

团头鲂血细胞发生的研究*

吴维宁

(上海市水产研究所)

提 要 本文研究了团头鲂造血器官的血液细胞学和组织学。脾脏的脾髓、肾脏的管间组织、肝脏的窦状隙和小肠的粘膜下层是团头鲂的造血区。在一年中各个造血器官产生各种血细胞的数目变化很大,而且母细胞从造血器官释放入外周血有一成熟过程。对红细胞的发育有一较清晰的了解。嗜中性粒细胞的早期形态和成熟形态也能区别,但有关单核细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞的发育过程还有待于进一步探讨。

关键词 团头鲂,造血器官,血细胞,发生

国内外学者对鱼类血液学的研究较多^[1,2,10],这些研究大多只限于血液学本身,而对造血器官的血液细胞学和组织学研究得较少。硬骨鱼类虽然已形成了骨髓腔,但还未达到有造血机能,鱼类的主要造血部位是脾脏和肾脏^[8]。前人对这些器官也有研究^[1,10,11],但资料较零散,且大多局限在光镜水平,迄今未见有关团头鲂血液发生的文献,本次实验选择了团头鲂为实验鱼,以其脾脏、肾脏、肝脏和小肠等为研究造血器官的主要对象,比较各器官血液学的异同,并结合外周血的观察探讨各种血细胞的发生。本项工作是在1988年5月至1989年4月间完成的。

材 料 与 方 法

实验材料为团头鲂^[5],取自江西省水产研究所试验塘,每月取四尾鱼,两雌两雄,共进行一周年。

光镜技术 (1) 外周血制备 尾静脉取血,用常规法制作血涂片。血涂片经甲醇固定后,一部分用Wright染色剂染色,然后进行白细胞分类计数和各种血细胞大小的测定;另一部分涂片进行PAS反应以显示糖类物质^[2]。(2) 造血器官组织涂片 把肾、脾和肝脏剪下,直接涂片,空气中干燥后,甲醇固定,一部分涂片用Wright染色剂染色,进行白细胞分类计数和各种血细胞大小的测定;另一部分涂片进行PAS反应。(3) 造血器官组织切片 把肾、脾、肝脏和小肠等切成小块,分别固定在10%福尔马林和Carnoy氏液中,常规石蜡包埋,切片厚度6 μ m。切片再分别进行H-E、柏林蓝(显铁质)和PAS染色^[2]。光镜观察并照相。

电镜技术 从尾静脉抽出外周血2ml,注入离心管中,以1500转/分离心10分钟,除去血清,加入冷的2%戊二醛,4°C下固定2天。肾、脾、肝脏和小肠切成1mm³的小块,于冷的2%戊二醛中,在4°C下固定2天。外周血和各器官的组织块经固定后,用不同浓度丙酮脱水,环氧树脂812包埋,LKB超薄片机切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,透射电镜观察并照相。

* 本文是在江西大学林光华教授指导下完成的,特致谢。

收稿年月:1990年3月;同年7月修改。

观 察 结 果

(一) 造血器官的大体结构和显微结构

1. 肝脏 剖开团头鲂腹部,可明显看到在弯曲的肠部之间有黄色的肝脏,从心腹膜起至肠管后部,肝分叶不清楚。显微镜下观察,肝脏由无数肝小叶构成,每个肝小叶中央有一中央静脉,肝细胞由中央静脉向四周排列成肝细胞索,肝细胞索相连,其间形成的网状结构即为窦状隙。窦状隙是肝脏的造血区,用 H-E 染色见其中充满红细胞,也见淋巴细胞和粒细胞(见图版—1)。造血区中还能观察到有 PAS 阳性颗粒的粒细胞。

2. 肾脏 所取肾脏是位于体腔背面,前窄后宽形如三角形的部分。肾脏由肾单位和集合管组成,肾单位又分为肾小体和肾小管两部分。肾脏的造血区就位于肾小管之间以及肾小管与集合管之间的管间组织区(见图版—2),此区有多量的内含 PAS 阳性颗粒的粒细胞。

