

鲤鱼和鲫鱼脾脏显微结构和亚显微结构的研究*

秦国强 王 浩 黄金生 朱洪文

(南京大学生物系)

提 要

鲤鱼和鲫鱼的脾脏中都没有小梁,其红髓和白髓是混合的。脾脏中都有椭圆体,其末端向脾髓开放。脾髓的纤维网眼中缺乏血管壁,椭圆体毛细血管中的血液可直接流入脾髓网状结缔组织的腔隙中。

腹腔注射墨汁的鲫鱼,2小时后即可在椭圆体的巨噬细胞中看到碳粒的积累,可见脾脏的过滤作用主要在椭圆体中进行。在注射墨汁的鲫鱼脾脏中,黑色素巨噬细胞中心比未经注射鱼的脾脏明显,且数量增多,它和哺乳动物淋巴结和脾脏中的生发中心结构和功能都不相同。

关于哺乳动物脾脏的显微结构和亚显微结构已研究得比较清楚了,但在鱼类方面的资料还不多。鱼类和哺乳类的脾脏在显微结构上有很大的差别^[1]。例如哺乳动物的脾脏主要由白髓和红髓二部分组成,白髓是密集的淋巴组织,包括动脉周围的淋巴鞘和脾小结,脾小结中也有生发中心。可是鱼类没有淋巴结,但有淋巴髓样组织(lympho-myeloid tissue)。鱼类的淋巴髓样组织不仅能产生淋巴细胞,而且也产生红细胞^[2]。

不同种鱼的脾脏,除了形状和大小各不相同外,它们的显微结构也有很大的差别^[5,11]。例如鲟鱼(*Molva molva*),白髓相当发达。狼鲈(*Morone labrax*),白髓形成小结。板鳃类和肺鱼也都有淋巴鞘。可是真骨鱼类的脾脏大多缺乏脾小结,在这种脾脏中白髓和红髓是混在一起的。由此可见鱼类脾脏的结构是相当复杂的,而且还有不少地方有待进一步探讨。

本研究的目的在于通过鲤鱼和鲫鱼脾脏的组织结构和亚显微结构的观察,了解下列问题:(1)鲤鱼和鲫鱼的脾脏中有没有小梁;(2)白髓和红髓的分布情况怎样;(3)脾脏中有没有椭圆体,以及椭圆体的结构和功能怎样;(4)黑色素巨噬细胞的结构和功能;(5)脾髓的结构;(6)血液在脾脏中的循环途径。

材 料 和 方 法

实验用的鱼系 1980 年和 1981 年春季捕自南京水产研究所的渔塘。鲤鱼每尾重 1 斤左右,鲫鱼每尾重半斤左右。捕起后,在实验室中饲养 1—2 天,解剖,取出脾脏,切成 5 毫

* 本文承陈纳逊教授审阅并提出宝贵的意见,特此致谢。

编辑部收到稿件日期: 1981 年 7 月 15 日。

米见方的小块,用 Bouin 液固定,二甲苯透明,石蜡包埋,切成 5—7 微米的薄片。一部分切片用 Delafield 氏苏木精和曙红染色,另一部分用 Mallory 氏液染色。

鲫鱼中的一部分注射碳的胶体悬液^[3,4]。胶体悬液用墨汁和等量的蒸馏水稀释而成。注射前煮沸灭菌,冷却后用注射器在鱼的腹侧肛门前 2 厘米处,向腹腔缓慢地注入 1 毫升的稀释墨汁。然后放回水中饲养,随后隔 2、5、24 和 48 小时,每次取出一部分鱼解剖,切取脾脏。制片和染色的方法同前。

由于组织中墨汁的碳粒和黑色素难以区分,所以在注射墨汁的材料中,切片在染色以前,先用 20% (容积比)的 H_2O_2 脱色 36 小时,待色素漂净以后再进行染色。

部分的材料作连续切片,便于观察脾脏中血管的分布。

制备超薄切片的方法:未注射墨汁的鲤鱼和鲫鱼,以及注射墨汁的鲫鱼,脾脏自鱼体中取出后,立即浸在以磷酸盐缓冲液配制的 pH7.4 的 2% 戊二醛溶液中,切成 1 毫米见方的组织小块,然后以同样的溶液(2% 戊二醛溶液)固定 1 小时,再以 pH7.4 的 2% 锇酸液固定 1 小时,脱水,以 Epon 812 包埋。在 LKB 切片机上切成超薄切片,在 Philips EM400 HM 型号的电镜下观察并照相。

