

牙鲆肠淋巴样组织免疫细胞研究*

II . 无颗粒白细胞的超微结构

刘云¹ 姜国良¹ 姜明² 杨栋¹ 张士瑾¹

(青岛海洋大学¹ 海洋生命学院² 测试中心, 266003)

提要 运用电镜技术, 在牙鲆肠淋巴样组织中鉴定出 4 种无颗粒白细胞, 即淋巴细胞、巨噬细胞、单核细胞和浆细胞样细胞。它们的形态均比在造血器官中多样化。巨噬细胞形态极其不规则; 单核细胞的细胞质中有较多空泡; 淋巴细胞具多且细长的伪足, 而浆细胞样细胞是以内含大量的粗面内质网为其主要特征。同时, 作者对无颗粒白细胞的形态与功能之间的关系进行了探讨。

关键词 牙鲆, 肠淋巴样组织, 无颗粒白细胞, 超微结构

鱼类免疫学的研究始于本世纪初, 60 年代后才有了较大的发展。据李亚南 1995 年报道, 鱼类具有比较原始的免疫系统, 其免疫应答器官与组织主要有前肾、脾脏、胸腺以及消化道淋巴组织与血液淋巴等。过去这些年对鱼类免疫系统的研究已有大量的报道, 然而对消化道淋巴组织的报道较少, 绝大多数人研究的鱼类是淡水鱼, 如 Temkin, R. J. 等 1986 年对金鱼、Rombout, J. H. W. M. 等 1989 年对鲤鱼、Georgopou, U 和 Vernier, J. M. 1986 年对虹鳟的研究, 而对海水鱼的肠淋巴样组织研究较少, 国内尚未见报道。本文主要利用电镜技术, 首次对牙鲆 (*Pamlichthys olicavus*) 肠淋巴组织免疫细胞的超微结构进行了研究, 现报道如下。

1 材料和方法

牙鲆取自山东威海, 体长 8~15 cm, 剪开腹腔, 取小肠、直肠。

光镜观察的样品用 Bouin 氏液固定, 石蜡包埋, 切片 6~7 μm, HE 染色; 电镜样品用 2.5% 戊二醛固定 2 h, 1% 饿酸后固定 1 h, 梯度乙醇脱水, Epon812 包埋, LKB 型超薄切片机切片, 常规透射电镜切片染色, 日立 H7000 型透射电镜观察及摄影。

2 结果

电镜下, 牙鲆肠淋巴样组织内的无颗粒白细胞有 4 种, 即淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞和浆细胞样细胞。

淋巴细胞 (Lymphocytes) (图 1-1): 一般为卵圆形或圆形, 常具有伪足; 细胞核位于中央, 核体大, 占整

* 国家高技术发展计划(863 计划)资助项目(海水鱼病免疫检测药盒与疫苗)819-02-06 号及 973 资助项目资助(鱼类的特异性免疫体系与疫苗免疫)Gl 99901 2006 号。

个细胞的 3/4, 异染色质分布于核膜边缘和核中央, 呈现似岛状分布; 细胞质内游离核糖体较多。

单核细胞 (Monocytes) (图 1-2, 1-3): 多在淋巴腔中单个存在, 细胞基本为圆形, 伪足较钝; 细胞核常偏位, 通常为卵圆形, 有时也为不规则形, 约占细胞的 1/2, 核孔清晰, 核内异染色质延核膜边缘分布, 其电子密度低于淋巴细胞; 细胞质内细胞器可见大量粗面内质网、少量溶酶体以及核糖体; 此外, 细胞核内有空

泡数个, 有的空泡内有内涵物 (图 1-2 箭头所示); 有的空泡内有物质外排 (图 1-3 箭头所示)。

巨噬细胞 (Macrophages) (图 1-4, 1-5): 常见于小淋巴腔中, 遇见率高于淋巴细胞; 胞体大于单核细胞, 多为长椭圆形, 伪足多且细长, 细胞核变化较多, 有腊肠形、哑铃形和多叶形, 异染色质电子密度较高; 细胞质内有卵圆形线粒体、溶酶体及少量空泡, 高尔基体极少见到。

