

扬子鳄外周血细胞的超微结构

李霖¹ 李伟² 吴孝兵¹ 杜开和¹ 王义权¹

(1. 南京师范大学生命科学院 南京 210097; 2. 南京师范专科学校 教育学院 南京 210017)

摘要: 对扬子鳄血细胞亚显微结构进行透射电镜观察。结果表明:在外周血细胞中可区分出红细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞以及血栓细胞。电镜图像显示:与其它爬行动物相比,各类血细胞体积较小并具有不同程度的变形运动及吞噬能力。红细胞的特征是长梭形,其长短径之比值超过3.0。在外周血液中发现了多种未成熟型血细胞;进入外周血液中的红细胞普遍已分化到一定程度,但有的仍须在外周血液中完成其最后的发育;单核细胞在外周血液中经历了从幼单核细胞到成熟单核细胞的过程,并描述了从未成熟到成熟阶段细胞的超微结构的变化;嗜中性粒细胞在外周血液中经历了从早幼粒细胞、中幼粒细胞、晚幼粒细胞到成熟粒细胞的过程,描述了嗜中性粒细胞各个发育阶段细胞的超微结构及特征,并讨论了嗜天青粒细胞和嗜中性粒细胞的关系。

关键词: 扬子鳄; 血细胞; 超微结构

中图分类号: S966.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)01-0045-007

血细胞是动物体对自身生理状态变化和对外界环境因子刺激非常敏感的细胞。因而,血细胞的研究一直受到学者的关注。至于脊椎动物血细胞的超微结构的研究国内外也已有不少资料^[1-10]。扬子鳄(*Alligator sinensis Fauvel*)血细胞研究中,仅见显微结构的报道^[11];本文对扬子鳄血细胞的亚微结构进行研究,以进一步探讨扬子鳄血细胞的功能特点。

1 材料和方法

实验用扬子鳄取自安徽省扬子鳄繁殖研究中心,用于实验研究的扬子鳄3尾,2♂、1♀,健康无病。尾静脉或心脏取血2mL,2000r/min离心10min,加2.5%戊二醛5mL预固定2h以上,弃去固定液,取其表面层血块,修成1mm³的小块,用1%锇酸固定2h。然后用磷酸缓冲液冲洗,丙酮逐级脱水,醋酸铀块染过夜,Epon 812包埋。超薄切片,醋酸双氧铀—柠檬酸铅双重染色,日立H-600型透射电镜观察并拍照。

收稿日期: 2000-03-21; 修订日期: 2001-08-30

基金项目: 安徽省自然科学基金资助(99042419)和江苏省“333人才工程”基金资助

作者简介: 李霖(1964-),女,江苏省扬州人;学士学位,讲师;研究方向:动物细胞生物学,现在扬州教育学院工作

2 结果

2.1 红细胞(图版 1:1-2)

扬子鳄红细胞呈长梭型, 细胞表面一般光滑无胞突, 但幼鳄红细胞表面有伪足样突起。胞体直径 $9.1—11.6\mu\text{m} \times 2.5—3.0\mu\text{m}$, 其长短径比值平均为 3.9, 最小和最大值分别为 3.0 和 4.5。胞核都位于中央部位, 但形态各异, 呈椭圆形、卵圆形、长骨形、蘑菇形等, 直径 $2.6—4.1\mu\text{m} \times 1.7—2.5\mu\text{m}$ 。有的红细胞核膜间隙清晰, 核孔明显, 异染色质沿核膜周边分布; 有的核周隙、核孔不甚清晰, 甚至不见, 异染色质浓厚, 沿周边向中央扩展, 使常染色质呈岛样分布。

2.2 嗜中性粒细胞

扬子鳄血液中嗜中性粒细胞呈现发育阶段类型, 根据其结构特点可分为以下四种:

嗜中性粒细胞 型(中性早幼粒细胞, 图版 :3): 此类细胞相当于嗜天青粒细胞, 细胞呈不规则长卵形, 直径为 $6.0—6.5\mu\text{m} \times 9.0—9.5\mu\text{m}$, 表面有明显的伪足, 伪足内及胞质周边具吞噬泡。胞核稍偏位, 肾形, 核孔多而明显, 核周边开始出现少量异染色质。胞质内具丰富的线粒体、粗面内质网、游离核糖体等结构。胞质内还有许多细小的嗜天青颗粒, 直径 $0.1—0.5\mu\text{m}$ 不等, 电子染色中等。