结果和讨论

脾脏是真骨鱼类中唯一的淋巴结状器官^[6],呈暗红色带状,位于前肠前部背面^[1],鲤、鲫脾脏的表面有薄层的被膜覆盖,被膜由单层扁平上皮细胞和薄层结缔组织组成,被膜的薄层结缔组织向髓质内延伸,形成极薄的隔膜,把脾脏分隔成许多不规则的小叶。隔膜中没有肌纤维,也不像哺乳动物的脾脏那样形成粗大的结缔组织小梁伸入脾组织内。被膜中的结缔组织伸入小叶内部,彼此连结构成脾脏的支架。网眼中网络着红细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、成血细胞以及其他的细胞。

在脾脏的被膜外通常可以看到大量的胰组织紧贴在被膜上。胰组织甚至可沿着血管一直伸展到脾脏内部的小叶间结缔组织中,但决不进入小叶内。

鲤鱼和鲫鱼的脾脏具有相似的组织结构。其主要成分为椭圆体(ellipsoid),脾髓和黑色素巨噬细胞中心。

椭圆体是具有厚壁的毛细血管,是由脾小动脉分枝来的。椭圆体的中央有一由脾小动脉分枝来的毛细血管通过。毛细血管壁只是一层扁平的内皮细胞。毛细血管的管腔狭小,最小的毛细血管仅可容纳一个红细胞通过。内皮细胞外通常为一系列巨噬细胞所包围。巨噬细胞的周围为一层较厚的纤维膜。作者在椭圆体周围的壁上没有看到和脾髓相通的孔道,这和前人的报道^[3]是不一致的。

脾循环是开放型的系统。进入脾脏的动脉和静脉紧靠在一起是互相平行的。脾小动脉在脾髓内分枝,分成 3—4 枝具有厚壁的毛细血管,它们开放到脾髓的腔隙中(图 1:1),它相当于哺乳动物脾脏中的笔毛动脉(a. penicilli)的分枝,即鞘毛细血管,亦即 Yoffey (1929)^[11] 所谓的椭圆体。因为椭圆体的末端是开放的,所以椭圆体毛细血管中的血液可直接流入脾髓网状结缔组织的腔隙中。观察连续切片,可看到腔隙往往与小静脉血管壁紧靠,有的腔隙可直接和血管壁沟通,且这种现象较多。我们认为,血液可能由腔隙汇流

到小静脉中,最后汇集成静脉,自脾脏通出。由于椭圆体中央毛细血管的口径很小,所以所有的红细胞最后必须通过这些狭窄的孔道。

在椭圆体巨噬细胞的胞质内,含有巨大的晶体(图 II:5)。这种晶体可能是被吞噬入细胞内的红细胞碎片的降解产物——血铁黄素(haemosiderin)的结晶。

鲫鱼注射墨汁后,墨汁中的碳粒在注射 2 小时内就可在椭圆体的巨噬细胞中出现。注射 48 小时后,碳粒已大部分为椭圆体中的巨噬细胞所吞噬,大量碳粒累积在这些细胞中。此外,在脾髓的网状间隙中的巨噬细胞内,偶尔也可看到少量被吞噬的碳粒。

在注射墨汁的鲫鱼脾脏的超薄切片中,用电镜观察,在椭圆体的巨噬细胞胞质中,除了可以看到大量呈圆形的碳粒外,还存在一些较大的球形颗粒,它们呈片状结构,可能相当于后溶酶体或残体(图版 I:3; 图版 II:4)。

脾髓并不密集成淋巴组织,其红髓和白髓是混合的,脾髓中的腔隙(lacunae)是由嗜银性纤维组成的,但缺乏血管壁。腔隙中除了可以看到红细胞,淋巴细胞和巨噬细胞外,其他血细胞在切片的标本上不易分辨。但如果把新鲜的脾切开,把切面在载玻片上制成厚的涂片,用 Wright 氏染色液染色,便可清楚地区分出红细胞,淋巴细胞,血栓细胞,巨噬细胞成血细胞及中性,嗜酸和嗜碱粒细胞,但其中以红细胞,淋巴细胞和血栓细胞为最多,以嗜碱和嗜酸粒细胞为最少(但比循环血液中要多得多)。成血细胞体积较大,呈圆形或椭圆形,核大,有丰富的染色质。核的周围有着色很深的嗜碱性胞质,呈深蓝色,易于和淋巴细胞和血栓细胞相区分。

