

日本白鲫外周血细胞显微及亚显微结构的研究*

谢艳霞 林光华

(南昌大学生物科学与工程系 南昌 330047)

摘要 用光镜和电镜观察了日本白鲫外周血细胞的形态结构和过氧化物酶、糖原在血细胞内的分布。在日本白鲫外周血中,可见到红细胞、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和血栓细胞,未发现酸性粒细胞和碱性粒细胞,描述了上述各种血细胞在光镜和电镜观察下的形态和细微结构。对过氧化物酶,中性粒细胞呈阳性反应,对PAS处理,淋巴细胞和中性粒细胞均呈阳性反应,中性粒细胞中有3种不同类型的特殊颗粒。

关键词 日本白鲫 血细胞 显微结构 超微结构

鱼类血细胞形态结构的研究,国内外已有不少的资料^[1-14],但有关日本白鲫外周血细胞的显微及亚显微结构的资料至今未见报道,日本白鲫是我国普遍养殖的一种鱼类,因而,对其血细胞的形态结构研究仍属十分必要。

1 材料与方法

1.1 材料 以池养的、鱼龄为1—2周龄的健康无病的日本白鲫(*Carassius auratus cuvieri*)为材料,共28尾,分春、秋两季取材,3—6月每月取材4尾,9—11月每月取材4尾。

1.2 方法 自鱼体臀鳍后抽取尾动脉血液2ml,取少量血滴制成血薄涂片,每尾10片,甲醇固定,Giemsa液染色,光镜下观察、测量、摄影并进行白细胞分类计数(用DLC表示)。用PAS法检测血细胞中的糖原,用Washburn法检测过氧化物酶的分布。

从尾动脉中另抽取血液,经离心后于血块黄层(buffy coat)中吸取白细胞(带有少量红细胞),用2.5%戊二醛固定,用1%锇酸进行后固定,常规脱水包埋,超薄切片,醋酸双氧铀—柠檬酸铅双重染色,日立H-600型透射电镜观察并摄影。

2 结果

2.1 光镜观察结果

2.1.1 DLC值及各类血细胞的大小 其测定结果见表1。

表1显示:就DLC值而言,日本白鲫属淋巴细胞为主,中性粒细胞较多,单核细胞偏小的类型,就血细胞大小(长径×短径)而言,以单核细胞和中性粒细胞较大,淋巴细胞较小。

2.1.2 血细胞的显微结构

红细胞(图1,A) 细胞呈长椭圆形,核为椭圆形,核内具有致密的染色质团块,深紫色,胞质呈浅蓝色。亦有呈卵圆形或圆形的细胞。

白细胞 按Ehrlich标准,将日本白鲫白细胞分为淋巴细胞、单核细胞和中性粒细胞,另外,还有血栓细胞。

淋巴细胞 是白细胞中个体较小的细胞,细胞呈圆状或不规则圆形,有的具有钝形胞突,核所占比例大,呈不规则圆形或葫芦状(图1,C),染色质致密,有的有微核(图1,C)出现,在钝形胞突内可见到深紫色的嗜天青颗粒(图1,B,E),淋巴细胞可分为大、小两类,前者个体较大,胞质较为丰富,有明显的核环带(图1,E),此外,可见到小淋巴细胞的分裂相(图1,D)。

