

# 半滑舌鳎肾脏组织结构与细胞种类研究

孙 斌<sup>1</sup>, 孙金生<sup>1</sup>, 张丽娜<sup>2</sup>, 肖 鹏<sup>3,4</sup>

(1. 天津师范大学 生命科学学院, 天津 300387; 2. 海洋生态养殖国家地方联合工程实验室, 山东 青岛 266071; 3. 中国科学院 海洋研究所 实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071; 4. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生物学与生物技术功能实验室, 山东 青岛 266071)

**摘要:** 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)是中国重要的海水养殖鱼类品种, 目前对于其肾脏结构与细胞种类的研究较少。本研究以半滑舌鳎肾脏为研究对象, 通过切片技术、免疫组织化学与显微镜观察, 描述半滑舌鳎肾脏结构与细胞分布情况。结果显示, 半滑舌鳎的肾脏可以分为头肾与体肾两部分; 头肾较小, 具有独立的结构, 位于肾脏前部, 靠近脑, 形态上呈分叉状; 头肾由淋巴髓样细胞构成, 无肾小球等分泌结构, 免疫细胞丰富, 包括淋巴细胞、单核细胞、颗粒细胞, 是半滑舌鳎免疫细胞的主要生发部位之一, 是免疫系统的重要组成; 半滑舌鳎的体肾与头肾后部分叉处相连, 呈纺锤状, 紧贴腹腔背部, 向后延伸; 体肾主要由肾单位组成, 有丰富的肾小囊、近曲小管、远曲小管和集合管结构, 表明其具有排泄功能。

**关键词:** 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*); 肾脏; 组织结构; 石蜡切片; 超薄切片

中图分类号: Q174 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2017)04-0024-07

DOI: 10.11759/hyxx 20160622001

肾脏是鱼类重要的器官之一, 呈细长型, 位于体腔背部紧贴于脊椎的位置, 占据整个体腔背侧壁的长度, 由一层腹膜与肝脏、胃等内脏器官分隔。鱼类肾脏是一个结构复杂、功能多样的器官, 担负着排泄、调节渗透、造血和免疫应答等多重功能<sup>[1]</sup>。硬骨鱼类的肾脏一般可以分为头肾和体肾两部分, 头肾位于肾脏最前端。在形态上, 一些鱼类头肾与体肾形成一个整体<sup>[2]</sup>, 有的鱼可以明显区分头肾与体肾<sup>[3]</sup>。头肾是硬骨鱼类重要的造血和免疫器官, 与高等脊椎动物的骨髓类似, 参与造血; 是免疫细胞如巨噬细胞、颗粒细胞、B 淋巴细胞发生、分化和增殖的重要场所, 也是捕获抗原和产生抗体的主要器官<sup>[4]</sup>, 在免疫应答过程中发挥作用。硬骨鱼类的体肾是一个完整独立的组织结构, 又可分为中肾和后肾, 主要由肾单位、肾小管和填充期间的间质淋巴样组织(也称为间组织)所构成<sup>[5]</sup>, 是硬骨鱼类重要的调节渗透和排泄器官。

目前, 对于鱼类肾脏的研究主要有形态、发育、细胞组成及功能等方面。有研究利用组织学和组织化学方法分析草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)头肾的组织发生<sup>[6]</sup>; 对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)头肾印迹片、光镜片进行观察, 表明大黄鱼头肾是其免疫细胞的生发中心, 在免疫防御系统中具有重要作用<sup>[4]</sup>; 在肾脏发育研究方面, 阐述了牙鲆(*Paralichthys oliva-*

*ceus*)从孵化至 13 个月阶段的肾脏发育过程和细胞组成变化<sup>[7]</sup>; 还有研究利用石蜡切片技术和透射电镜技术, 阐述了驼背鲈(*Cromileptes altivelis Valenciennes*)肾脏的显微和超微结构<sup>[8]</sup>。

半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)属鲽形目(Pleuronectiformes)、舌鳎科(Cynoglossidae)、舌鳎属(*Cynoglossus*), 俗称牛舌、鳎目、鳎米等<sup>[9]</sup>。半滑舌鳎作为中国重要的海水鱼类养殖品种, 随着养殖规模的迅速扩大, 病害问题逐渐成为限制产业发展的重要瓶颈因素之一, 亟待解决。在半滑舌鳎的病害中, 脾肾坏死症可以引起患病鱼的肾脏发生严重的病理变化<sup>[10]</sup>, 最终导致死亡。由于对半滑舌鳎肾脏组织结构缺乏系统的认知, 在疾病病理方面研究不足, 难以建立有效的疾病诊断和治疗方法。本研究通过组

