

ConA 对鲤鱼粘液细胞的影响

朱启忠

(菏泽师范专科学校生物系 山东菏泽 274015)

摘要 研究 ConA 对鲤鱼粘液细胞的刺激作用 结果表明 腹腔注射 ConA 能够使鲤鱼粘膜上皮、口腔粘膜上皮和皮肤的粘膜细胞数量明显增多 且在上皮的深层也出现部分粘膜细胞 但其形态、大小无明显变化。

关键词 ConA 鲤鱼 皮肤 粘膜细胞

中图分类号 Q954.6 文献标识码 A 文章编号 0250-3263(2000)01-10-03

鱼类粘液细胞(mucous cells)是普遍存在于鱼类上皮中的一种腺体细胞,主要分布在鱼的皮肤、腮、肠及口腔的上皮中,能分泌大量的粘液。粘液中含有多种有机物质,如粘多糖、糖蛋白、免疫球蛋白及各种水解性酶类,对鱼的许多生理功能有重要影响。深入地研究粘液细胞,对了解鱼类在生长、发育、分化等方面的一些基本理论问题、鱼类对环境的适应性、鱼类保护自身免受外界病原生物侵害及鱼类的养殖生产实践等方面有重要的理论和实践意义。有关这方面的研究国外进行较早^[1~5],国内报道较少^[6],而免疫原性物质对鱼类粘液细胞的影响尚未见报道。作者就此方面,于1997年9月~1998年6月依据伴刀豆球蛋白A(Concanavalin A, ConA)具有致细胞有丝分裂而使细胞增值的作用,采用腹腔注射的方法,就 ConA 对鲤鱼粘液细胞的作用进行了研究。

1 材料及方法

1.1 材料 鲤鱼(*Cyprinus carpio*) 6尾,2龄,体长30~40cm,体重500~650g,雌雄不限,购自自由市场。所用试剂均为国产分析纯。

1.2 方法 饲养3天后的鲤鱼,以1ml/1000g体重的比例腹腔注射0.1%的ConA溶液,每周一次,连续四周。对照组用0.6%生理盐水代之。最后一次注射3天后断尾处死。分别选取体表、口腔和腮部的表皮,小心切开,0.6%生理盐水冲洗,Bouin's液固定

72小时,常规石蜡包埋,切片。切片分别入pH1.0、pH2.5的阿新蓝(Alcian Blue, AB)染色液30分钟,水洗后入0.3%NaCO₃溶液30分钟,水洗后再入过碘酸雪夫氏(Periodic Acid Sechifs, PAS)试剂5分钟,然后再水洗、脱水、透明、封片,镜检。

结果处理参照 Sibbing 和 Uribe^[7]方法,然后对不同部位表皮中各型粘液细胞的数量、密度和分布规律进行统计学分析。各处理重复三次。

2 结果

2.1 ConA 处理前后鲤鱼各部位上皮粘液细胞密度的比较 ConA 处理前后鲤鱼皮肤、口腔粘膜和腮粘膜上皮粘液细胞密度的变化见表1。从表1可见,未经处理的各部位粘液细胞的密度不同,以腮部密度最高,皮肤量少,而经ConA处理的鲤鱼,各部位粘液细胞的密度明显升高($P < 0.05$)

2.2 ConA 处理后,鲤鱼各部位粘液细胞的形态变化 皮肤、口腔和腮粘膜上皮粘液细胞的形态、大小在ConA处理前后变化不显著($P > 0.05$)结果如表2。

作者介绍 朱启忠,男,1957年生,山东单县人,副教授,学士,研究方向:细胞、生物化学;

收稿日期:1998-10-14,修回日期:1999-03-29

表1 ConA 处理前后, 鲤鱼上皮粘液细胞密度的变化
(单位: 个/mm², AO 光学显微镜下 100 个
10×10 视野的平均值)

组织部位	对照组 ($\bar{X} \pm SD$)	ConA 处理组 ($\bar{X} \pm SD$)	增加幅度 (%)
腮部上皮	63.3±1.5	86.5±3.6	34~39
I 型	6.8±0.6	7.6±0.6	11~13
II 型	23.9±0.7	32.8±2.1	32~42
III 型	31.8±1.5	47.4±1.8	48~50
口腔上皮	29.8±1.2	38.6±0.8	27~32
I 型	5.7±0.6	6.8±0.8	18~21
II 型	11.1±0.7	13.9±0.7	24~27
III 型	14.2±1.2	19.8±1.3	37~42
皮肤	22.3±0.2	28.6±0.8	27~29
I 型	3.2±0.2	3.5±0.3	6~12
II 型	6.9±0.4	8.7±0.4	25~28
III 型	10.8±0.6	11.9±0.8	9~12