3. 脾脏 位于小肠前部背面,鳔的腹面,颜色深红,因为富含血管,肉眼可见到许多红点。脾实质由脾小梁和脾髓组成,但二者界限不清,脾髓为脾脏的造血区(见图版—3)。

4. 小肠 靠近心腹膜处肠段。能明显区分出粘膜、粘膜下层、肌层和浆膜等四层。粘膜下层为小肠的造血区。H-E 染色观察到粘膜下层有少量红细胞,但有较多的粒细胞(见图版—4)。

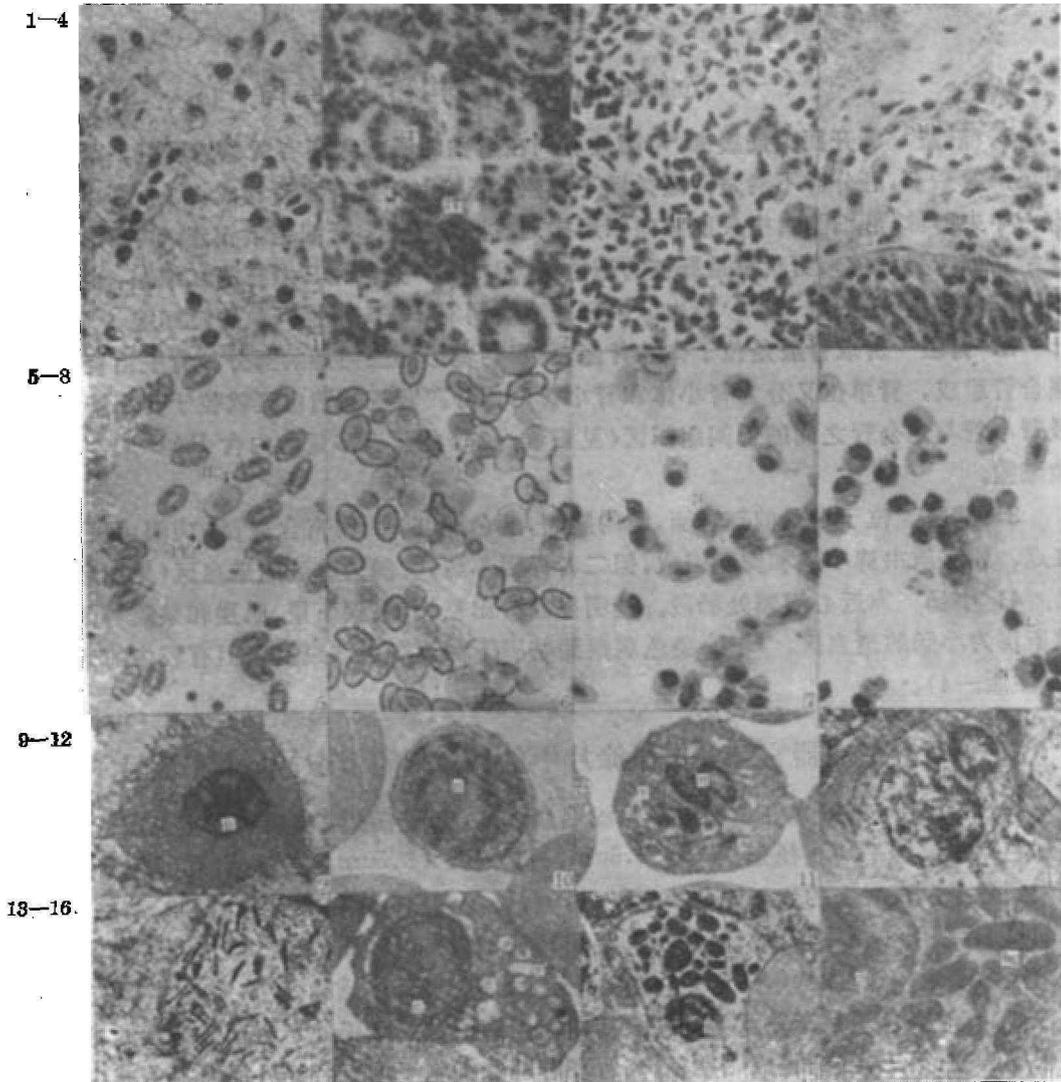
(二) 造血器官和外周血涂片中各种血细胞形态、大小和数量

1. 红细胞 外周血红细胞大多为成熟红细胞,长椭圆形,核染成深蓝色或紫红色或浅绿色。红细胞平均直径是 $14.5 \times 8.5 \mu\text{m}$,核为 $6.5 \times 6.5 \mu\text{m}$ 。在脾、肾和肝脏涂片上能观察到各个发育时期的红细胞(见图版—5,6),可把它们分成下列几个时期。第一,红细胞幼稚期,细胞小呈圆形,核质比大,细胞质只位于绕核的一周;第二,红细胞未成熟期,细胞由圆形逐渐伸长,变为椭圆形,核也由圆形变为椭圆形,核质比变小,细胞核较疏松,染色浅红,有时染色质呈车轮状排列在核膜内。还有一类细胞正处于有丝分裂后期,这也属于未成熟期;第三,红细胞成熟期。脾、肾和肝脏红细胞平均直径比外周血显著减少。脾脏红细胞平均直径为 $12.5 \times 7.5 \mu\text{m}$,核为 $5.5 \times 3 \mu\text{m}$,肝脏的分别为 $11 \times 5.5 \mu\text{m}$ 和 $4.5 \times 2.5 \mu\text{m}$;肾脏的则分别为 $12 \times 7 \mu\text{m}$ 和 $5 \times 2 \mu\text{m}$ 。

2. 血栓细胞 数量不多。一般形态为长杆状、梭形或钉状,核占细胞大部分,染成深蓝色(见图版—7)。