收稿日期: 2016-06-22; 修回日期: 2016-12-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31672692); 山东省自主创新及成果转化专项(2014ZZCX06204); 鳌山科技创新计划(2015ASKJ02)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No.31672692; Independent Innovation and Achievements Transformation Special Foundation of Shandong Province, No.2014ZZCX06204; The Scientific and Technological Innovation Project, No.2015ASKJ02]

作者简介: 孙斌(1991-), 女, 天津人, 硕士研究生, 主要从事水生动物疾病防控研究, E-mail: sunbin91@126.com; 肖鹏, 通信作者, 副研究员, E-mail: xiaopeng@qdio.ac.cn

织化学和显微观察的手段,研究半滑舌鲷肾脏结构,有助于准确认知半滑舌鲷肾脏结构,为半滑舌鲷疾病预防诊断提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

健康半滑舌鲷,平均体长为 28.4 cm±0.5 cm,平均体质量为 198.3 g±0.5g,购自山东青岛新大地食品有限公司。

### 1.2 头肾组织涂片

解剖半滑舌鲷,剪下头肾,用无菌磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffer Saline, PBS)冲洗表面,将头肾剪成块状,露出内部组织,用组织块在干净的载玻片上轻轻涂抹,空气中过夜干燥,用苏木精-伊红和 Giemsa 染液进行染色,分别使用高倍镜和油镜观察细胞形态,进行白细胞分类及计数。

### 1.3 组织石蜡切片

解剖半滑舌鲷,完整取出肾脏,分别取头肾和体肾,剪成小块(0.5 cm<sup>3</sup>左右),Davison 液固定,常规石蜡包埋,切片厚度 6 μm,苏木精-伊红染色,中性树胶封片,显微镜下观察并拍照。

### 1.4 透射电镜用超薄切片制备

头肾样品用 2.5%戊二醛磷酸缓冲液过夜固定,然后用 1%锇酸固定,乙醇梯度脱水,树脂包埋,使用超薄切片机制备切片,常规电镜切片染色后,在日立 H-7000 型透射电镜观察并拍照。

### 1.5 免疫组织化学

未染色的涂片滴加 4%多聚甲醛固定 10 min, PBS 洗 3 次,每次 5 min。用浓度 2% 的 BSA 封闭液在 37℃封闭 45 min。每张切片分别滴加 50 μL 小鼠源单克隆抗体(分别抗 CD4、CD16、CD20、CD68)(RLM3070-CD4、RLM3090-CD16、RLM3048-CD20、RLM3161-CD68,苏州睿瀛生物技术有限公司),37℃孵育 2 h, PBS 洗 3 次,每次 5 min。滴加 HRP 标记山羊抗小鼠 IgG<sup>[11]</sup>,37℃孵育 2 h, PBS 洗 3 次,每次 5 min。DAB 显色 5 min,显微镜观察是否出现显色反应,若出现则吸去 DAB, PBS 洗 3 次,每次 5 min。甘油封片,常温放置。

## 2 结果

### 2.1 半滑舌鲷肾脏形态结构

半滑舌鲷肾脏分为头肾和体肾两部分,头肾较

小,位于肾脏前部,形态呈现分叉结构。体肾呈纺锤状,紧贴腹腔背部,沿脊椎向后延伸。

### 2.2 头肾印迹片免疫细胞的形态及分类计数

半滑舌鲷头肾组织印迹片免疫细胞分类计数见表 1,头肾中有较多的免疫相关细胞,包括淋巴细胞、单核细胞和颗粒细胞(图 1),其中颗粒细胞所占比例较高。显微镜下半滑舌鲷头肾印迹片中细胞形态结果显示:

表 1 头肾内免疫细胞的分类比例

Tab. 1 Differential leucocyte counts (DLC) in the head kidney of *Cynoglossus semilaevis*