嗜中性粒细胞 型(图版 :4): 即中性中幼粒细胞呈圆型, 表面具细小伪足突起, 直径 $8.5—9.0\mu\text{m}$ 。胞核偏位, 呈梭型, 直径 $2.5—6.5\mu\text{m}$, 核周隙清晰, 核孔清晰, 核仁明显, 异染色质较少型细胞增多, 但仍然分布于核周边, 常染色质仍占优势。胞质内线粒体较少型细胞少, 而高尔基复合体发达。高尔基复合体位于核附近, 周围有许多小囊泡。电镜下尚可观察到高尔基体包围着一个纵切的中心体及其附着的卫星体(图版 :5)。胞质内具两种类型颗粒: 杆状粗大颗粒为嗜天青颗粒, 直径 $1.3—2.4\mu\text{m}$, 电子染色较浅, 数量较多; 另一类颗粒较小, 直径 $0.3—0.5\mu\text{m}$, 电子染色较深, 数量较少, 夹杂于嗜天青颗粒中间。

嗜中性粒细胞 型: (中性晚幼粒细胞, 图版 :6), 细胞呈不规则长卵形, 表面有粗大伪足。直径为 $6.0—6.5\mu\text{m} \times 9.0—10.0\mu\text{m}$ 。核呈杆状, 有缩小趋势, 异染色质进一步增多。胞质内具大量颗粒和少量线粒体、小泡、糖原颗粒等结构。嗜天青颗粒体积较小, 数量增多, 颗粒直径 $0.3—1.7\mu\text{m}$ 、 $0.2—1.0\mu\text{m}$; 特殊颗粒电子着色加深。

嗜中性粒细胞 型: (成熟中性粒细胞, 图版 :7)形态结构与 型细胞基本相似, 但核体积明显缩小, 截面观似三角形, 边长 $2.5\mu\text{m}$ 左右。核内异染色质占优势, 且浓重。嗜天青颗粒分裂、破解, 体积缩小, 且可观察到杆状大颗粒一分为二或部分割裂产生数个小颗粒的现象。因此胞质内颗粒形态各异, 呈杆状、椭圆状、谷粒状、哑铃状, 直径 $0.2—1.7\mu\text{m} \times 0.1—0.9\mu\text{m}$ 不等。

2.3 嗜碱性粒细胞(图版 :8)

细胞呈圆形, 表面偶有细小胞突, 胞体较小, 其直径为 $4.4—5.1\mu\text{m}$, 胞核肾形, 偏位, 核体较大, 几占胞体的 $1/2$, 异染色质密集于核周边, 核仁明显; 核间隙清晰。胞质内颗粒少而大, 近圆形, 直径 $0.12—0.47\mu\text{m}$, 颗粒内具纤维状结构, 胞质内有较丰富的核糖体、线粒体和少量的单个内质网、糖原颗粒。

2.4 嗜酸性粒细胞(图版:9)

细胞呈卵形, 表面有许多细小微绒毛状突起, 直径 $8.60\mu\text{m}$ 。核稍小, 卵形, 位于细胞中央, 异染色质分布于核周边。胞质内布满圆形颗粒, 电子着色较深, 直径为 0.70 — $2.15\mu\text{m}$ 不等, 无类晶体样结构, 胞质内有少量线粒体、粗面内质网、小泡等。

2.5 淋巴细胞(图版:10)

细胞呈不规则形, 可观察到有明显的变形运动现象。直径 3.7 — $4.0\mu\text{m}$ 。胞核大, 异染色质沿核周分布, 核内有 3 — 4 个高电子密度区, 核周隙、核孔基本可见。胞质稀少, 仅为一薄层包绕胞核, 含少量线粒体、高尔基体、小泡和糖原颗粒。

2.6 单核细胞

幼单核细胞(图版:11): 即未成熟单核细胞, 细胞呈不规则卵圆形, 有少量伪足状突起, 直径 5.1 — $6.0\mu\text{m}$ 。核大, 呈圆形, 异染色质很少。胞质内有丰富的线粒体、粗面内质网, 并开始出现细小嗜天青颗粒。随着细胞成熟, 胞核开始出现变形。由圆形过渡成肾形, 异染色质逐渐增多, 线粒体、内质网等结构逐渐减少, 而嗜天青颗粒逐渐增大, 电子染色逐渐加深(图版:12)。

