

中国沿海常见棘毒鱼类的毒性研究

——日本鬼鲉背鳍棘中的毒腺结构*

刘晓萍 于业军 张克凌

(青岛大学医学院组织胚胎学教研室 青岛 266021)

摘要 于1996年6月—1997年6月,在山东青岛、日照沿海采集日本鬼鲉,采用光学显微镜和电子显微镜技术观察其背鳍棘中毒腺的形态结构,研究其致毒机理。结果表明,日本鬼鲉背鳍的毒腺呈梭形,位于背鳍棘背外侧的两纵沟内,有结缔组织包绕。在毒腺内发现两种类型的细胞:I型细胞的胞质为均质状,单核;II型细胞胞质内充满颗粒,未见细胞核。两种毒腺细胞均呈多边形柱体,呈辐射状排列。I型细胞胞质电子密度中等,有均匀分布的细小颗粒,细胞内仅见少而散在分布的线粒体和线头状结构;II型细胞颗粒为许多囊泡及电子密度不同的颗粒状物质。腺体内下方的组织内有一种小细胞,其胞质内含有溶酶体样结构,其内涵物与I型细胞胞质类似。提示该毒腺的细胞不同于哺乳动物的分泌细胞。

关键词 日本鬼鲉 毒腺 结构

学科分类号 R996.3

棘毒鱼螫伤是渔民中较严重的职业病之一,国外对棘毒鱼的毒性虽有研究,但所研究的棘毒鱼类型均限于当地沿海常见的类型(Halstead *et al*, 1956; Sutherland *et al*, 1983)。目前中国尚未见有关棘毒鱼毒腺的研究报道。鲉科和毒鲉科棘毒鱼是中国沿海常见的对渔民危害最大的棘毒鱼类,其中属于毒鲉科日本鬼鲉分布广泛。人若被其螫伤可造成局部明显肿胀和剧烈疼痛,甚至肢体麻痹,严重者可伴有心慌或休克,给捕鱼作业的渔民生命安全造成极大威胁。本文报道日本鬼鲉背鳍棘中的毒腺结构的研究结果,以期为其螫伤机理的研究提供资料。

1 材料与方法

1.1 光镜观察

日本鬼鲉(*Inimicus japonicus*)为于1996年6月—1997年6月在青岛、日照沿海采集的活鱼,在本实验室海水中暂养1d。取样时,迅速剪下背鳍棘,用蒸馏水冲洗后,置于含4%多聚甲醛和0.5%戊二醛的0.1mol/L的磷酸缓冲液中(pH=7.2)固定8h。然后用稀硝酸进行脱钙处理,用PBS液冲洗,常规脱水,透明和石蜡包埋。进行纵横方向的连续切片(厚约6 μ m),进行光镜观察,另将部分毒腺固定后自棘刺上剥离,以备电镜观察。

* 国家自然科学基金资助项目,39270645号;山东省教育委员会资助项目,J91K01号。刘晓萍,女,出生于1957年3月,硕士,副教授,Fax:0086-0532-3801449

收稿日期:1998-06-25,收修改稿日期:1999-05-22

1.2 扫描电镜观察

毒腺剥离后,经1%锇酸后固定、丙酮脱水、临界点干燥,将毒腺组织断开后,用KIKOIB-3型离子镀膜机喷金后,JSM-800型扫描电镜观察。

1.3 透射电镜观察

毒腺剥离后,置含4%多聚甲醛和0.5%戊二醛的0.1mol/L的磷酸缓冲液中(pH=7.2)固定2h,再经1%锇酸后固定、丙酮脱水、Epon812环氧树脂包埋、超薄切片、醋酸双氧铀和枸橼酸铅染色,JEM-1200X型透射电镜观察。

2 结果

2.1 解剖结构

日本鬼鲉有17条背鳍棘,棘上被覆有厚的皮肤。皮肤表面有小突起,与深部骨及腺体连接疏松,活动度大,呈灰黑色。受到刺激时,其背棘竖起。第1条背鳍棘最粗,第2、3条背鳍棘最长,前3条背鳍棘活动度最大;第4—17条背脊鳍从前向后依次排列,逐渐变短。棘的下半部由鳍间的皮肤相连(图1a)。剥去皮肤后可见位于背侧纵沟内的腺体,腺呈梭形,近尖部膨大,腺周围有结缔组织包绕(图1b)。棘横断后,可见尖端1/2处渐出现两侧的背侧纵沟,骨组织呈“T”型(图1c)。棘根部的一半为中空的管状骨(图1d)。