黑色素巨噬细胞中心通常都分布在脾髓中。它们是一些黑色素巨噬细胞的集团,位于椭圆体和血管的附近。黑色素巨噬细胞中心,在未注射墨汁的鲤鱼和鲫鱼脾组织中,这一结构的细胞比较分散,周围间或可以看到有薄层的纤维和脾髓分开。但黑色素巨噬细胞中心在注射墨汁的鲫鱼脾中特别明显(图版 I:2)。数量较多。最初在细胞集团的周围出现薄层的纤维膜,其后逐渐为结缔组织细胞所包裹。开始时只有 1 层扁平的细胞,其后增加到 3—4 层。里面是成层排列的疏松纤维。中央是一些退化的细胞,细胞的边缘模糊,有些细胞中核已消失。有些学者认为黑色素巨噬细胞中心的细胞是从椭圆体迁徙来的,而且认为它们可能是原始的生发中心^[2,3,6,8]。

过去学者们描述的黑色素巨噬细胞中心并没有特殊的周边层^[2],而我们在注射墨汁的鲫鱼脾中可见到的黑素巨噬细胞中心,周围为扁平的细胞所包裹,而且在这一集团中心的细胞有分解、退化的趋势。此外,在它的内部也没有发现任何细胞分裂增殖的现象,因此它和哺乳动物淋巴结和脾脏中的生发中心显然不同,所以从形态上看来,这一结构并没有生发的作用。恰恰相反,一些细胞却在这里崩溃、分解。至于包围在这些细胞周围的纤维和细胞层,似乎有防止其分解产物向周围扩散的作用。

综上所述,可知鲤鱼和鲫鱼脾脏的功能和哺乳动物脾脏的功能相似^[9,10],即:(1)造血;(2)破坏血细胞;(3)防御反应。此外可能还有贮藏红细胞的作用。这最后一种作用至少在板鳃类是明显的^[11]。

结 论

(1) 鲤鱼和鲫鱼的脾脏中都有椭圆体。从椭圆体的结构和功能上看来,鱼类脾脏中的椭圆体相当于哺乳动物脾脏中的鞘毛细血管。

(2) 我们在这两种鱼的脾脏中清楚地看到椭圆体的末端是向脾髓开放的。因此,从椭圆体毛细血管流出的血液可直接渗入脾髓中。

(3) 鲫鱼和鲤鱼一样脾脏中没有小梁。在脾小动脉和小静脉的周围没有淋巴鞘(白髓)。就是说在这两种鱼类的脾脏中红髓和白髓是混合的,二者没有明显分界。

(4) 注射墨汁到鲫鱼的腹腔中,2小时后在椭圆体的巨噬细胞中已可见到有碳粒的积累。此外,在脾髓的巨噬细胞中,虽然有时也可看到有碳粒被吞噬,但数量极少。由此可见,脾脏的过滤作用,主要在椭圆体中进行。

(5) 在注射墨汁的鲫鱼脾脏中,黑色素巨噬细胞中心比未经注射鱼的脾脏明显,且数量增多,常位于椭圆体和血管的附近,它们是层状的球形体,周围包着一到数层扁平的细胞,里面是成层排列的纤维,中央是一些轮廓模糊的细胞,且有些细胞的核已退化消失。因此,它和哺乳动物淋巴结和脾脏中的生发中心结构和功能都不相同。

(6) 鲤鱼和鲫鱼脾髓的纤维网眼中缺乏血管壁,因此只能称它为腔隙,在这两种鱼的脾髓腔隙中含有大量的红细胞,淋巴细胞和血栓细胞。此外尚有数量较少的巨噬细胞,三种有粒的血细胞以及成血细胞。脾脏中的成血细胞可能产生淋巴细胞和其他血细胞。因此鲤鱼和鲫鱼的脾脏,不仅有破坏血细胞的作用,而且可能是产生血细胞的场所。