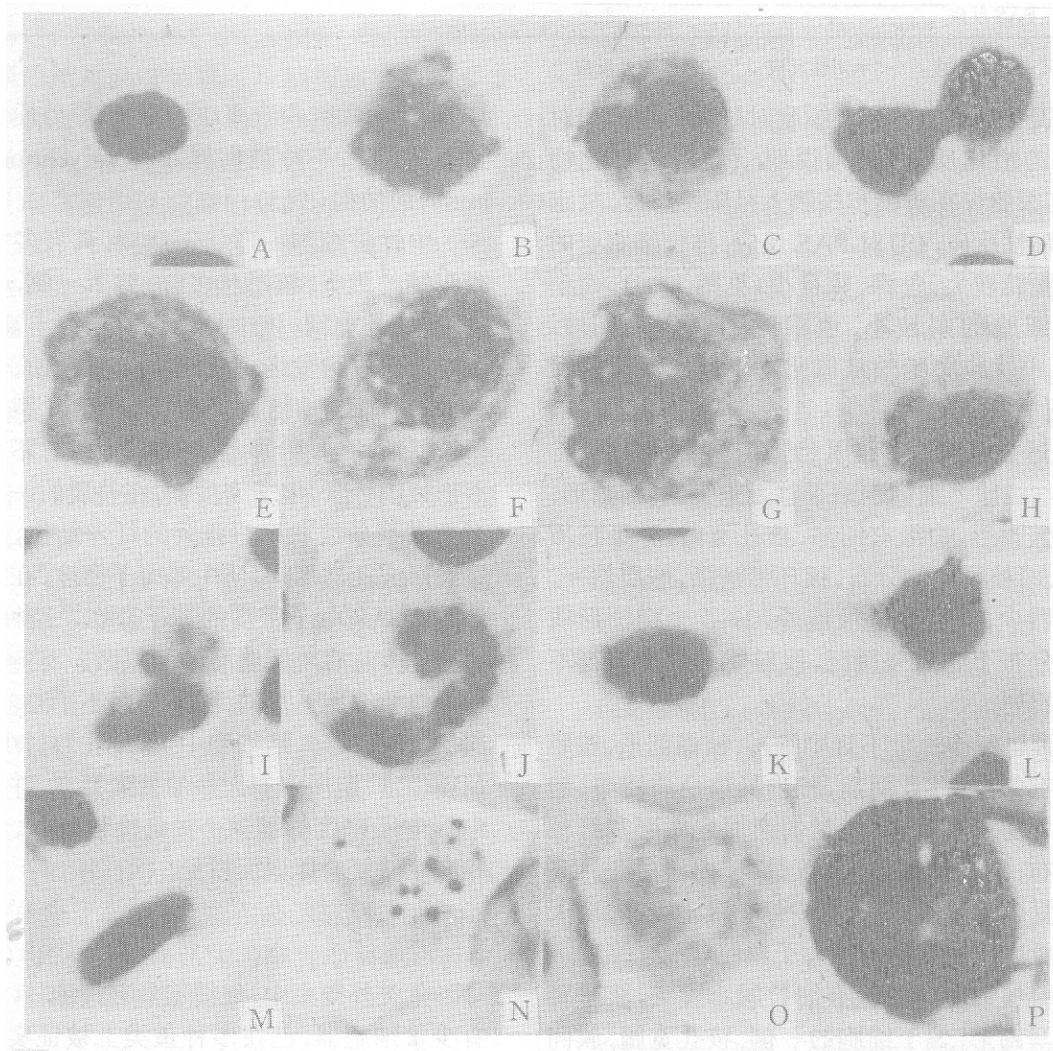
* 江西省自然科学基金资助项目内容之一。

收稿日期:1995-03-30,修回日期:1995-05-20

表 1 各类血细胞的大小和 DLC 值

项目	红细胞	淋巴细胞		单核细胞	中性粒细胞	血栓细胞
		小淋巴细胞、 大淋巴细胞				
DLC(%)		74		4	17	5
细胞大小 ($\bar{X} \pm S.D.$)	12.75 ± 0.64	5.31 ± 0.48	11.05 ± 1.42	12.14 ± 0.84	12.36 ± 0.77	10.60 ± 1.05 *
核大小 ($\bar{X} \pm S.D.$)	5.04 ± 0.31	5.25 ± 0.33	8.65 ± 0.76	8.45 ± 0.83	5.50 ± 0.56	6.4 ± 0.46 *
	3.71 ± 0.32	5.25 ± 0.33	7.95 ± 1.14	8.05 ± 1.04	4.46 ± 0.41	3.75 ± 0.49

* 示长径 · 示短径

图 1 日本白鲫各种血细胞的显微图像 $\times 2100$

A 红细胞; B, C 小淋巴细胞; D 小淋巴细胞的有丝分裂; E 大淋巴细胞; F, G 单核细胞; H, I, J 中性粒细胞; K, L, M 血栓细胞;
N 淋巴细胞 (PAS 反应); O 中性粒细胞 (PAS 反应); P 中性粒细胞 (过氧化物酶反应)

单核细胞(图 1、F、G) 细胞呈不规则梨形或不规则圆形、外周边缘不平整、核呈椭圆形或不规则圆形,偏于细胞的一侧,染色质呈疏网状,胞质丰富,其中有大量空泡,空泡间的胞质中有紫蓝色颗粒分布。

中性粒细胞(图 1、H、I、J) 细胞呈圆形或梨形,细胞边缘较为平整,核呈豆形、肾形或腊肠状,偏居于细胞的一侧,染色质呈粒状聚集再

联成网状,胞质丰富、细小的特殊颗粒在胞质中均匀分布。

血栓细胞(图 1、K、L、M) 细胞呈纺锤形,大头钉形和长杆状,还有极少量的裸核形细胞,细胞质所占比例甚少。核呈卵圆形、圆形或短棒状,染色质团块呈网状联结,另外,胞质中尚有极少量的颗粒——血栓粒分布。