2.2 光镜结构

观察含有毒腺的背鳍棘纵横连续切片,未见腺体有导管与皮肤表面通连,腺细胞紧密排列,细胞之间隔有薄膜。H.E染色结果显示有两种类型的细胞:I型和II型,呈多边形或长不规则形。I型细胞胞质为均质状、嗜酸性,胞核圆、染色浅,核膜和核仁清楚、嗜碱性。II型细胞胞质内含有嗜酸性颗粒,在不同的细胞其颗粒大小不同,小颗粒较密集,大颗粒较稀疏,并可见散布的嗜碱性颗粒。II型细胞内未见细胞核(图1e)。

2.3 扫描电镜结构

毒腺呈梭形,其内的腺细胞呈辐射状紧密排列,可见有II型细胞单个或三五成群散布于I型细胞之间(图1f)。两种细胞均呈长棱柱或棱锥状,高约为100—200 μm ,外侧面呈多边形,长约为80 μm ,横径约为30 μm (图1g)。I型细胞形态规则,从断端可见I型细胞胞质呈均质状(图1h)。II型细胞膜易破坏;胞质内可见分布较均匀的颗粒,颗粒呈单体或多聚状态;颗粒之间有一种大而光滑的球形结构(图1i)。II型细胞的胞膜处结构较致密,相邻的细胞之间有一层膜样间隔,还有一种扁圆样结构(图2a)。II型细胞内靠近细胞膜处的颗粒较小,细胞膜处结构致密(图2b)。

2.4 透射电镜结构

I型细胞胞质内充满了中等电子密度的细小颗粒,胞质内可见由于细胞膜内陷形成的小池;部分I型细胞外表面可见单层膜包小泡,并且有的细胞膜内侧可见新形成并且渐与胞膜融合的小泡,小泡内含物与胞质的基质相似。相邻的细胞之间可见张力细丝样物质将细胞分隔开,相邻细胞的脂质双层膜的外层向外延伸、相互连接,形成双层膜,并且可见桥粒连接(图2c)。少数线粒体散布于胞质内,呈球形,有的线粒体中央有一致密体,线粒体嵴以致密体为中心呈辐射状排列;还可见到散布的线头状结构,其结构类似线粒体膜,未见粗面内质网和高尔基复合体;也未见到滑面内质网和脂滴(图2d)。