参 考 文 献

- [1] 秉志, 1960. 鲤鱼解剖。1—30页。科学出版社。
- [2] Ellis, A. E. and de Sausa, M. A. B., 1974. *Eur. J. Immu.*, 4: 338—343.
- [3] Ellis, A. E. and Munroe, L. S., 1976. *J. Fish. Biol.*, 8: 67—78.
- [4] Gulden, M. and Nicholas, A., 1932. *Am. J. Anat.*, 51: 3—47.
- [5] Harder, W., 1975. *Anatomy of Fishes*. E. Schweizerbart sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- [6] Roberts, P. Tytler, 1978. Bailliere Tindall. pp. 13—32. London.
- [7] Roberts, R. J., 1974. Melanin-containing cell of teleost fish and their relation to disease. In *Anatomic pathology of teleost fish* (Ed: Ribelin, W. R. and Mikagi, G.), Madison, Wisconsin: University of Wisconsin Press.
- [8] White, R. G., French, V. S. and Stark, J. M., 1970. *J. Med. Microbiol.*, 3: 65—83.
- [9] Wintrobe, M. W., 1967. In *clinical Haematology*. 6th ed., 1147—1154. London.
- [10] Samson Wright's *Applied physiology*. Twelfth Edition, Oxford University Press, London.
- [11] Yoffey, J. M., 1929. *J. Anat.*, 63: 314—344.

MICROSCOPIC AND SUBMICROSCOPIC STUDIES OF THE SPLEEN OF CYPRINOID FISH

Qin Guoqiang, Wang Hao, Huang Jinsheng and Zhu Hongwen

(Department of Biology, Nanjing University)

Abstract

Our present studies of the Cyprinoid spleen are primarily confined to only two varieties of carp, namely, *Cyprinus carpio* L. and *Carassius auratus* L. The spleen of both fish is very much the same, being of a single thin layer of epithelium with a thin stratum of fibrous tissues underlying it. The capsule is devoid of muscles and does not have the dense trabeculae extended into its tissues as in the mammals. The chief characteristics of the spleen are the ellipsoids, pulp and melanomacrophage centres.

Ellipsoids: At each of the terminal end of the splenic arteries, it branches into 3 to 4 thick-walled filter capillaries, designated as "ellipsoids" similar to the branching of the brush-artery (a. penicilli) in mammals. The lumen of the ellipsoids is rather narrow. They have a flattened endothelial lining and external to which is a single layer of large macrophages. This macrophage sheath is bounded by a fairly thick fibrous membrane, its lumen finally opens into the pulp lacunae. In the lacunae of the spleen, newly formed blood cells enter into the blood stream. From the lacunae the blood passes into the venous capillaries and venules, and in turn drains into the veins adjacent to the arteries. Since the lumens of the ellipsoids are very narrow and blood cells must pass through them, the degenerating blood cells (especially the erythrocytes) would likely be damaged during their passage and eventually disintegrated. Their hemoglobin, especially the iron molecules, are utilized in the formation of new blood cells.

The spleen of the Crucian Carp was also examined for their phagocytic properties with colloidal carbon by intraperitoneal injection. Fish are killed at 2, 5, 24 and 48 intervals h. At 2 h. after injection only a small number of macrophages laden with carbon particles were seen within the ellipsoids. At 48 h. there were many macrophages densely packed with carbon particles in the ellipsoids. Electron micrographs showed that in addition to the fine carbon particles there are also numerous round residual bodies observed in the macrophages of the ellipsoids.

Splenic pulp: There is no sharp demarcation between white and red pulp; the splenic pulp consists of many blood lacunae without vascular walls. In the lacunae of the spleen there are a large number of red blood cells, lymphocytes and hemopoietic tissues. The newly formed blood cells enter into the blood stream, and passing through the venous capillaries and venules. Imprints of the spleen showed that mature erythrocyte, lymphocytes, thrombocytes and hemocytoblasts are the commonest cellular elements. The granulocytes are also seen though not prominent.

Melanomacrophage centres: The melanomacrophage centres are usually located near a vessel, and may often be invested with one or more layers of strands of externa, usually a fine

reticular limiting membrane. Autoradiographic studies by Ellis and de Sousa (1974) concluded that replete macrophage may migrate from the ellipsoids to the melanomacrophage centres and suggested that the aggregates of macrophages and melanomacrophages with lymphoid cells in the spleen of the teleost fish might represent primitive germinal centres. According to our observation, the central region of the germinal centres of the lymphoid tissue is filled with immature lymphocytes exhibiting many mitotic figures. When the Crucian Carp are injected with indian ink, the number of melanomacrophage centres increased and are more distinct. It is capsulated with 3 to 4 concentric rings of flattened fibroblast like cells with indistinct central cells, their nuclei collapsed, desolved and eventually completely disintegrated. In view of these facts, we incline to believe that the function of the fibrous and the flattened cell capsules of the melanomacrophage centres might also act as a factor to prevent the autolytic products to leak out.