成熟单核细胞(图版:13): 胞核呈马鞍形, 核仁消失, 异染色质沿核周分布, 胞质较少, 具有少量圆形或杆状线粒体, 有少量粗大嗜天青颗粒。

2.7 血栓细胞(图版:14)

电镜下, 观察到血栓细胞表面结构有许多变形虫样伪足和微绒毛结构分布, 胞内无核, 血栓细胞内有许多颗粒结构, 颗粒从形态上可分成两类: 一类呈圆形, 体积稍小, 数量较多, 电子密度较高, 均质; 另一类呈锥形, 体积较大, 数量少, 其颗粒中央有一大而致密的芯。

3 讨论

血细胞大小是进化的标志, 进化越高等的动物红细胞越小, 数目越多。扬子鳄红细胞大小为 2.5 — $11.6\mu\text{m}$, 而其它爬行动物红细胞一般为 15.0 — $21.5\mu\text{m}$ ^[12, 13], 比一般两栖^[14]、爬行动物血细胞小; 扬子鳄的白血细胞, 无论是颗粒细胞还是无颗粒细胞, 也都有比其它爬行动物的同类细胞小得多。扬子鳄血细胞较小, 这与鳄类在爬行动物中处于较高等地位相吻合的。此外, 扬子鳄红细胞长短径之比值一般超过 3.0 , 最大可达 4.5 , 而爬行类红细胞长短径比值一般在 1.6 左右, 最大也仅在 2.0 左右, 呈明显的梭形, 这可能是扬子鳄红细胞的特点。

扬子鳄白细胞的分类中, 曾报道在血细胞的显微观察研究中, 未发现有嗜中性白细胞^[11]。但在本文的亚显微结构研究中, 明显地观察到有该类细胞的存在, 这可能与血细胞显微分类不够准确所致。扬子鳄外周血液中的白细胞, 无论是颗粒细胞还是无颗粒细胞, 皆有胞突, 其边周胞质内常有内吞泡存在, 说明它们皆有运动和吞噬能力。尤其是成熟嗜中性粒细胞和单核细胞, 具有明显的变形运动, 说明扬子鳄具较强的免疫抗病力, 这与作者的长期饲养观察结果是一致的。

本实验观察到扬子鳄外周血液中的血细胞具不同发育时期。嗜中性粒细胞在外周血液中经历了从发生到成熟的几个阶段。嗜天青粒细胞是爬行类特有的一种血细胞,

Cooper 等认为嗜天青粒细胞和嗜中性粒细胞可能代表同一种细胞发育分化不同阶段。本实验结果支持了这一观点。嗜天青粒细胞代表着嗜中性粒细胞发育的早期阶段, 相当于早幼粒细胞。早幼粒细胞是由原粒细胞增殖发育而成, 此分化过程是粒细胞发育成熟的重要阶段。早幼粒细胞的主要特征即是嗜天青颗粒的出现和发育。扬子鳄和其它爬行动物一样, 其中性早幼粒细胞会进入外周血液中, 从而形成独特的嗜天青粒细胞。实际上嗜天青粒细胞应该是爬行动物中性粒细胞在外周血液中发育的标志。嗜天青粒细胞作为外周血液中的中性早幼粒细胞进一步发育, 颗粒逐渐增大, 同时特殊颗粒开始出现。特殊颗粒的出现, 标志着早幼粒细胞发育至中幼粒细胞。中幼粒细胞不断发育, 特殊颗粒形成逐渐停止, 嗜天青颗粒逐渐缩小, 由长棒状结构分裂, 瓦解为椭圆形、谷粒状、哑铃状, 散布于胞质中。最终经晚幼粒细胞发育为成熟中性粒细胞。

单核细胞在外周血液也经历了由幼单核细胞到成熟单核细胞的发育。随着幼单核细胞的发育, 圆形核逐渐出现印痕, 异染色质在核周边聚集, 丰富的胞质内逐渐出现嗜天青颗粒, 且颗粒由小变大, 并增染, 进一步发育为成熟的单核细胞。