II型细胞内充满颗粒,颗粒为单体或多聚体状态,颗粒之间的大而光滑的球形结构为

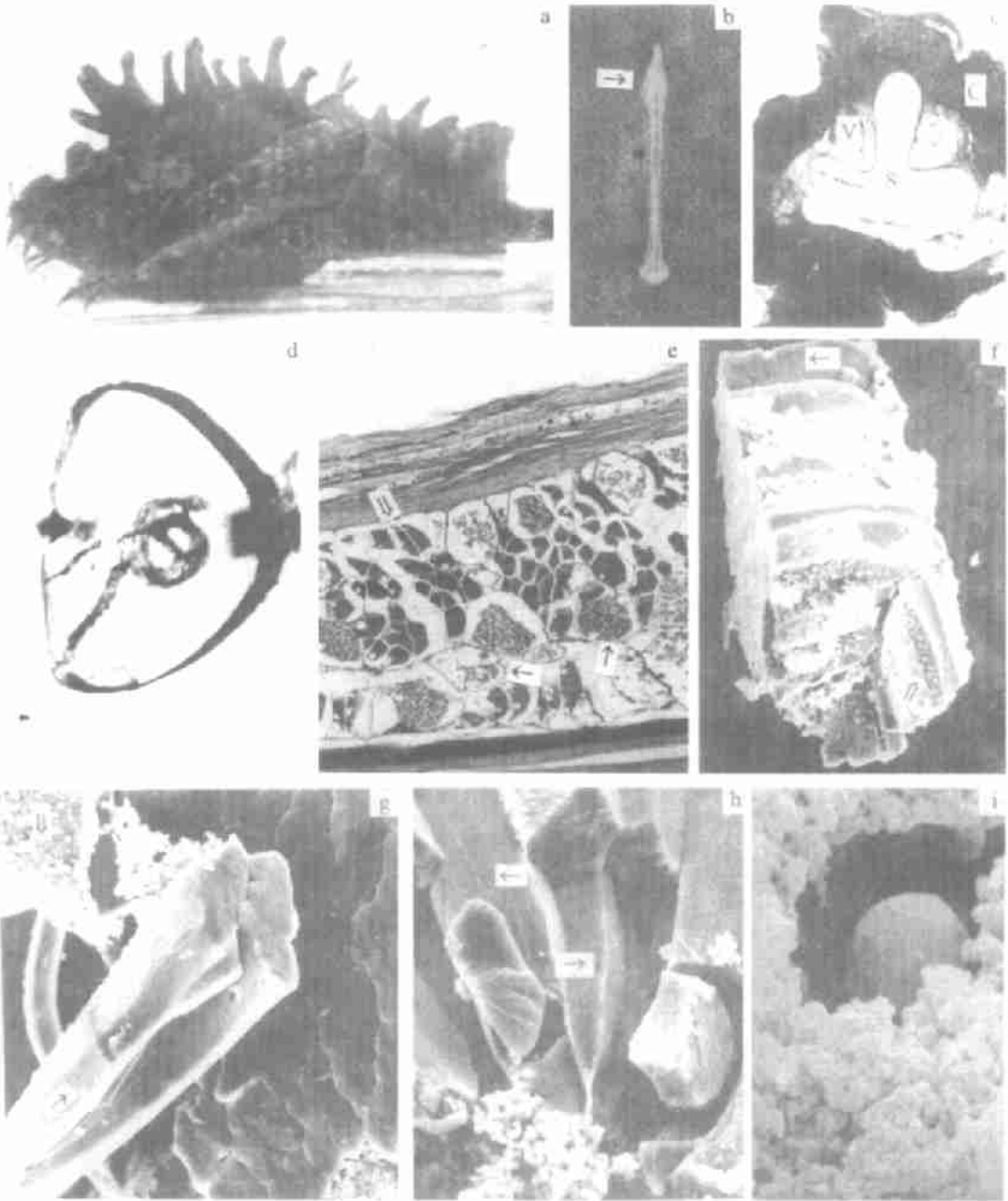


图1 日本鬼鮎背鳍棘中的毒腺结构(I)

Fig.1 The structure of venom gland in dorsal spine of *Inimicus japonicus* (I)

- a. 背鳍棘外观; b. 第1背鳍棘的背侧面, 箭头示位于棘刺尖端两侧纵沟内膨大的毒腺组织; c. 含有腺体部位的棘刺横切面。周围深色为皮肤及皮下组织, 中央为“T”形骨(S), 可见两侧沟内的毒腺(V)及结缔组织包膜(C), $\times 40$; d. 棘刺根部横切, 骨成管状, $\times 40$; e. 毒腺组织纵切面, 示I型细胞(\uparrow)和II型细胞(\uparrow), $\times 100$; f. 扫描电镜下的I型细胞(\uparrow)和II型细胞(\uparrow), 均呈放射状排列, $\times 170$; g. 扫描电镜下, I型细胞呈扇而不规则的棱柱或梭锥状(\uparrow), II型细胞易损坏(\uparrow), $\times 400$; h. 扫描电镜下I型细胞胞质呈均质状(\uparrow), $\times 700$; i. 扫描电镜下II型毒腺细胞内充满颗粒, 颗粒之间有大而表面光滑的球形物, $\times 10\ 000$