淋巴细胞(%)	颗粒细胞(%)	单核细胞(%)
10.54	24.48	20.52

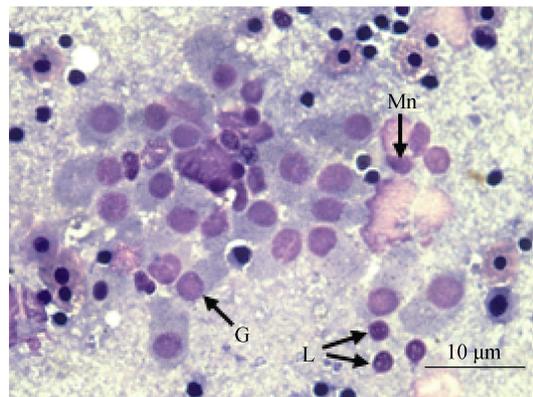


图 1 半滑舌鲷头肾印迹片

Fig. 1 Imprint preparation of the head kidney

L. 淋巴细胞, ×1 000; G. 粒细胞, ×1 000; Mn. 单核细胞, ×1 000  
L. lymphocytes, ×1 000; G. granulocytes, ×1 000; Mn. monocytes, ×1 000

淋巴细胞(Lymphocyte, L)胞体较圆,细胞核所占比例较大,多为圆形或椭圆形,位于细胞中央;核染色质丰富,致密,紫红色;细胞质在核周围,染成浅蓝色。

单核细胞(Monocyte, Mn)胞体形状多样;细胞核形态不规则,一般偏位,染色后呈紫红色;核染色质疏松呈网状,细胞质呈深浅不一的蓝色,有的有空泡,所占比例要比淋巴细胞大。

颗粒细胞(Granulocyte, G)胞体为圆形或椭圆形;细胞核呈紫红色,圆形或椭圆形,偏于细胞的一侧;细胞质淡蓝色或淡红色,细胞质丰富,含较多的细小颗粒。

### 2.3 头肾和体肾组织石蜡切片

石蜡切片结果显示,头肾实质主要由淋巴髓样

细胞组成(图 2-1), 无肾单位结构。体肾中分布着大量的肾单位, 其中可见肾小囊(图 2-2)、近曲小管(图 2-2、2-3)、远曲小管(图 2-3)和集合管(图 2-3)。近曲

小管上皮细胞游离面有发达的刷状缘, 远曲小管中没有刷状缘, 管腔较光滑, 远曲小管最终汇集成集合小管, 集合小管的管腔较大。

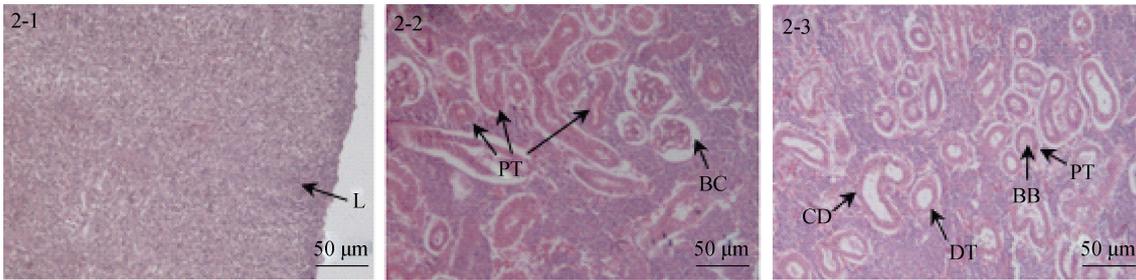


图 2 半滑舌鲷肾脏组织学结构(HE 染色)

Fig. 2 Histological structure of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) kidney (hematoxylin and eosin)

2-1. 头肾组织石蜡切片, 示淋巴髓样组织(L); 2-2. 体肾组织石蜡切片, 示肾小囊(BC), 近曲小管(PT); 2-3. 体肾组织石蜡切片, 示近曲小管(PT), 刷状缘(BB), 远曲小管(DT), 集合管(CD)

2-1. Paraffin section of the head kidney, lymphocytes (L); 2-2. Paraffin section of the trunk kidney, Bowman's capsule (BC), proximal tubule (PT); 2-3. Paraffin section of the trunk kidney, PT, brush border (BB), distal tubule (DT), and collecting duct (CD)

## 2.4 头肾免疫细胞的超微结构

半滑舌鲷头肾中有较多的免疫相关细胞, 包括单核细胞、淋巴细胞、颗粒细胞。在透射电镜下观察了这些细胞的超微结构。

### 2.4.1 单核细胞

半滑舌鲷头肾中的单核细胞呈形状不规则; 细胞核(N)一般不在细胞中央, 多为不规则形; 染色质呈网状, 细胞质丰富, 线粒体(Mitochondria, M)丰富, 有粗面内质网以及游离核糖体, 有的可观察到小颗粒及空泡(图 3-1)。

