体的膜脂由粗面内质网合成,而过氧化物酶体生长所需的蛋白质和脂类都直接来源于胞质溶胶[8]。我们在对肝胰腺 R- 细胞的观察中发现,过氧化物酶体的形成不仅与粗面内质网有关,而且与脂滴也有某种关系。在 R- 细胞中,过氧化物酶体最初是由脂滴成分与粗面内质网共同构成的。这些最初形成的颗粒仅表现弱的过氧化物酶阳性反应,逐渐地随着这种由粗面内质网包被、来自脂滴的颗粒与脂滴分离、并逐渐增大,颗粒的过氧化物酶阳性反应逐渐增强,表明不断有来自胞质的新的成分进入到颗粒中。在 Vogt[9] 对对虾肝胰腺的研究报道中,也看到过过氧化物酶体与粗面内质网及脂滴的密切关系。由此作者认为,中国对虾肝胰腺的 R- 细胞中过氧化物酶体的膜脂由粗面内质网提供,过氧化物酶体生长所需的脂类来源于 R- 细胞中丰富的脂滴,而酶蛋白则主要由胞质中游离核糖体合成后经胞质溶胶中的分选蛋白带到新形成的过氧化物酶体中,从而形成成熟的过氧化物酶体。

过氧化物酶体作为中国对虾免疫相关酶中的一种,已受到部分学者的重视。有证据证明免疫多糖可提高对虾血清中的过氧化物酶浓度[11];病理情况下,对虾血细胞可释放过氧化物酶[10]。但过氧化物酶在对虾免疫防御反应中的地位,具体作用仍不十分清楚。我们观察对虾组织细胞中的过氧化物酶体,试图从形态学角度了解这种含有过氧化物酶等多种酶的细胞器与对虾免疫防御反应的关系。从过氧化物酶体集中存在于肝胰腺的 R- 细胞和触角腺的迷路上皮细胞这两种具有吸收与重吸收功能的细胞中的结果分析,过氧化物酶体与对虾清除进入机体有害异物的免疫反应具有密切的关系。另一方面,过氧化物酶体作为一种细胞器,其形成方式一直是许多学者研究的

热点,一些研究已进行到分子水平[4,8,11,12]。我们以对虾组织为材料,报道过氧化物酶体在细胞中形成的形态学过程,以期为人们了解这种细胞器的形成方式提供一些资料,使人们更进一步地认识这种细胞器。

参考文献

1 刘树青,江晓路,牟海津,等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用. 海洋与湖沼,1999,30(3):278-280

2 刘岩,江晓路,吕清,等. 聚甘露糖醛酸对中国对虾免疫相关酶活性溶菌溶血活性的影响. 水产学报,2000,24(6):549-553

3 钟慈声主译. 酶组织细胞化学技术. 上海:上海医科大学出版社,1989. 57-61

4 赵守城. 过氧化物酶体的生物发生与疾病. 生命科学,2000,12(4):181-184

5 Peterson D, RLoissi R F. Utrastructure of the crayfish kidney-coelomosac, labyrinth, nephridial canal. J Morph, 1973, 141:133-146

6 姜乃澄,周双林. 日本沼虾触角腺形态学的初步研究. 浙江大学学报,2001,28(3):309-314

7 刘晓云,姜明. 中国对虾肝小管管壁细胞结构研究. 青岛海洋大学学报,1997,27(4):515-520

8 陈诗书,汤雪明主编. 医学细胞与分子生物学. 上海:上海医科大学出版社,1995.263-268

9 Vogt G, Storch V, Quinitio E. Mdgut gland as monitor organ for the nutritionalvalue of diets in *Penaeus monodon*. Aquacul, 1985, 48:1-12

10 刘晓云,张志峰,马洪明. 中国对虾血细胞酶细胞化学的初步研究. 青岛海洋大学学报,2002,32(2):259-265

11 朱忠勇. 过氧化物酶与过氧化氢酶. 临床检验杂志,1998,16(1):64

12 刘惠敏. 大鼠肝微粒体中的脂肪酸分析. 医学研究通讯,2001,30(8):10-12

THE PEROXISOME IN THE TISSUE CELL OF *Penaeus chinensis*

LIU Xiao-Yun[1] ZHANG Zhi-Feng[2] BAO Zhen-Min[2] JIANG Ming[1]

([1] *College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao*, 266003)

([2] *College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao*, 266003)

Received: Apr., 24, 2003

Key Words: *Penaeus chinensis*, Peroxisome, Hepatopancreas, Antennary gland

Abstract

Electron microscope cytochemistry technique was used to study the peroxisome in the tissue of *Penaeus chinensis*. The lymphoid organ, hepatopancreas, antennary gland and mid-gut were observed under electron microscope. The results showed that the peroxisome mainly exists in the R-cell of hepatopancreas and the labyrinth epithelium of antennary gland. It was suggested that they play an important role in degrading foreign poison. In the R-cell the forming of peroxisome is relative to the rough endoplasmic reticulum, lipid and cytoplasmic solution.

(本文编辑:刘珊珊)