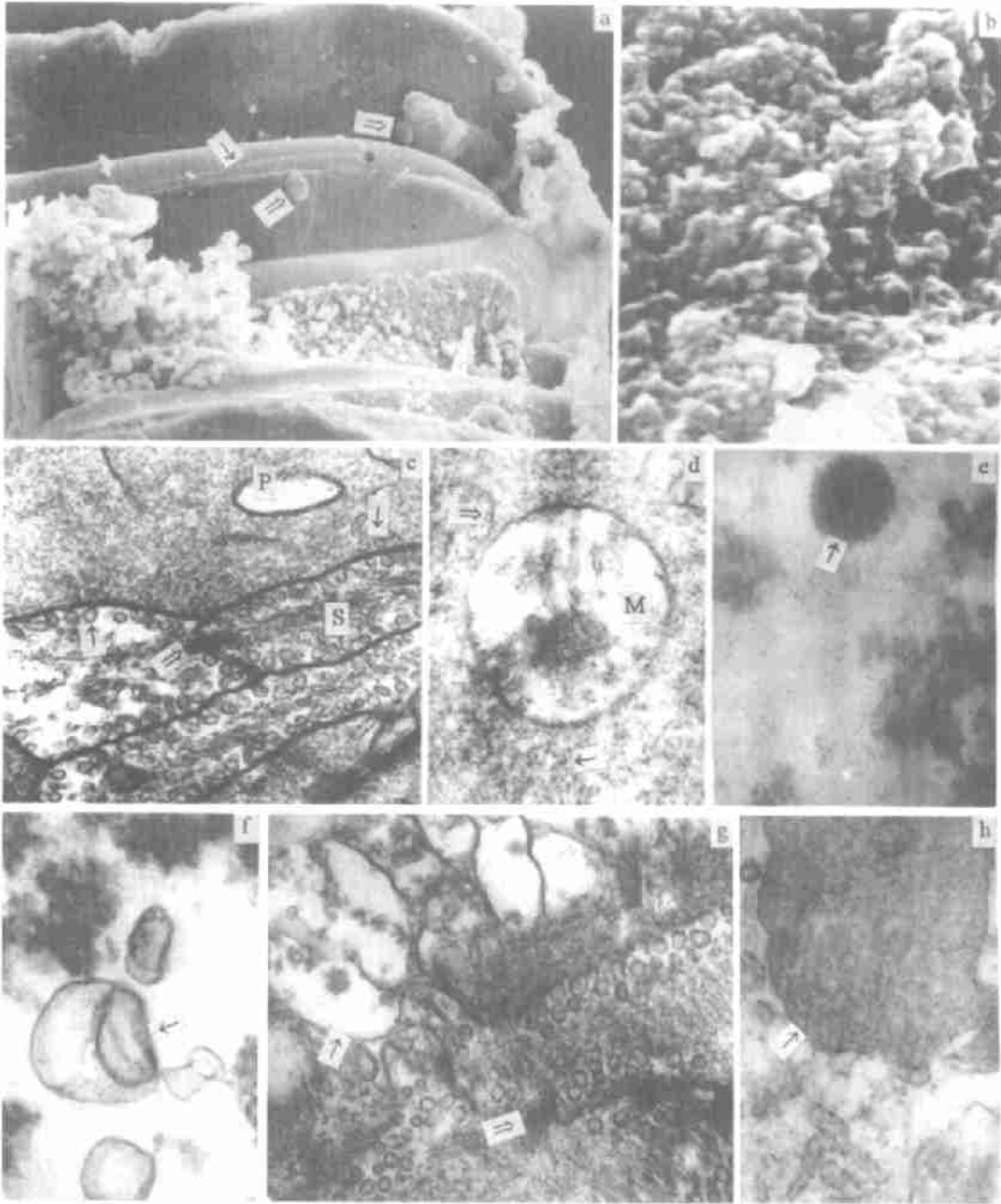


图2 日本鬼袖背鳍棘中的毒腺结构(II)

Fig.2 The structure of venom gland in dorsal spine of *Inimicus japonicus* (II)

- a. 相邻的细胞之间有隔膜(↑)和一种小而扁平的细胞(↑), × 600; b. II型细胞胞膜内面结构较粗糙, × 600; c. I型细胞, 可见细胞膜内陷形成的小泡(P)、细胞膜外面和内面形成的小泡(↑)、桥粒连接(↓)、相邻的I型细胞之间有张力细丝样结构分隔(S), × 25 000; d. I型细胞胞质结构, 可见细粒状物(↑)、线粒体(M)及线样结构(↑), × 40 000; e. II型细胞的颗粒之间大而光滑的球形结构, × 60 000; f. II型细胞内的高或中等电子密度的颗粒, 箭头示膜泡样物, × 80 000; g. II型细胞膜边缘处的囊泡(↑), 并可见桥粒连接(↓), × 30 000; h. 毒腺下内方的结缔组织内可见小的细胞, × 60 000