### 2.4.2 淋巴细胞

半滑舌鲷头肾中的淋巴细胞呈圆形或椭圆形; 细胞核(N)大体上为圆形, 位于细胞中央, 核质比较大; 异染色质多沿核膜边缘分布, 在核内呈网状分布, 细胞质较均匀(图 3-2)。

### 2.4.3 颗粒细胞

半滑舌鲷头肾中的颗粒细胞含有溶酶体颗粒, 溶酶体大小不等, 呈小球状。根据颗粒大小及形态特征可以分为 3 类: I 型颗粒细胞、II 型颗粒细胞与特殊颗粒细胞。

I 型颗粒细胞, 细胞核不在细胞中央, 异染色质较丰富。细胞质内有数量形态不同的颗粒: 第 1 种颗粒(G1)是电子密度中等的圆形或椭圆形颗粒; 第 2 种颗粒(G2)有中央电子致密度较高或较低的芯, 由单位膜包裹(图 3-3); 第 3 种颗粒(G3)为长椭圆形(图 3-4), 内含丝状结晶样结构, 似扫帚状, 一侧电

子致密度较高。细胞质中还有线粒体、粗面内质网和游离核糖体。

II 型颗粒细胞呈圆形或长椭圆形, 细胞核一般不在中央, 异染色质较丰富。细胞质内有大小不一的颗粒: 电子密度较高的圆形或椭圆形颗粒居多(G1); 还有一些长椭圆形颗粒(G4), 电子致密度较高(图 3-5)。细胞质内还有发达的高尔基体(Golgi apparatus, GA)、线粒体、粗面内质网和游离核糖体。

### 2.4.4 特殊颗粒细胞

细胞核极圆, 核膜清晰呈微波状, 异染色质发达, 细胞质电子密度极低, 细胞质内有黑色颗粒和空泡, 有较多核糖体(图 3-6)。

## 2.5 头肾组织涂片结果

抗体 RLM3090-CD16 结合内源 CD16 蛋白, 标记免疫球蛋白(图 4-1); 抗体 RLM3161-CD68 结合内源 CD68 蛋白, 显示巨噬细胞黏蛋白(图 4-2); 抗体 RLM3048-CD20 结合内源 CD20 蛋白, 显示标记 B-淋巴细胞(图 4-3); 抗体 RLM3070-CD4 结合细胞内源 CD4 细胞上的糖蛋白, 与二抗结合标记 T 淋巴细胞(图 4-4)。

## 3 讨论

肾脏是鱼类重要的器官, 它不仅担负鱼类调节渗透和排泄的作用, 同时还有造血与免疫的功能。由于鱼类生活环境差异较大, 形成了器官的形态与功能多样性, 不同鱼种肾脏的组织结构有明显差异。半