2.1.3 血细胞的组化反应 其结果见表 2。

表 2 血细胞的组化反应

项目	红细胞	淋巴细胞	单核细胞	中性粒细胞	血栓细胞
过氧化物酶反应	±	—	—	+	—
PAS 反应	—	+	—	+	—

“+”示阳性反应 “—”示阴性反应 “±”示弱阳性反应

表 2 显示出各类血细胞对过氧化物酶和对 PAS 的组化反应,必须说明:(1)对过氧化物酶、红细胞仅在质膜和核膜上呈阳性反应,故定为弱阳性反应,(2)对 PAS 反应,淋巴细胞中的糖原颗粒粒大、色深、数目小(见图 1、N),而中性粒细胞的则粒小、色浅,数目多(见图 1、O)。中性粒细胞的过氧化物酶则呈深黑色反应(图 1、P)。

2.2 透射电镜观察结果(见图版 I, 1—7)

红细胞 细胞表面平整无胞突,长椭圆形,核长椭圆形,边缘有凹陷,核孔宽阔,异染色质凝缩,沿核膜内侧分布,核环带清晰,胞质均一,细胞器少,除有少量液泡外,2—3 个椭圆形线粒体分布于胞质外侧区,线粒体内嵴少斜行不规则排列。

淋巴细胞 呈不规则圆形、核椭圆形,核膜边缘有凹陷,核孔明显,核内异染色质密集,胞质中有游离核糖体,少量的粗面内嵴网和线粒体分布,线粒体个体大,数量少,内嵴横列。高尔基复合体可偶见,还有少量小液泡分布,嗜天青颗粒表现为膜色致密电子颗粒(图 2)。

单核细胞 细胞有细长的小胞突,核呈肾形或马蹄形,偏于细胞的一侧,核孔宽阔,膜间隙狭窄,核内异染色质少,沿核膜内侧呈薄层分布,于核中央呈岛样分布。线粒体数量多,个体大,内嵴疏松有的且退化,可见到高尔基复合

体,粗面内质网和游离核糖体,边周外质中可见到吞噬泡和一种似髓样小体(myelinoid-like body)的结构(图 5)。

中性粒细胞 形状不规则,具有多个细小或粗钝的胞突,核形状多样,偏于一侧,核环带清晰,核孔宽阔,核中异染色质较为丰富,胞质中粗面内质网发达,胞质边周有液泡,充满胞质中的特殊颗粒有 3 种类型(图 6)。A 型:圆形,颗粒基质均匀,中等电子密度。B 型:不规则长方形或短棒状,电子密度低,在基质的一侧有一至数条呈条纹状平行排列的纤丝结构。C 型,呈圆形或椭圆形,基质中等电子密度,在颗粒的一端有一高电子密度的芯子存在,三种颗粒的边周外方均有一圈明亮的间隙区。

血栓细胞 呈纺锤形,表面不平整,呈波浪起伏,核为梭形,居细胞中央,核孔数目少,异染色质丰富,胞质中有大量的管囊存在,并有少量中等电子密度的颗粒——血栓粒分布,线粒体和高尔基复合体偶而可见。

3 讨 论

鱼类外周血中,红细胞具有细胞核,胞质中有少量细胞器,已在多种鱼类上被证实^[1-3,5],在有的鱼类中,还发现高尔基复合体^[2],粗面内质网和边缘微管束^[5],表明鱼类红细胞处于分化的低级阶段,与哺乳动物比较,鱼类红细胞体

积大数量少。

小淋巴细胞是鱼类外周血液中数量最多的细胞,在鱼类中,其形态结构基本相似,但在其所含的细胞器的种类,形态结构和数量上,则因鱼种而异,如在白斑狗鱼^[13]上,线粒体数目较多,在斑点叉尾鱼^[7]和鳊^[9]上,其线粒体较大,在日本白鲫上,线粒体数量不多,呈腊肠形,鲫鱼^[1]的则与日本白鲫类似,关于淋巴细胞对PAS和过氧化物酶反应上,日本白鲫与其他鱼类^[8]有类似之处,也有不同之处^[12]。

鱼类血液中存在单核细胞,早期的资料是有争议的^[14, 15],但被近期研究所肯定^[6-9, 13],日本白鲫中,在单核细胞中还含有一种似髓样小体的膜层结构是其特征。单核细胞胞突较多,胞质中含有较多的液泡,说明它可以进行活跃的变形运动,与其他鱼类^[16]的相同。