均质、电子密度高、无膜包的物质(图 2e); 颗粒由许多高或中等电子密度、大小及形状不同的物质组成(图 2f)。在 II 型细胞的边缘有许多扩张的囊泡样结构, 其内含有颗粒样物; II 型细胞膜的外侧也可见膜包小泡; 与相邻的 I 型细胞之间也可见胞膜的脂质双层膜的外侧膜相连, 并可见桥粒连接; I 型与 II 型细胞之间也可见张力细丝样物质分隔(图 2g)。

在腺体内下方的结缔组织内有一种小的细胞, 其胞质内含有粗面内质网、高尔基体等细胞器, 还有一种溶酶体样的膜包结构, 其内涵物与 I 型细胞的胞质类似(图 2h)。

3 讨论

日本鬼鲉是中国沿海常见的毒鲉科棘毒鱼, 有 17 条背棘, 人若被其螫伤可造成严重的危害。中国有关该鱼的论述中并无关于其毒腺结构的描述。本实验结果表明, 其背鳍棘的基部 1/2 为中空的管状骨, 内含脂肪组织和疏松结缔组织, 而近尖端 1/2 背侧出现两侧纵沟, 且愈近尖端沟愈深。由结缔组织包绕的毒腺呈梭形位于侧沟内, 腺体在近尖端较大较明显。Gopalakrishnakone 等(1993)研究了新加坡沿海常见的毒鲉科棘毒鱼——毒鲉的毒腺结构后发现, 毒鲉有 13 条背鳍, 其毒腺囊位于棘的中央近尖侧, 说明同属于毒鲉科的不同种鲉, 其毒腺的位置也不同。

Gopalakrishnakone 等(1993)的研究还发现。毒鲉的毒腺由致密结缔组织紧连于棘的侧沟内, 而上方是腺体导管, 开口于棘顶部。本实验发现, 日本鬼鲉的毒腺周围大部分有致密结缔组织鞘; 腺体内侧无鞘, 由较致密的结缔组织连与棘的骨组织上。在纵横连续切片中, 未观察到毒腺组织和周围有导管与皮肤表面相通。在棘尖端皮肤与骨组织相连部位与毒腺组织仅隔以薄层结缔组织。Gopalakrishnakone 等(1993)认为毒鲉的毒液分泌机制是当人踩到或触到毒鲉背鳍棘时, 棘尖端的皮肤被推向下, 挤压易碎的毒腺鞘, 使毒液进入狭窄的管道, 毒液和毒腺组织进入人体内。本实验未发现腺组织有导管, 因此认为, 日本鬼鲉毒腺的分泌方式可能是人踩到其背鳍上挤压碎毒腺, 使毒腺组织直接进入被刺组织所致。

在光镜下可见, 日本鬼鲉毒腺细胞排列紧密, 并隔有薄层结缔组织膜, 腺细胞可分为两种类型, I 型细胞胞质均匀状、嗜酸性; II 型细胞胞质充满颗粒, 而且颗粒的大小在不同的细胞内差异明显, 这与毒鲉的毒腺细胞相似。

Gopalakrishankone(1985)、Gopalakrishankone 等(1990, 1993)在扫描电镜下观察到毒鲉的毒腺细胞呈多边形, 与海蛇、蜘蛛及鲉科鱼类毒腺细胞形状不同。本实验发现, 日本鬼鲉毒腺细胞在扫描电镜下其整体为长棱柱状或棱锥状, 在腺组织中呈放射状排列, 这种差异可能是由于毒鲉科毒鱼的种类不同, 因而其毒腺内两种毒腺细胞的排列方式不同。

蛋白质分泌细胞的超微结构特征是具有粗面内质网、高尔基复合体及分泌颗粒; 分泌类固醇激素细胞的超微结构特征是具有滑面内质网、管状嵴线粒体和脂滴。I 型细胞不具备以上特征, 仅具有少量线粒体散在分布于胞质内; 整个细胞充满很细小的颗粒, 以及与线粒体膜结构相似的线头状物; 细胞膜外侧可见单层膜包小泡, 有的细胞膜内侧也可见新形成并渐与细胞膜融合的小泡, 其内含物与细胞质相似。因此认为, I 型细胞不具备合成蛋白质和类固醇类物质的能力。这种毒腺细胞与哺乳动物的分泌细胞不同, 可能属于特殊类型, 而胞质内线头状物的功能有待进一步研究。相邻的 I 型细胞之间可见胞膜的脂