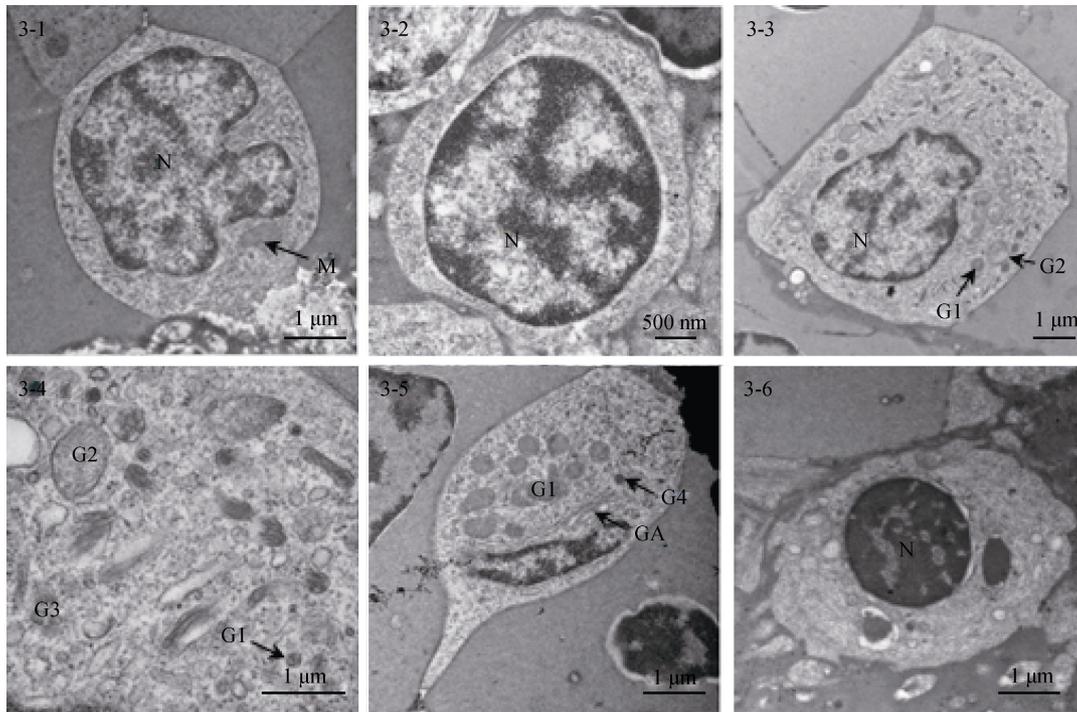


图3 半滑舌鲷头肾免疫细胞的超微结构

Fig. 3 Ultrastructure of the immune cells in the head kidney of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)

3-1. 单核细胞, 示不规则的细胞核(N), 有少量线粒体(M)存在,  $\times 30\ 000$ ; 3-2. 淋巴细胞, 示大的细胞核(N)和较少的细胞质,  $\times 40\ 000$ ; 3-3. I型颗粒细胞, 示颗粒 G1、G2,  $\times 20\ 000$ ; 3-4. I型颗粒细胞, 示颗粒 G1、G2 和 G3,  $\times 80\ 000$ ; 3-5. II型颗粒细胞, 示颗粒 G1、G4, 细胞质中有发达的高尔基体(GA)存在,  $\times 30\ 000$ ; 3-6. 特殊颗粒细胞,  $\times 30\ 000$

3-1. Monocyte, showing irregular nucleus (N), mitochondria (M),  $\times 30\ 000$ ; 3-2. Lymphocyte, showing large nucleolus (N) and small cytoplasm,  $\times 40\ 000$ ; 3-3. Granulocyte I, showing G1 and G2 granules,  $\times 20\ 000$ ; 3-4. Granulocyte I, showing G1, G2, and G3 granules,  $\times 20\ 000$ ; 3-5. Granulocyte II, showing G1 and G4 granules and Golgi apparatus (GA),  $\times 20\ 000$ ; 3-6. Special granulocyte,  $\times 30\ 000$

滑舌鲷作为中国重要的海水养殖品种, 其肾脏结构方面的研究较少见。为了客观认知半滑舌鲷肾脏功能与特征, 本研究开展了半滑舌鲷肾脏组织结构与细胞种类的研究。

从形态上看, 半滑舌鲷的肾脏分为头肾和体肾两部分, 头肾位于肾脏的前端, 分成两叉; 体肾紧贴腹腔背部, 从鳃盖处沿脊椎向后延伸, 直至腹腔尾部。这个结构与牙鲆<sup>[3]</sup>肾脏结构相似, 但并不完全相同, 牙鲆头肾与体肾之间没有明显的界限, 半滑舌鲷头肾与体肾连接部位较细。孟庆闻等<sup>[2]</sup>将硬骨鱼的肾脏根据形态归纳为 5 类, 半滑舌鲷与牙鲆的肾脏结构与这 5 类都有较大差异。根据形态特征, 半滑舌鲷与牙鲆肾脏可以归为一类, 但是否能够代表鲆鲽鱼类肾脏, 还需要归纳更多鲆鲽鱼类的肾脏特征才能确定。

鱼类肾脏在系统发育上一般经历前肾和中肾两个阶段, 前肾只出现于胚胎阶段, 具有排泄功能, 但在成鱼中逐渐退化, 大多失去了排泄功能; 但是很多真骨鱼的前肾残存下来, 成为类淋巴组织, 具有

免疫和造血功能, 也就是头肾<sup>[12]</sup>。雄性软骨鱼成鱼肾脏前部被输精管占据, 其肾小体较硬骨鱼更发达, 肾小管保留少量从体腔中收集废物的肾口, 但主要是直接从血液中收集含氮废物排出体外, 由输尿管输尿<sup>[13]</sup>。