3. 淋巴细胞 圆形,核占细胞大部分染色深,核外的细胞质浅染。造血器官和外周血中的淋巴细胞形态相似,但大小有异。外周血淋巴细胞平均直径是 $6.5 \times 6.5 \mu\text{m}$,核为 $6.5 \times 6.5 \mu\text{m}$;而脾脏分别为 $5 \times 5 \mu\text{m}$ 和 $5 \times 5 \mu\text{m}$,肝脏的分别为 $5 \times 4.5 \mu\text{m}$ 和 $4.5 \times 4.5 \mu\text{m}$,肾脏为 $4 \times 4 \mu\text{m}$ 和 $4 \times 4 \mu\text{m}$ 。另外淋巴细胞数在一年中有变化(图 1,2)。从图 1 中可看出,在一年中肝和脾脏涂片中淋巴细胞在白细胞中占有较大的比例,而在肾脏中则占有较小的比例。

4. 嗜中性粒细胞 造血器官与外周血中的嗜中性粒细胞形态有差别。外周血的成熟



图版说明 Explanation of plate

- 1—4 造血器官切片, H-E 染色($\times 400$)。 1. 肝脏切片示肝细胞(C)和窦状隙(S), 2. 肾脏切片示肾小管(T)和管间组织(IT), 3. 脾脏示脾髓(P), 4. 小肠示粘膜下层(SM)。
- 5—8 造血器官涂片, Wright's 染色($\times 400$)。 5. 肝涂片示原红细胞(PE)和未成熟红细胞(IE), 6. 肝涂片示红细胞分裂(ED), 7. 肾涂片示血栓细胞(T)和嗜中性粒细胞(N), 8. 肾涂片示淋巴细胞(L)和单核细胞(M)。
- 9—16 外周血和造血器官血细胞电镜照片。 9. 肝脏中红细胞($\times 8000$), 10. 外周血淋巴细胞($\times 40000$), 11. 脾中嗜中性粒细胞($\times 10000$), 12. 外周血嗜中性粒细胞($\times 10000$), 13. 外周血单核细胞($\times 25000$), 14. 肾中嗜酸性粒细胞($\times 15000$), 15. 脾中嗜碱性粒细胞($\times 8000$), 16. 外周血嗜碱性粒细胞($\times 15000$)。 (n——核, sg——特殊颗粒, eg——嗜酸性颗粒, bg——嗜碱性颗粒, v——囊泡)