日本白鲫中性粒细胞中的特殊颗粒有A、B、C三型,与其他鱼类有所区别,鲤鱼的中性粒细胞只含A型和C型两种颗粒^[4],在鳊中只含B型一种颗粒^[9];在鲢、鳙、鲢^[2]中则只含B、C两型颗粒,在丁鲶^[17]中则为A、B两类颗粒。可见,中性粒细胞特殊颗粒的类型是因鱼种类不同而有差异。至于中性粒细胞对过氧化物酶和PAS反应上,在被研究过的鱼类上却是一致的^[8, 12, 16]。

日本白鲫的血栓细胞在外周血中数量少且分散分布,不像其他鱼类^[1, 2]成群存在,在形态上,纺锤形、钉形、杆状和裸核形等四种皆可见到,与鳊^[8]上相同,但与金鱼^[18]、南极鳕鱼^[6]、鲤^[4]的有所不同。至于在鳊^[9]的血栓细胞中存在的微管束,在日本白鲫、金鱼^[14]、鲤^[4]和鲫^[1]中均未发现,这可能是因鱼种类不同,也可能是因固定方法不同所致。日本白鲫的血栓细胞中所含有的电子致密颗粒,在鳊、鳙、鲢^[2]和星鲨^[12]中均能见到,均认为与哺乳动物血小板中称为血栓颗粒的功能相当。