鱼类头肾含有丰富的血管、血窦和血细胞, 介导和参与免疫反应<sup>[14]</sup>, 不仅是免疫细胞发生、分化和增殖的重要场所, 还是捕获抗原和产生抗体的主要场所<sup>[15]</sup>。鲤(*Cyprinus carpio*)的头肾主要为淋巴细胞聚集的淋巴髓样组织, 无淋巴区和非淋巴区之分<sup>[16]</sup>, 与淋巴细胞的增殖有关, 不能生成红细胞或粒细胞<sup>[17]</sup>。草鱼(*Ctenopharyngodon idellu*)的头肾包括淋巴细胞聚集区和粒细胞聚集区, 这两个区域之间也没有明显界限<sup>[18-19]</sup>, 主要有淋巴细胞、浆细胞、巨噬细胞、单核细胞和粒细胞等, 其中粒细胞又根据胞浆内特殊颗粒的形态结构和大小分为 3 个型<sup>[19]</sup>。罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的头肾主要包括红细胞、淋巴细胞、单核细胞、粒细胞、巨噬细胞和黑色素巨噬细胞中心, 其中粒细胞包括 3 个型<sup>[20]</sup>。牙鲆

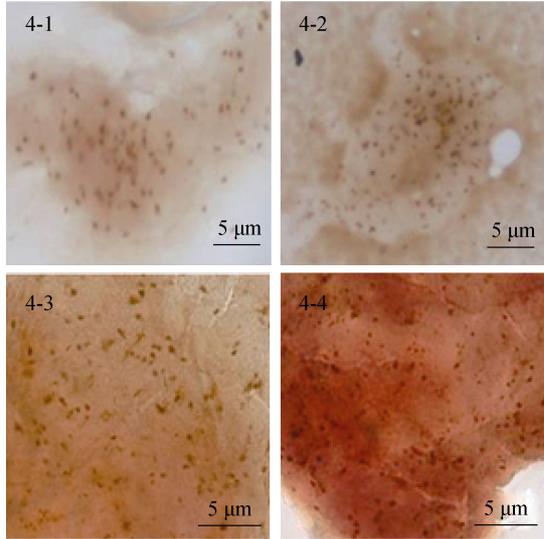


图 4 半滑舌鲷头肾印迹片免疫组化

Fig. 4 Immunohistochemical staining of a head kidney smear from half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)

4-1. CD16 单克隆抗体(RLM3090)标记免疫球蛋白使用抗体, ×20;  
4-2. CD68 单克隆抗体(RLM3161)标记巨噬细胞黏蛋白, ×20;  
4-3. CD20 单克隆抗体(RLM3048)标记 B 淋巴细胞, ×20; 4-4. CD4  
单克隆抗体(RLM3070)标记 T 淋巴细胞表面糖蛋白, ×20

4-1. CD16 monoclonal antibody (RLM3090) detected low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A/low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-B, ×20; 4-2. CD68 monoclonal antibody (RLM3161) detected macrosialin, ×20; 4-3. CD20 monoclonal antibody (RLM3048) detected B-lymphocyte antigen CD20, ×20; 4-4. CD4 monoclonal antibody (RLM3070) detected T-cell surface glycoprotein CD4, ×20

(*Paralichthys olivaceus*)头肾与体肾在形态上并没有明显的界限,头肾实质是由许多血窦、网状细胞、少量的噬黑色素细胞和各种血细胞交织在一起构成的,其免疫细胞包括淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、I 型颗粒细胞和 II 型颗粒细胞<sup>[21]</sup>。大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)早期头肾发育形成的过程中,其前肾小管结构退化的同时,形成黑色素细胞-巨噬细胞中心,失去了分泌和排泄功能,成为免疫和造血组织<sup>[22]</sup>。本研究中,半滑舌鲷头肾组织涂片以及石蜡切片结果均未发现噬黑色素细胞,从电镜图中可以发现和牙鲆相似的 I 型颗粒细胞和 II 型颗粒细胞,同时还存在一些特殊形态的颗粒细胞。通过以上比较,发现虽然头肾的功能在不同鱼种间相似,都参与免疫应答,但是对细胞组成的分析结果显示细胞类型在不同鱼种间有不同程度的区别,这也暗示鱼类头肾的功能存在细微的多样性。