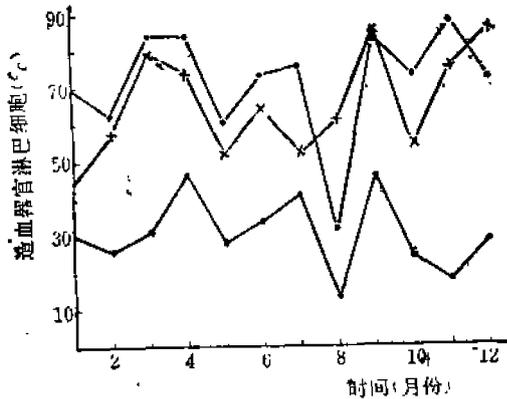


图1 造血器官淋巴细胞在白细胞中所占比例的周年变化

Fig. 1 The yearly changes of lymphocyte percentages among the leucocytes in three hematopoietic organs.

---肝, —△—脾, —●—肾

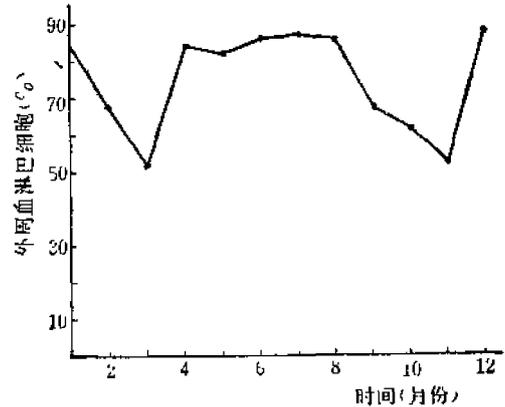


图2 外周血淋巴细胞在白细胞中所占比例的周年变化

Fig. 2 The yearly changes of lymphocyte percentages among the leucocytes in the peripheral blood.

嗜中性粒细胞呈圆形,核偏于细胞一侧,染成紫红或深紫色,核质比小,细胞质不着色。而造血器官涂片上的嗜中性粒细胞则大小不一(见图版—7,8),有的小如淋巴细胞,核质比较大,核染色较浅;有的则和外周血细胞中的一样大小,但细胞质内有时可见到浅蓝色的细丝或小粒。从细胞大小来看,外周血嗜中性粒细胞较大,细胞平均直径为 $12 \times 11 \mu\text{m}$,核为 $6 \times 5 \mu\text{m}$;而造血器官嗜中性粒细胞较小,脾脏中细胞平均直径为 $9.5 \times 8.5 \mu\text{m}$,核为 $7 \times 4.5 \mu\text{m}$;肝脏中分别为 $10.5 \times 8.5 \mu\text{m}$ 和 $7 \times 5 \mu\text{m}$;肾脏中则分别为 $10 \times 9 \mu\text{m}$ 和 $7 \times 5 \mu\text{m}$ 。从PAS反应来看,外周血嗜中性粒细胞细胞质反应强烈,染成鲜红;而造血器官中的嗜中性粒细胞有几种表现:一种如外周血一样强阳性反应;另一种反应较弱,染成浅红,这是较成熟的细胞;还有一种细胞质呈阴性反应,不显红色,这是未成熟的细胞。在一年中嗜中性粒细胞数有变化(图3,4),其中肾脏嗜中性粒细胞所占比例最高,而脾和肝脏相对较小。

5. 单核细胞 有时较难区分单核细胞与嗜中性粒细胞和较大的淋巴细胞。把具有下列特征的细胞归入单核细胞:细胞大,核染色质较疏松,核内有空泡,细胞质内有空泡且有蓝色的丝状结构,细胞外表光滑(见图版—8)。脾脏单核细胞平均直径为 $11 \times 9 \mu\text{m}$,核为 $7 \times 5.5 \mu\text{m}$;肝脏中分别为 $9.5 \times 8.5 \mu\text{m}$ 和 $6.5 \times 5 \mu\text{m}$;肾脏则为 $11 \times 10 \mu\text{m}$ 和 $8 \times 7 \mu\text{m}$ 。外周血单核细胞平均直径为 $12 \times 9 \mu\text{m}$,核为 $8 \times 7 \mu\text{m}$ 。单核细胞数在一年中有变化(图5,6),平均来看,肾脏中单核细胞较多。