质双层膜的外层向外延伸、连接,形成双层结构,并有桥粒存在,这种结构可能加强了细胞间的连接。

而在腺体内下侧的结缔组织内有一种小的细胞,其胞质内含有丰富的粗面内质网和高尔基复合体,但没有分泌类固醇激素细胞的超微结构特征,因此认为该细胞具有合成蛋白质的能力。在该细胞内还可见到一种膜包的溶酶体样结构,其内涵物与I型细胞胞质类类似。由此推测I型细胞可能由该细胞转化而来,I型细胞胞质内的成分可能是酶类或蛋白质。

II型细胞内未见到胞核及粗面内质网等细胞器,而是充满颗粒,且不同的细胞其颗粒大小及密度均有明显差异,总体上可见小颗粒密集、大颗粒稀疏,这可能是处于不同发育阶段的II型细胞。颗粒是由许多囊泡及电子密度、大小及形状均不同的物质构成的聚合体。II型细胞的边缘则可见许多扩张的囊泡,其内可见颗粒样物。推测II型细胞内的颗粒的形成可能与边缘处的囊泡有关。整个II型细胞呈颗粒状,毒腺细胞可能是全浆分泌方式。而II型细胞的来源或形成是否与I型细胞有关系,以及其内颗粒的性质及其成分等,有待进一步研究。在毒腺组织内的细胞排列紧密,但细胞之间有张力细丝样结构分隔,而张力细丝样结构的产生是否与毒腺细胞间存在的小而扁圆形的细胞有关,也有待进一步研究。

参 考 文 献

- Halstead B W, Chitwood M J, Modglin F R, 1956. Stonefish stings, and the venom apparatus of *Synanceja horrida* (Linnaeus). *Trans Am Microscop Soc*, 74:381—397
- Gopalakrishnakone P, 1985. Structure of the venom apparatus of the scorpion *Heterometrus longimanus*. *Toxicon*, 23:570
- Gopalakrishnakone P, Kochva E, 1990. Venom glands and some associated muscles in sea snakes. *J Morph (U S A)*, 205:85—96
- Gopalakrishnakone P, Gwee M C E, 1993. The structure of the venom gland of stonefish *Synanceja horrida*. *Toxicon*, 31(8):979—988
- Sutherland S K, 1983. Genus *Synanceja* (linnaeus), stone fishes: *S. verrucosa* (Bloch & Schneider) & *S. trachynis* (Richardson). In: *Australian Animal Toxins*. Oxford: Oxford University Press, 400—410

THE TOXICITY RESEARCH OF SPINE POISONING FISH IN
CHINA COASTAL WATERS
—THE STRUCTURE OF VENOM GLAND IN DORSAL SPINE OF
INIMICUS JAPONICUS

LIU Xiao-ping, YU Ye-jun, ZHANG Ke-ling

(Department of Histology and Embryology, Medical College of Qingdao University, Qingdao, 266021)

Abstract In this paper the structure of venom gland in dorsal spine of *Inimicus japonicus* was studied by means of light microscopy, transmission and scanning electromicroscopy. The glands located in either side grooves in dorsal spine were covered with a fibrous capsule. There are two types of cells in the venom glands. Electromicroscopy showed that both types were arranged in a radiation pattern. The cytoplasm of type I cells appeared to be homogeneous with electron-dense material. The tubular cisterns formed by invagination of cell membrane, mitochondria and threadlike structure were observed. However, no rough endoplasmic reticulum, Golgi complex, smooth endoplasmic reticulum and lipid droplet were found in type I cells. Type II cells were filled with different electron-dense granules, which were in monomer or polymer form. There were many dilated cisterns near the cytoplasm and large electron-dense ball-like structures without covering membrane among the granules. The type II cells were disrupted easily. There were some small cells in the connective tissues at the inner and infra parts of the venom gland. There were lysosome-like structure in the small cells whose contents were similar to the cytoplasm of type I cells. The results suggest that cells of venom gland appear to be unique in comparison with the secretory cells of mammal. Type I cells may be without the ability of synthesizing protein and may be derived from the small cells.

Key words *Inimicus japonicus* Venom gland Structure

Subject classification number R996.3