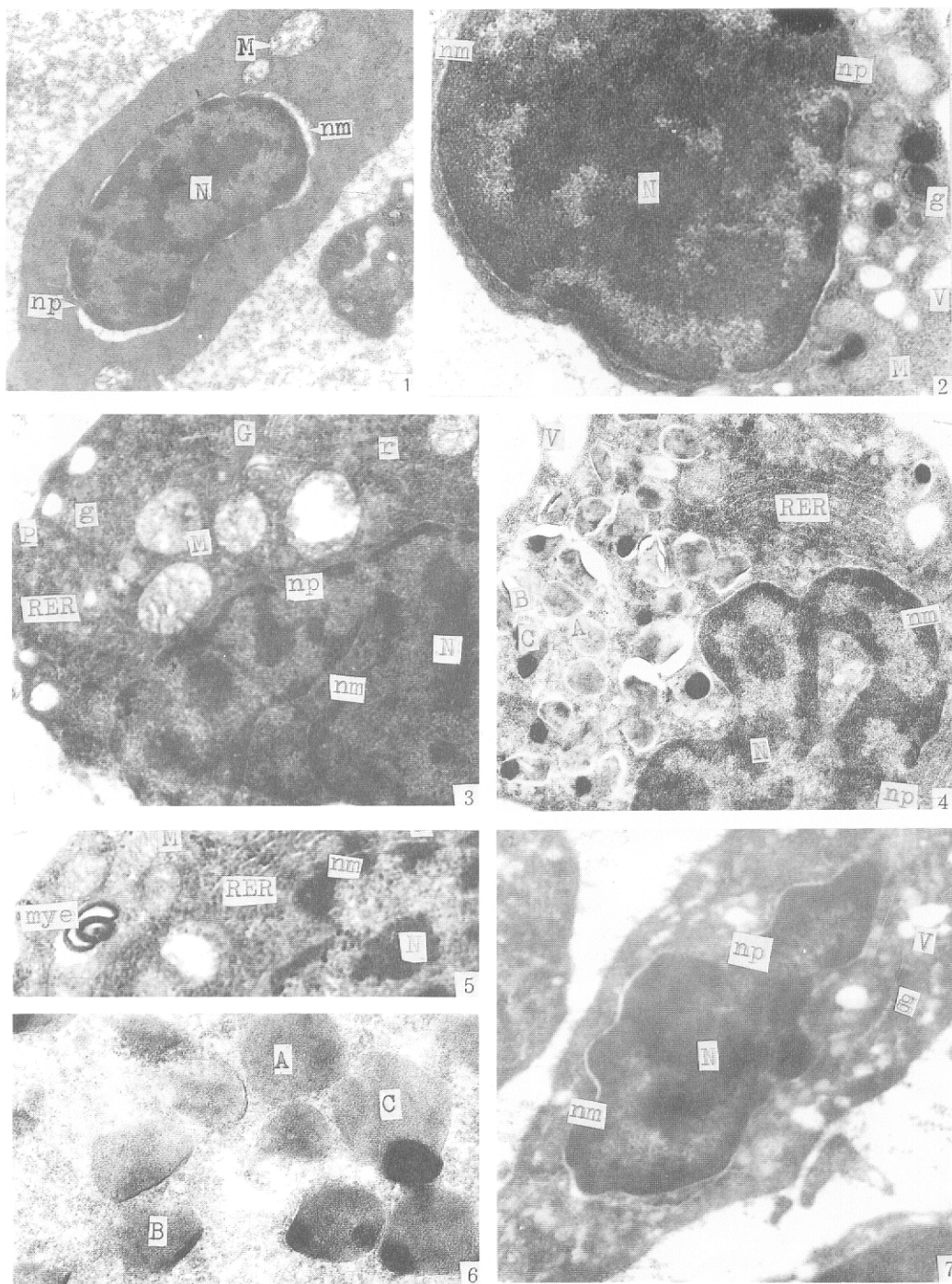
参 考 文 献

- 1 朱洪文,王浩,秦国强. 鲫鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察. 动物学研究, 1985, 6(2): 147—153.
- 2 徐豪等. 四种淡水养殖鱼类血细胞的细微结构. 水生生物学报, 1983, 8(1): 85—90.
- 3 胡成钰. 鲮鱼外周血细胞细微结构. 江西科学, 1990, 8(3): 20—28.
- 4 冯怀亮, 李文武, 王铁恒等. 鲤鱼血细胞显微和亚显微结构的观察. 水产学报, 1991, 15(3): 241—244.
- 5 傅莉娟, 高平, 严绍颐. 金鱼成熟红血细胞的超微结构研究. 科学通报, 1988, 33(15): 1178—1181.
- 6 Barber, D. L. The blood cells of the Antarctic icefish, *Chaenoccephalus aceratus* Lönnerberg: light and electron microscopic observations. *J. Fish Biol.* 1981, 19: 11—28.
- 7 Cannon, M. S. An ultrastructural study of the leukocytes of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Morphology* 1980, 164(1): 1—23.
- 8 Ellis, A. E. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish Biol.* 1977, 11(4): 453—491.
- 9 Ferguson H. W. The ultrastructure of plaice (*Pleuronectes platessa*) leucocytes. *J. Fish Biol.* 1976.
- 10 Imagawa Morphology of blood cells in carp (*Cyprinus carpio* L.). *JPN J. VET SCL.* 1989, 51(6): 1163—1171.
- 11 Page, M. A cytochemical, light and electron microscopical study of the leucocytes of the adult river lamprey, *Lampetra fluviatilis* (L. Gray). *J. Fish Biol.* 1983, 22: 503—517.
- 12 Parish, N. The leucocytes of the elasmobranch, *Scyliorhinus canicula* L. — a morphological study. *J. Fish Biol.* 1986, 28(5): 545—561.
- 13 Savage, A. G. The ultrastructure of the blood cells of the pike *Esox lucius* L. *J. Morphology* 1983, 178(2): 187—206.
- 14 Weinreb, E. L. Studies on the fine structure of the teleost blood cells. *Anat Rec.* 1963, 147(2): 219—238.
- 15 赵明菊等. 池养鲤和草鱼血液学指标的研究. 水生生物学集刊 1979, 6(4): 453—463.
- 16 Suzuki, S. A light and electron microscope study on the phagocytosis of leucocytes in rockfish and rainbow trout. *BULL JPN SOC SCI FISH* 1984, 50(8): 1305—1315.
- 17 Kelenyi, G. 1969 Comparative histochemistry and electron microscopy of the eosinophil leucocytes of vertebrates. I. A study of the avian, reptile, amphibian and fish leucocytes. *Acta Biol Hung.* 1969, 20: 405—422.

- 18 Watson, L. J. The hematology of goldfish, *Carassius auratus*. *Cytologia* 1963, 28: 118—130.

图 版 说 明

图 1 红细胞 × 11700; 图 2 淋巴细胞 × 20700; 图 3 单核细胞 × 13500; 图 4 中性粒细胞 × 14400; 图 5 单核细胞的局部放大, 示髓样小体 × 15300; 图 6 中性粒细胞局部放大, 示 A、B、C 型颗粒 × 36000 M 线粒体; N 细胞核; mye 髓样小体; nm 核膜; np 核膜孔; v 液泡; p 伪足; g 溶酶体样颗粒; r 核糖体; G 高尔基体; RER 粗面内质网; A、B、C 中性粒细胞内的三类特殊颗粒



(图版说明见正文)