6. 其它细胞 在造血器官和外周血涂片中嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞数量不多。

(1) 嗜酸性粒细胞 细胞圆形或不规则形,核圆形染成紫红色,核较小,偏心位,胞质中有红色颗粒。

(2) 嗜碱性粒细胞 细胞圆形或不规则形,核近圆形,较小,胞质中有一些染成浅灰或浅蓝色的颗粒。

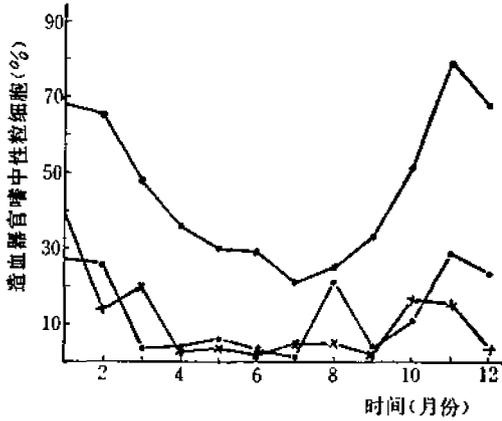


图3 造血器官嗜中性粒细胞在白细胞中所占比例的周年变化

Fig. 3 The yearly changes of neutrophil percentages among the leucocytes in three hematopoietic organs.

—●—肝, —x—脾, —○—肾

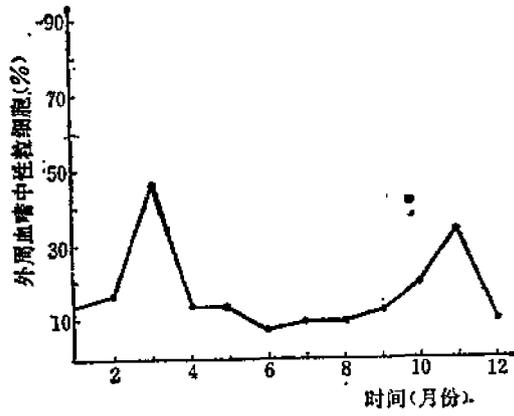


图4 外周血嗜中性粒细胞在白细胞中所占比例的周年变化

Fig. 4 The yearly changes of neutrophil percentages among the leucocytes in the peripheral blood.

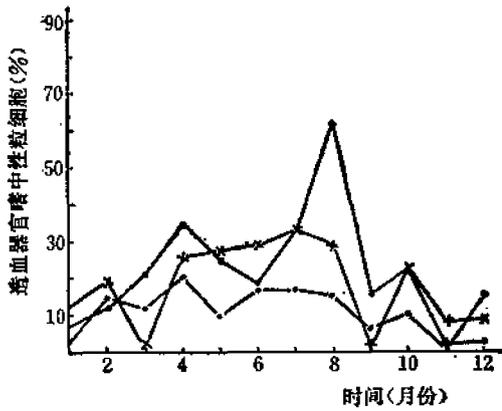


图5 造血器官单核细胞在白细胞中所占比例的周年变化

Fig. 5 The yearly changes of monocyte percentages among the leucocytes in three hematopoietic organs.

—●—肝, —x—脾, —○—肾

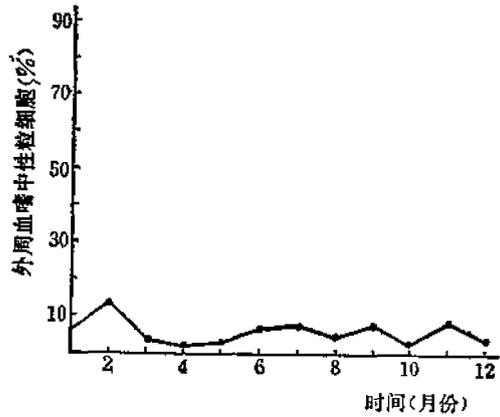


图6 外周血单核细胞在白细胞中所占比例的周年变化

Fig. 6 The yearly changes of monocyte percentages among the leucocytes in the peripheral blood.