鱼类的体肾是成鱼的排泄器官,也具有调节渗透的功能。半滑舌鲷体肾中分布大量的肾单位,石蜡

切片的结果可以看到肾小囊、近曲小管、远曲小管以及集合管等结构。牙鲆的体肾可以分为中肾和后肾两部分,两者的差别是中肾有一条“肾中管”;肾小管占体肾 70%以上的体积;另外,在牙鲆体肾中还发现黑色素巨噬细胞,这说明牙鲆的体肾在调解渗透、排泄废物的同时,也参与宿主的免疫应答过程<sup>[3]</sup>;同样,大菱鲂在早期发育体肾成熟后,除了肾小管结构,还可在体肾中观察到丰富的淋巴细胞<sup>[22]</sup>。本研究未在半滑舌鲷体肾中观察到相应的结构与细胞。

半滑舌鲷是中国重要的经济海水鱼类,但是疾病问题仍然是困扰产业发展的重要问题。患半滑舌鲷脾肾坏死症的鱼肾脏有严重的病理变化,研究引起这种病理变化的原因以及肾脏的功能受到哪些影响,都需要肾脏组织结构的理论支持。本研究对半滑舌鲷肾脏的形态与细胞组成进行了初步研究,初步阐明了肾脏结构与形态。今后还应对半滑舌鲷体肾更精细的结构进行研究,从而进一步了解半滑舌鲷肾脏结构与功能。

参考文献:

[1] Varsamos S, Nebel C, Charmantier G. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review[J]. *Comp Biochem and Physiol, Part A*, 2005, 141: 401-429.

[2] 孟庆闻, 缪学祖, 俞泰济, 等. 鱼类学: 形态-分类[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 122-135.

Meng Qingwen, Miu Xuezu, Yu Taiji, et al. *Ichthyology: morphology-taxonomy*[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1987: 122-135.

[3] 王卫卫. 牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)免疫系统的结构及其部分免疫细胞的功能研究[D]. 青岛, 中国海洋大学, 2009: 15-30.

Wang Weiwei. Study on organic and cellular organizations of immune system and some effector cells of *Paralichthys olivaceus*[D]. Qingdao, Ocean University of China, 2009: 15-30.

[4] 徐晓津, 王军, 谢仰杰, 等. 大黄鱼头肾免疫细胞研究[J]. *海洋科学*, 2008, 32(11): 24-28.

Xu Xiaojin, Wang Jun, Xie Yangjie, et al. Investigation on immune cells in head kidney of *Pseudosciaena crocea*[J]. *Marine Sciences*, 2008, 32(11): 24-28.

[5] 温龙岚, 王志坚. 鱼类泌尿系统组织学研究概况[J]. *遵义师范学院学报*, 2007, 9(2): 61-65.

Wen Longlan, Wang Zhijian. Preliminary study on organic fish's urinary system[J]. *Journal of Zunyi Normal College*, 2007, 9(2): 61-65.

[6] 雷雪彬, 常藕琴, 石存斌, 等. 草鱼头肾发生组织学与免疫组织化学观察[J]. *水产学报*, 2013, 6: 840-850.