表2 ConA 处理前后, 鲤鱼粘液细胞的
直径变化比较
(单位: mm, 50 个细胞的平均值)

组织部位	对照组	ConA 处理组
腮部上皮		
I 型	6~4	6~13
II 型	8~14	8~14
III 型	9~13	11~14
口腔上皮		
I 型	6~13	6~13
II 型	9~15	8~15
III 型	11~15	12~16
皮肤		
I 型	5~11	5~12
II 型	6~13	6~14
III 型	9~13	10~14

2.3 ConA 处理前后, 鲤鱼粘液细胞分布区域的比较 未经处理的鲤鱼, 各部位粘液细胞主要分布于上皮中层以外的区域, 而经 ConA 处理后, 在中层以内的区域也观察到一定数量的粘液细胞, 其分布情况见表 3。

表3 ConA 处理前后, 鲤鱼粘液细胞在上皮
中层以内的分布
(单位: 个/mm², AO 光学显微镜下 100 个
10×10 视野的平均值)

粘液细胞 分布比较	对照组 ($\bar{X} \pm SD$)	ConA 处理组 ($\bar{X} \pm SD$)	变化幅度 (%)
腮粘膜上皮	7.7±0.6	14.6±0.7	84~96
口腔粘膜上皮	4.6±0.5	7.8±0.6	65~76
皮肤粘膜上皮	1.4±0.3	2.1±0.3	41~64

3 讨论

从实验结果看, 腹腔注射 ConA 能够显著提高表皮中粘液细胞的密度, 这说明表皮中粘液细胞对腹腔注射的免疫原比较敏感, 但不同部位粘液细胞的密度提高幅度不同, 以腮部上皮粘液细胞的密度提高最大, 其次为口腔上皮, 皮肤最小, 这也说明不同部位的粘液细胞对免疫原的反应不尽相同。

在 ConA 的刺激下, 表皮中不同类型的粘液细胞数目发生显著变化, 与对照组相比, II 型粘液细胞增幅最大, III 型次之, 而 I 型增幅并不十分明显, 推测可能是由于 ConA 刺激, 加速了粘液细胞的发育, 在较短时间内便接近成熟, 使 II、III 型大量增加。

粘液细胞密度的增大, 势必导致粘液细胞层次和排列上的变化, 与对照组相比, 粘液细胞层次可由 3~4 层增加到 5~7 层, 排列也相对紧密, 层次性相对较高, 比较整齐、规则。

虽然 ConA 对粘液细胞在数量上具有显著影响, 但对其形态、大小并未产生明显的影响, 这一结果与利用外界物理刺激对粘液细胞的影响结果基本是一致的。

从本实验结果来看, 免疫原性物质对鲤鱼的粘液细胞具有明显的刺激作用, 腹腔注射能够使鲤鱼的皮肤、口腔粘膜上皮和腮粘膜上皮的粘液细胞数量增多, 并对粘液细胞的分布具有一定影响。由于免疫原性物质对鱼类产生的影响比较大, 且外界干扰性小, 所以, 研究免疫原性物质对鱼类生理特点的影响是很有必要的。

比较各部位粘液细胞密度的变化发现, 腮部对免疫刺激最为敏感。腮作为鱼类的呼吸器官, 与水流直接接触, 对外界理化因子变化的感觉是最直接、也是最敏感的。由于腮部有大量的粘液细胞, 故将腮部粘液细胞的密度变化作为指标, 建立鱼类对免疫原反应的评估系统将是一种新的思路, 这方面的工作有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Disonza , J. J. , W. J. Hallidy Relationship of catfish antibodies to immunoglobulin in mucous secretion. *Austr. exp. Biol. Med. Sci.* ,1971 **49** :517~519.
- [2] Goho , O. Mucous glycoproteins of teleostean fish : a comparative histochemical study. *Histochem. Journal* ,1979 , **11** :709~718.
- [3] Rijker , G. T. The haemolytic plaque assay in carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Immunol. Meth.* ,1980 **33** :79~86.
- [4] Castillo , A. Ontogeny of IgM and IM-beeving cells in rainbow trout. *Dev. Comp. Immunol.* ,1993 **17** :419~424.
- [5] Estevez , J. Role of serum antibodies protection of vaccinated turbot (*Scophthalmus maximus*) against vibriosis. *Aquiculture* ,1994 **123** :197~204.
- [6] 李亚南 , 陈全震 , 邵健忠等. 鱼类免疫学研究进展. *动物学研究* ,1995 **16** (1) :83~94.
- [7] Sibbing , F. A. , R. Uribe. Regional specializations in the oropharyngeal wall and food processing in the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Netherland J. Zool.* ,1985 **35** :377~422.