(三) 造血器官和外周血中血细胞的亚显微结构

1. 红细胞 细胞椭圆形,核圆形,异染色质沿核膜边缘及核中央分布,细胞质染色均匀,细胞器较少,可见少量囊泡和1—2个线粒体(见图版—9)。

2. 血栓细胞 梭形,核占细胞中央大部分,细胞器不多,主要是粗面内质网、游离核糖体和小囊泡。

3. 淋巴细胞 细胞圆形,外表有许多小突起,核占细胞大部分,绕核周有一圈染色均

匀的细胞质,细胞器较少(见图版—10)。

4. 嗜中性粒细胞 造血器官与外周血中的嗜中性粒细胞有差别。造血器官中的嗜中性粒细胞表面光滑没有突起,核单个或分叶,核质比大,细胞器较少,线粒体长杆状,细胞质中未见有致密颗粒。而外周血嗜中性粒细胞表面不光滑,核质比较小,细胞质中有较多细胞器,主要是粗、滑面内质网和游离核糖体,还见有多个囊泡。另外细胞质中有一些近圆形的电子致密颗粒(见图版—11、12)。

5. 单核细胞 细胞呈不规则形,表面有小伪足伸出。核圆形偏心位。细胞质内有許多大小不等的囊泡,有的囊泡内含放射状分布的细丝,有的则含一个电子致密的颗粒(见图版—13)。

6. 嗜酸性粒细胞 在造血器官中多见。细胞大,细胞质中有一些细胞器,如游离核糖体、粗面内质网、小囊泡和杆状线粒体。但细胞质中主要的是一些致密颗粒,颗粒呈圆形或不规则形,但多数呈长杆状。颗粒内有结晶,依所切颗粒方位不同,结晶表现不同,有的由一根根丝平行排列而成,有的只有一条致密带,有的则呈不规则形(见图版—14)。

7. 嗜碱性粒细胞 在造血器官中多见。细胞大,呈倒锥形或不规则形,表面粗糙。核较小偏心位,细胞质中含有一些致密颗粒,颗粒染色均一,呈圆形或杆状。细胞质中细胞器较少(见图版—15、16)。

讨 论

1. 红细胞的发育 在脾、肾和肝脏涂片上能见到各发育阶段的红细胞,说明它们是红细胞发育的场所。从形态变化来看,从发育早期到成熟,红细胞由小变大,细胞由圆形变为长椭圆形,核质比由大变小,核染色由浅到深。红细胞发育经过下列几个阶段:第一,红细胞幼稚期,细胞呈圆形或近圆形,核质比大;第二,红细胞未成熟期,细胞由圆形逐渐伸长为椭圆形,核也由圆形变为椭圆形,核质比变小,细胞核染色质疏松,有时染色质呈车轮状排列在核膜内。还有的细胞正处于有丝分裂后期;第三,红细胞成熟期。以上这个观察结果与Catton^[9]结果相似。另外,在团头鲂外周血涂片中可观察到红细胞的无丝分裂相,这个结果与朱洪文^[1]在鲫鱼中所观察的结果相似。如果这种无丝分裂不是病理现象或生理适应的话,那么红细胞的生成就有两条途径:一条途径如前述,从造血器官中产生;另一条途径即通过外周血红细胞直接分裂而来。

2. 淋巴细胞的发育 从细胞形态、显微和亚显微结构来看,造血器官和外周血的淋巴细胞相似;但从细胞大小来看,外周血中的淋巴细胞要大,而造血器官中的淋巴细胞较小;从细胞数量来看,如图1、2所示,肝、脾脏中淋巴细胞数较多,也即这两种器官能产生较多的淋巴细胞,即肝、脾脏为淋巴细胞的产生地。有关脾脏产生淋巴细胞的结果与Booker^[9]相同。但对淋巴细胞发育详情,今后要在生化、免疫学方面进行研究。

3. 单核细胞的发育 从所测量的单核细胞来看,外周血单核细胞较大,而造血器官中较小。从图5、6来看,肾脏中单核细胞数较多,说明肾脏是单核细胞的主要产地,但发育过程不清楚。