扬子鳄与鱼类等的血栓细胞与哺乳动物的血小板的功能相似, 具有凝血作用^[9, 10], 从血栓细胞的结构来看, 尽管有的学者在显微研究观察中发现扬子鳄血栓细胞有核的存在^[11], 但在本文的超微结构研究中, 未发现血栓细胞的胞核, 而且, 有颗粒状结构, 所以, 扬子鳄的血栓细胞则更像哺乳动物如黑熊^[10]的血小板结构, 而与鱼类和两栖爬行动物不同。因此, 从血栓细胞的功能结构的特点来看, 扬子鳄的凝血细胞机制可能与哺乳动物更为接近。

红细胞在外周血液中亦有发育的迹象。虽然, 由于电镜标本经戊二醛固定后, 血红蛋白被完整地保存下来, 从而淹没了细胞器的结构, 但核内结构依然可反映其发育状况。红细胞中异染色质普遍染色较深, 说明进入外周血液的红细胞已基本是成熟细胞或已分化到一定程度, 但许多仍在外周血液中完成最后的发育成熟过程。因此, 扬子鳄血细胞的发育情况与哺乳动物不一样, 未成熟细胞能进入外周血液并继续发育分化为成熟细胞。外周血液是其造血器官的终末站。至于红细胞发育过程中, 其形态的变化, 由圆形变成卵圆形的说法^[11], 本文未予以支持, 因为在本文所观察到的大量红细胞超微结构中, 都是长梭形的, 尚未发现有圆形的红细胞。

参考文献:

- [1] 朱洪文. 鲫鱼外周血细胞显微和亚显微结构观察 [J]. 动物学研究, 1985, 6: 47—53
- [2] 李丕鹏, 朱洪文. 龟鳖嗜碱性粒细胞的显微和超微结构 [J]. 动物学报, 1990, 36: 210—211
- [3] 李丕鹏, 朱洪文. 水龟有粒白细胞的荧光和电镜细胞化学研究 [J]. 南京大学学报, 1991, 27: 520—523
- [4] 李丕鹏. 黄喉拟水龟血液白细胞的电镜观察 [C]. 中国黄山国际两栖爬行动物学学术会议论文集, 蛇蛇研究丛书, 1993, 4: 91—94
- [5] 颜桂利, 黄 健. 四种脊椎动物血细胞亚显微结构的比较观察 [J]. 解剖学报, 1996, 27(1): 100—103
- [6] 李丕鹏, 朱洪文. 中国龟鳖类血细胞及其发生研究 [J]. 四川动物 15 (增刊): 105—114
- [7] Taylar kw. Electron microscopic study of turtle blood cell [J]. A nat Rec, 1963, 47: 219—238
- [8] Desser S S, Weller . Ultrastructural observation on the granular leukocytes of the tuatara *Sphecodon punctatus* [J]. Tissue and Cell Research 1979, 11: 703—715
- [9] 袁仕取, 张永安, 姚卫建, 等. 鳖鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察 [J]. 水生生物学报, 1998, 22(1):

39—45

- [10] 王铁恒, 文兴豪, 岳占碰, 等. 黑熊血液有形成分显微及亚显微结构的研究[J]. 兽医大学学报, 1993, 13(3): 233—237
- [11] 汪仁平. 扬子鳄血细胞形态观察[C]. 动物科学研究——祝贺张孟闻教授九秩华诞纪念文集, 1991, 122—126
- [12] 吴孝兵. 16种爬行动物血细胞形态学参数研究[J]. 动物学杂志, 1998, 33(1): 29—31
- [13] 曲韵芳, 黄美华. 蛇类血液的研究[J]. 两栖爬行动物学报, 1985, 4(4): 353—354
- [14] 候水薇, 王秀玲, 王态勇, 等. 新疆北鲵血液组织学观察[J]. 两栖爬行动物学研究, 1995, (4—5): 58—61