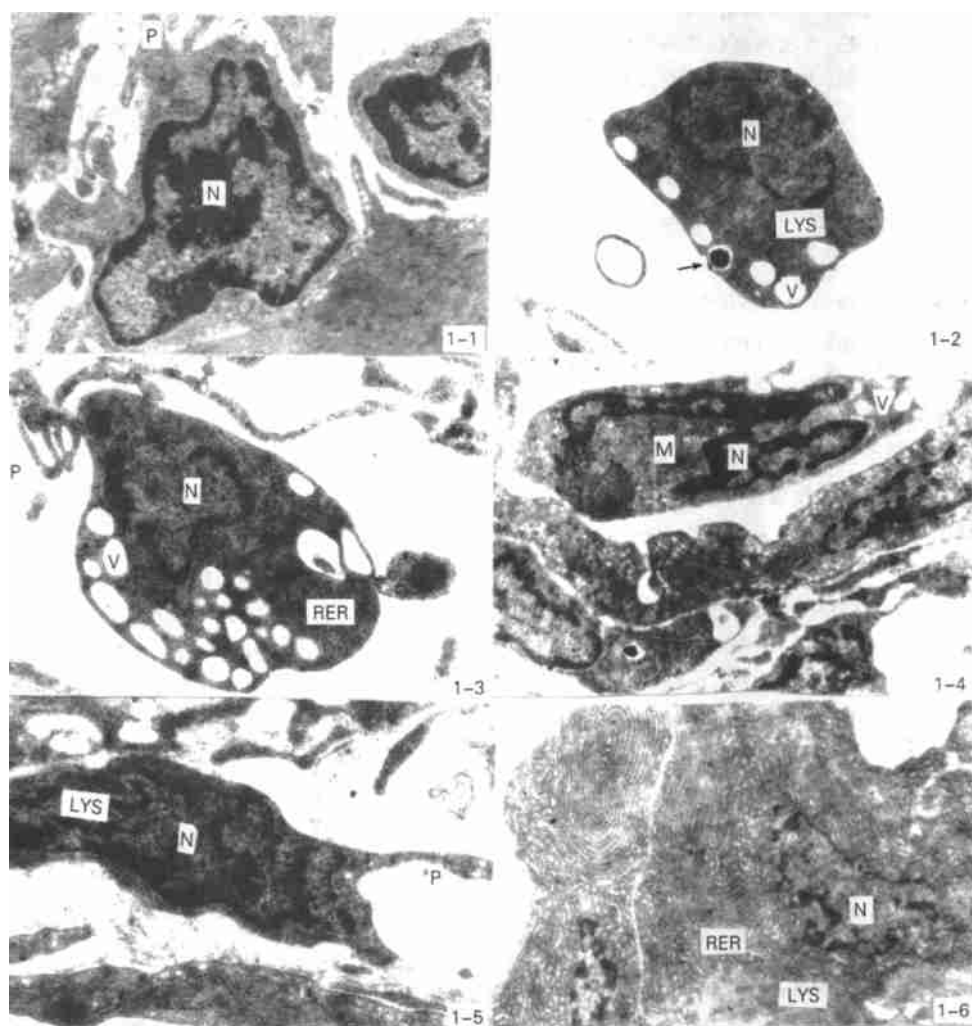


图 1 牙鲆肠淋巴样免疫细胞——无颗粒白细胞的超微结构

Fig. 1 The gut-associated lymphoid tissue (GALT) of bastard halibut (*Pamlichthys olivaceus*) —— Ultrastructure of agranulocytes

1-1: 淋巴细胞, 示伪足 P × 13 200; 1-2, 1-3: 单核细胞, 示偏位核 N, 溶酶体 LYS, 粗面内质网 RER, 空泡 V 和伪足 P, × 13 200; 1-4: 巨噬细胞, 示多形核 N, 线粒体 M, 游离核糖体和空泡 V, × 13 200; 1-5: 巨噬细胞, 示多形核 N, 伪足 P, 游离核糖体和溶酶体 LYS, × 9 900; 1-6: 浆细胞样细胞, 示细胞核 N, 溶酶体 LYS 及粗面内质网 RER, × 7 700

1-1: lymphocytes, showing pseudopodia × 13 200; 1-2, 1-3: monocytes, showing N, LYS, RER, V and P, × 13 200; 1-4: macrophages, showing N, M and V × 13 200; 1-5: macrophages, showing N, P and LYS, × 9 900; 1-6: plasma cell like cells, showing N, LYS and RER, × 7 700

浆细胞样细胞 (Plasma-like cells) (图 1-6): 多在黏膜层中聚集成群, 但细胞间未见任何形式的连接。细胞形状多样, 细胞核比例较小, 异染色质亦少, 有的有核仁; 细胞质中除少量低密度的溶酶体颗粒外, 细胞质内布满了极其发达的粗面内质网, 有些部位粗面内质网呈同心圆状环绕。

3 讨论

硬骨鱼的黏膜淋巴组织包括肠、皮肤和鳃, 它们分泌的蛋白酶、溶菌酶和凝集素, 是鱼类防御外来侵害的第一道屏障^[2]。Georgopoulou, U. 和 Vernier, J. M. 1986 年报道, 由于硬骨鱼缺乏像哺乳动物的淋巴集结那样的结构, 肠淋巴样组织内的白细胞, 包括巨噬细胞、淋巴细胞、颗粒细胞和浆细胞等就是鱼类黏膜免疫系统的重要组成部分。