4. 嗜中性粒细胞的发育 在发育过程中,不仅细胞大小、形态有变化,化学组成同样

有变化。在细胞体积由小变大的过程中,核质比由小变大,核由浅染到深染,细胞质由嗜碱性变为嗜中性,PAS反应也由阴性到弱阳性再到强阳性。而且造血器官与外周血中的嗜中性粒细胞亚显微结构有差异,造血器官嗜中性粒细胞表面光滑,细胞器较少;而外周血嗜中性粒细胞表面粗糙,细胞器较多,还有一些颗粒。图3、4显示嗜中性粒细胞数的周年变化,从图中可看出肾脏中嗜中性粒细胞数较多,说明肾脏是嗜中性粒细胞的主要发生地。另外,观察小肠粘膜下层也见到发育早期的嗜中性粒细胞,说明小肠对嗜中性粒细胞产生有一定关系。

5. 嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的发育 观察Wright染色涂片,造血器官和外周血中这两种细胞很少,但在用电镜技术处理的造血器官中,其造血区能观察到多量的细胞,尤其是肾脏和脾脏中多见,而电镜观察外周血,只能见到少量的细胞。出现以上情况的原因不明。

6. 白细胞数量的变化 从图1、3、5可看出,各种白细胞在一年中数目波动较大。在同一月份同一种白细胞数在不同器官中有较大差异,说明各种器官产生白细胞的能力有异;同一种白细胞数在同一器官中会因月份的不同而有差异,这说明白细胞数会因季节变化而改变,林光华^[3,4]在研究鲫鱼和草鱼血液时也观察到同样现象。另外,比较图1和图2,在9月份三种造血器官淋巴细胞数达最高峰,但外周血淋巴细胞数未见上升,其它细胞也有类似现象,可能说明母细胞从造血器官至外周血有一个成熟过程。

参 考 文 献

- [1] 朱洪文,1985. 鲫鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察,动物学研究,6(2):147—153.
- [2] 芮菊生等,1980. 组织切片技术,人民教育出版社。
- [3] 林光华,1979. 鲫鱼血液的研究,动物学报,25(3):210—219.
- [4] ——,1985. 草鱼血液的研究,动物学报,31(4):336—343.
- [5] 赵明莉等,1979. 池养鲤和草鱼血液学指标的研究,水生生物学集刊,6(4):453—464.
- [6] 郑葆珊等,1987. 中国动物图谱·鱼类(第二版),102. 科学出版社(北京)。
- [7] 董元凯,1963. 尤洲鱊鱼血液的初步研究,武汉大学学报(自然科学), (2):13—23.
- [8] 尾崎久雄(许学龙等译),1982. 鱼类血液与循环生理. 上海科学技术出版社。
- [9] Booker, J., 1979. The haemacytology and histology of the haemopoietic organs of South African fresh water fish. I. The haemopoietic organs of *Clarias galapinus* and *Sarotherodon massambicus*. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 46: 217—222.
- [10] Catton, W. T., 1951. Blood cell formation in certain teleost fishes. *Blood.*, 6:39—60.
- [11] Ellis, A. E., 1976. Leucocytes and related cells in the Plaice *Pleuronectes Platessa*. *J. Fish Biol.*, 8:143—156.
- [12] Ferguson, H. W., 1976. The ultrastructure of plaice (*Pleuronectes Platessa*) leucocytes. *J. Fish Biol.*, 8: 139—142.
- [13] Roubal, F. P., 1986. Blood and other possible inflammatory cells in the sparid *Acanthopagrus australis* (Günther). *J. Fish Biol.*, 28: 573—593.

THE FORMATION OF BLOOD CELL IN *MEGALOBrama* *AMBLYCEPHALA* YIH

Wu Weining

(Shanghai Fisheries Research Institute)

ABSTRACT The blood cytology and histology of formation in *Megalobrama amblycephala* Yih. have been studied. The pulp of spleen, the intertubular tissue of kidney, the sinusoid of liver and the submucosa of small intestine are main hematopoietic centers of the fish. The number of blood cells produced by each hematopoietic organ vary monthly. While the parent cells flow from the hematopoietic organs into the peripheral blood vessels complete the process of maturation. The development of erythrocyte is described in the paper, and the difference between the parent neutrophils and the matured ones is discussed. But the development of monocytes, lymphocytes and coarse granulocytes need to be further studied.

KEYWORDS *Megalobrama amblycephala*, hematopoietic organ, blood cell, formation