- Lei Xuebin, Chang Ouqin, Shi Cunbin, et al. Histological and immunohistochemical observations on the early development of head kidney in *Ctenopharyngodon idella*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 6: 840-850.
- [7] Liu Yun, Zhang Shicui, Jiang Guoliang, et al. The development of the lymphoid organs of flounder, *Paralichthys olivaceus*, from hatching to 13 months[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2004, 16(5): 621-632.
- [8] 蔡文超, 区又君. 驼背鲈肾脏显微和超微结构观察[J]. 中国水产科学, 2008, 5: 773-778.  
Cai Wenchao, Ou Youjun. Structural observation on kidney of high finned grouper, *Cromileptes altivelis* Valenciennes[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 5: 773-778.
- [9] 牛宝珍, 杜民, 陈松林. 10个半滑舌鳎家系 MHCII B 基因多态性初步研究[J]. 海洋科学, 2015, 39(12): 70-76.  
Niu Baozhen, Du Min, Chen Songlin. Polymorphisms and balancing selection in the half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*[J]. Marine Sciences, 2015, 39(12): 70-76.
- [10] Xiao P, Jiang M, Liu Y, et al. Splenic necrosis signs and pathogen detection in cultured half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Journal of Fish Diseases, 2015, 38(1): 103-106.
- [11] Feng H, Li X, Chan V, et al. Proteomics based identification of cell migration related proteins in HBV expressing HepG2 cells[J]. PloS One, 2014, 9(4): 1-3.
- [12] 孟庆闻, 苏锦祥, 李婉端. 鱼类比较解剖[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 251-262.  
Meng Qingwen, Su Jinxiang, Li Wanduan. Fish Comparative Anatomy[M]. Beijing: Science Press, 1987: 251-262.
- [13] 刘凌云, 郑光美. 普通动物学(第4版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.  
Liu Lingyun, Zheng Guangmei. Zoology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2009.
- [14] 刘小玲, 葛海燕, 顾泽茂. 黄颡鱼头肾的组织发生与组织结构研究[J]. 水生态学杂志, 2009, 3: 108-110.  
Liu Xiaoling, Ge Haiyan, Gu Zema. Ontogeny and structure of head kidney of *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Journal of Hydroecology, 2009, 3: 108-110.
- [15] 张永安, 孙宝剑, 聂品. 鱼类免疫组织和细胞的研究概况[J]. 水生生物学报, 2000, 6: 648-654.  
Zhang Yongan, Sun Baojian, Nie Pin. Immune tissues and cells of fish: a review[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, 6: 648-654.
- [16] 秉志. 鲤鱼组织[M]. 北京: 科学出版社, 1983.  
Bing Zhi. Carp Organization[M]. Beijing: Science Press, 1983.
- [17] 龚宁, 聂其灼. 鲤鱼头肾显微结构研究[J]. 山地农业生物学报, 2001, 1: 20-24.  
Gong Ning, Nie Qizhuo. A study on microstructure of the head-kidney in the carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2001, 1: 20-24.
- [18] 卢全章. 草鱼头肾免疫细胞组成和数量变化[J]. 动物学研究, 1998, 1: 11-16.  
Lu Quanzhang. The composition of immune cells in head kidney of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) together with ontogenic change of their numbers[J]. Zoological Research, 1998, 1: 11-16.
- [19] 卢全章. 草鱼头肾免疫细胞超微结构的观察[J]. 水生生物学报, 1997, 2: 152-156.  
Lu Quanzhang. An ultrastructural observation of immune cells in pronephros of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1997, 2: 152-156.
- [20] Abdel-Aziz H, Abdu S, Ali T, et al. Haemopoiesis in the head kidney of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae): a morphological (optical and ultrastructural) study[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2010, 36(3): 323-326.
- [21] 刘云, 姜国良, 张士瑾, 等. 牙鲆的头肾免疫细胞[J]. 中国水产科学, 2001, 8(4): 5-8.  
Liu Yun, Jiang Guoliang, Zhang Shicui, et al. Immune cells in head kidney of bastard halibut, *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2001, 8(4): 5-8.
- [22] 佟雪红, 徐世宏, 刘清华, 等. 大菱鲆早期发育过程中免疫器官的发生[J]. 海洋科学, 2011, 35(6): 62-67.  
Tong Xuehong, Xu Shihong, Liu Qinghua, et al. Ontogeny of immune organs during early developmental stages of turbot[J]. Marine Sciences, 2011, 35(6): 62-67.

# Histological structure and cell distribution of the tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) kidney

SUN Bin<sup>1</sup>, SUN Jin-sheng<sup>1</sup>, ZHANG Li-na<sup>2</sup>, XIAO Peng<sup>3, 4</sup>

(1. College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China; 2. National & Regional Joint Engineering Laboratory for Ecological Mariculture, Qingdao 266071, China; 3. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 4. Laboratory for Marine Biology and Biotechnology, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China)

**Received:** Jun. 22, 2016

**Key words:** *Cynoglossus semilaevis*; kidney; histological structure; paraffin section; ultrathin section

**Abstract:** Half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) is an important aquaculture species in China. Here, we illustrated the structure of the tongue sole kidney by observing paraffin sections and ultrathin sectioned samples by light and transmission electron microscopy. The tongue sole kidney was anatomically divided into the head and trunk kidneys. The head kidney was a biforked structure in front of the trunk kidney. The head kidney was located on top of the heart, close to the rear of the head. Some blood cells and many immune cells were found in the head kidney, such as lymphocytes, monocytes, and granulocytes. We inferred that the tongue sole head kidney played an important role in the immune response and hemopoiesis. The trunk kidney was located immediately behind where the two head kidney branches joined. The trunk kidney was stretched along the spine in the abdominal cavity and was composed of many glomerular secretory structures and renal units, indicating that it possesses an excretory function.

(本文编辑: 谭雪静)