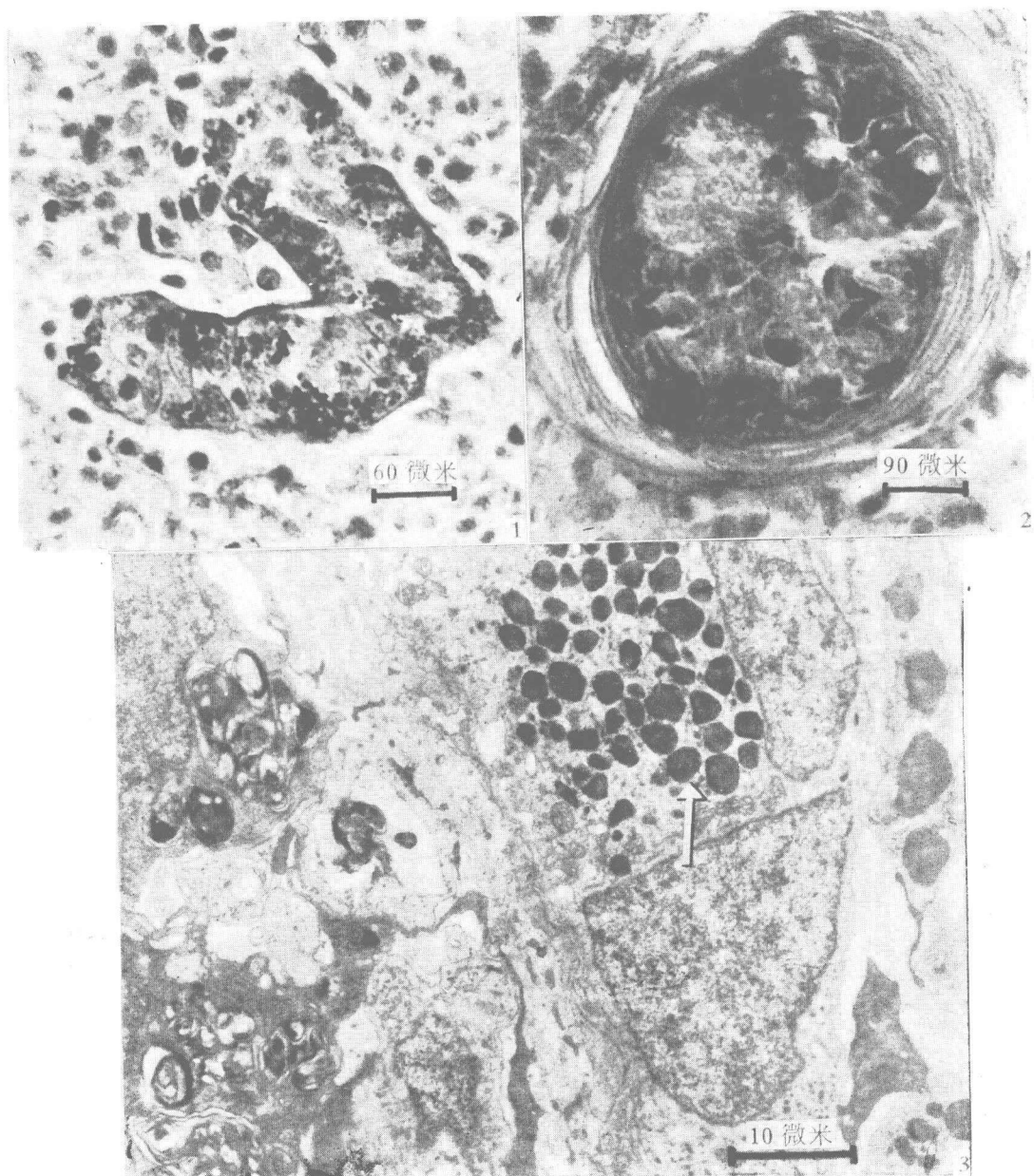


图 1 椭圆体开放到脾髓的显微照相。图 2 鲫鱼注射墨汁 48 小时后,脾脏中的黑色素巨噬细胞中心的显微照相 图 3 电镜照片,示椭圆体巨噬细胞中的碳粒

Fig. 1 Microphoto of the ellipsoid open to the splenic pulp.