牙鲆的消化道, 自食道开始, 胃、小肠和直肠的黏膜层与黏膜下层中均有淋巴腔存在, 特别是在小肠后段及直肠中分布较多 (另文)。Rombout 等 1985、1989 年、Dogget 等 1993 年以及 Sveinbjornsson 等 1995 年已有研究证实, 鱼类后肠部分是肠吸收大分子的主要部位, 它可吸收铁蛋白、辣根过氧化物酶、免疫球蛋白等大分子物质; 最近也有实验证实有的鱼类前肠部分具有这种吸收功能^[3], 因此, 现在一般认为鱼类肠的整个黏膜都可通过胞吞作用吸收大分子物质并将其运输到巨噬细胞, 再进入血液循环^[4], 所以巨噬细胞在鱼类非特异性免疫系统中占有重要的位置。同时, Pettitt 1991 年和 Chung 和 Secombes 1987 年等研究证实巨噬细胞可合成一种较强的白细胞趋化因子, 因此巨噬细胞还具有杀伤细菌的作用。牙鲆肠淋巴样组织内存在的大量巨噬细胞表明, 在抗微生物感染的局部

防御机制中, 吞噬可能是一个比较重要的事件。

与牙鲆造血器官及血液白细胞的形态相比^[1], 肠淋巴样组织内的白细胞形态更加多样化, 单核细胞的细胞质内空泡增多, 表明其吞噬作用的增强; 淋巴细胞的伪足细长, 交织成网状, 说明其处于比较活跃的分泌状态; 再加上巨噬细胞及浆细胞样细胞的出现, 能使牙鲆肠淋巴样组织内的免疫细胞更好地发挥其免疫防御功能。

浆细胞样细胞是由 B 淋巴细胞转化而来, 可以分泌抗体。目前, 多数人认为鱼类的抗体除了存在于血清、组织液中外, 还存在于肠道、皮肤和鳃的黏膜中, 但对其来源尚有争执。大量浆细胞样细胞存在于牙鲆肠淋巴样组织中说明该鱼的肠淋巴样组织的确具有分泌抗体的功能, 本研究直观地证明了浆细胞的存在, 有利地支持了由黏膜浆细胞分泌抗体的说法; 同时, 这也为牙鲆肠淋巴样组织具有的局部免疫反应提供了有利的细胞学基础。因有 Rombout, J. H. W. M. 等 1989 年认为鱼类肠淋巴样组织可以分泌非 IgM 的另外一种免疫球蛋白, 因而有关牙鲆肠淋巴样组织内的免疫细胞的功能还是今后研究的重要课题之一。

参考文献

- 1 刘云, 姜明, 姜国良等. 青岛海洋大学学报, 2000, 30 (2(II)): 141 ~ 152
- 2 Dalmo R. A., Ingebrigtsen K., & Bogwald J. . *Journal of Fish Diseases*, 1997, 20(4): 241 ~ 273
- 3 Dalmo R. A. & Bogwald, J. . *Fish & Shellfish Immunology*, 1996, 6: 427 ~ 441
- 4 Press C. M. L. & Evensen Ø. . *Fish & Shellfish Immunology*, 1999, 9: 309 ~ 318

THE GUT-ASSOCIATED LYMPHOID TISSUE (GALT) OF BASTARD HALIBUT (*Paralichthys olivaceus*) II: Ultrastructure of agranulocytes

LIU Yun¹ JIANG Guoliang¹ JIANG Mng² YANG Dong¹ ZHANG Shi-cui¹
(*Ocean University of Qingdao*, ¹*College of Marine Life Sciences*, ²*Center of Analysis*, 266003)

Received: Mar. 29, 2000

Key Words: Bastard halibut (*Paralichthys olivaceus*), Gut-associated lymphoid tissue (GALT), Agranulocytes, Ultrastructure

Abstract

Four kinds of agranulocytes in the gut-associated lymphoid tissue (GALT) of Bastard halibut (*Paralichthys olivaceus*) were identified under the transmission electron microscope. They were lymphocytes, macrophages, monocytes and

plasma-like cells . All agranulocytes in the GALT showed more diversified than that in the hematogenic organs . Macrophages had irregular shapes . Many vacuoles occurred in the monocytes' cytoplasm . Lymphocytes were with many long pseudopodia and plasma-like cells were characterized by a lot of RER . Meanwhile , the relationship of agranulocytes' morphology and its functions were discussed .
(本文编辑 :刘珊珊)