Fig. 2 Microphoto of the melanin macrophage in the spleen of crucian carp with the injection of ink after 48 hours.

Fig. 3 Electron microscopic photo of the carbon granules in the ellipsoid macrophage.

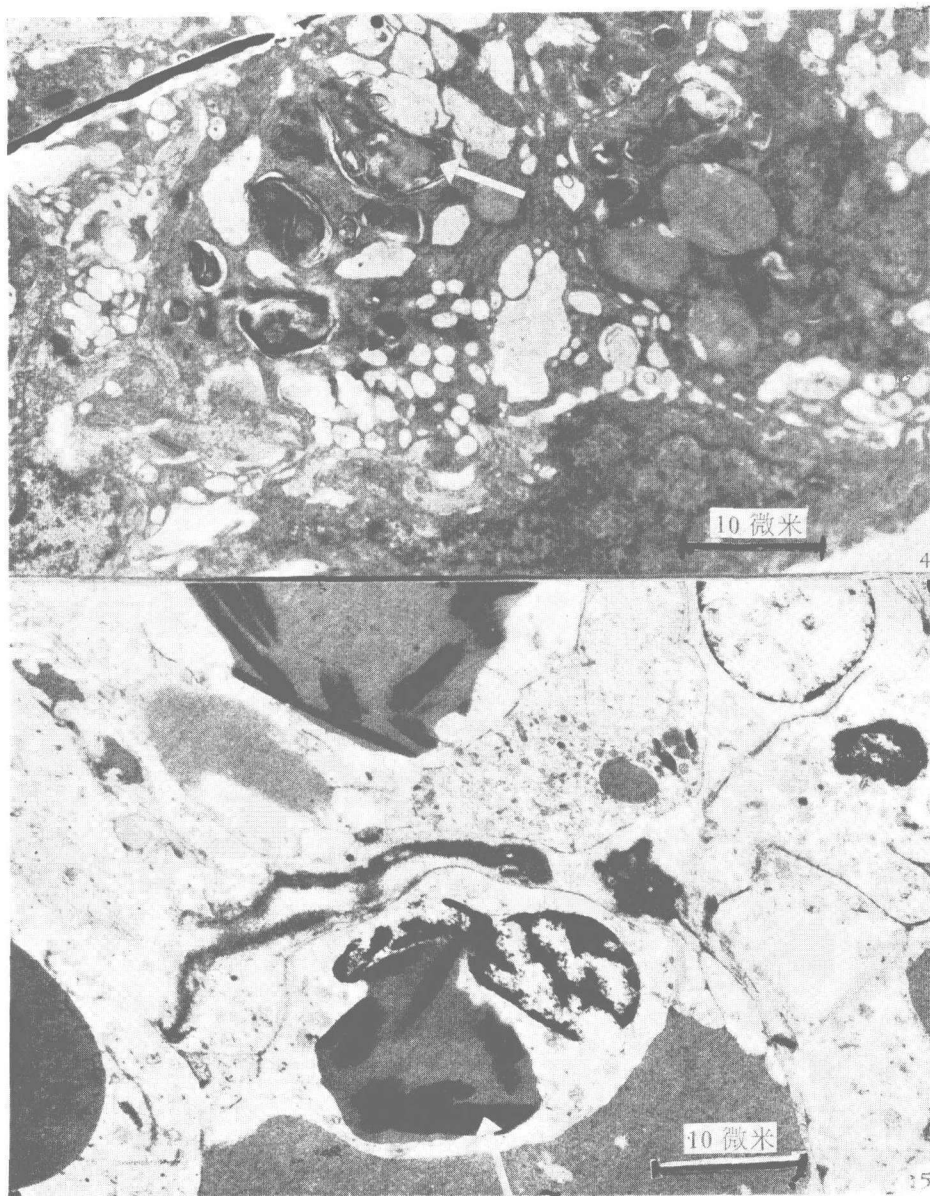


图 4 电镜照片,示鲫鱼注射墨汁 24 小时后,脾脏椭圆体巨噬细胞内的残体

图 5 电镜照片,示鲤鱼脾脏椭圆体中的巨噬细胞,注意细胞内铁血黄素的结晶

Fig. 4 Electron microscopic photo showing the residues in the splenic ellipsoid macrophage of crucian carp 24 hours after the injection of ink.

Fig. 5 Electron microscopic photo showing macrophages in the splenic ellipsoid of common carp. Note the crystallization of hemosiderin in cells.