ULTRASTRUCTURE OF PERIPHERAL BLOOD CELL OF *ALLIGATOR SINENSIS*

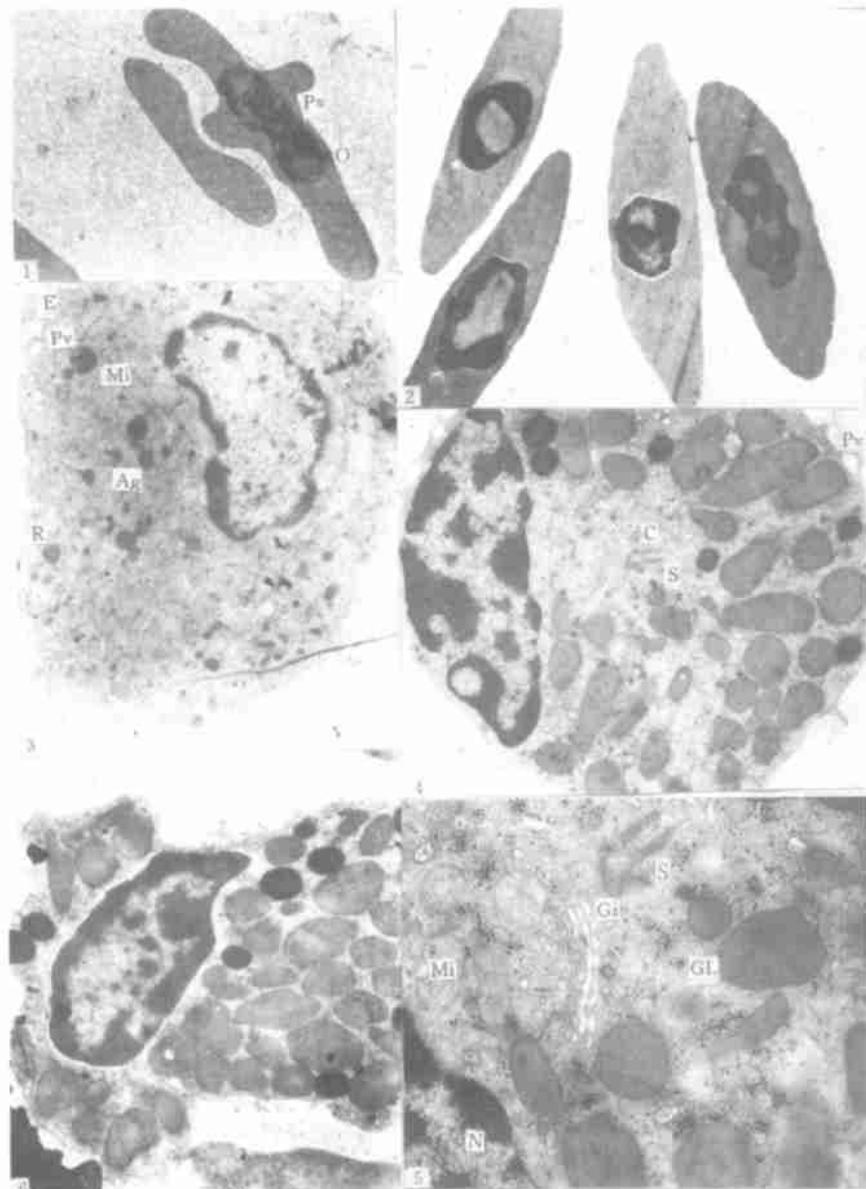
LI Lin¹, LI Wei², WU Xiao-bing¹, DU Kai-he¹ and WANG Yi-quan¹

(1. College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097;

2. Nanjing Normal College, Education College, Nanjing 210017)

Abstract: The ultrastructure of peripheral blood cells of *Alligator sinensis* was studied by using transmission electron microscopy. The results showed that the peripheral blood consists of the following cell types: erythrocytes, neutrophil, eosinophil, basophil, monocytes, lymphocyte and thrombocyte. Electron micrographs revealed that the volume of all kinds of blood cells are smaller than those of other reptiles species and all kinds of cells are capable of amoeboid movement and phagocytosis in different extent. The feature of erythrocytes is in the shape of long shuttle and the ratio of its longer diameter to shorter diameter is over 3.0. There are several immature blood cells in the peripheral blood. It has been discovered that the erythrocytes in the peripheral blood had generally developed in certain extent, but some hadn't finished that last development. The process of the development from immature cell to mature cell of monocytes has been discovered in the peripheral blood, and the changes of the cell's ultrastructure from infantile type to mature type are described. The various neutrophils are in early infantile type, middle immature type, later immature type and mature type. The ultrastructure and character of neutrophil during every growth period have been described. The relation between azurophilic granule cell and neutrophil has been discussed also.

Key words: *Alligator sinensis*; Blood cells; Ultrastructure

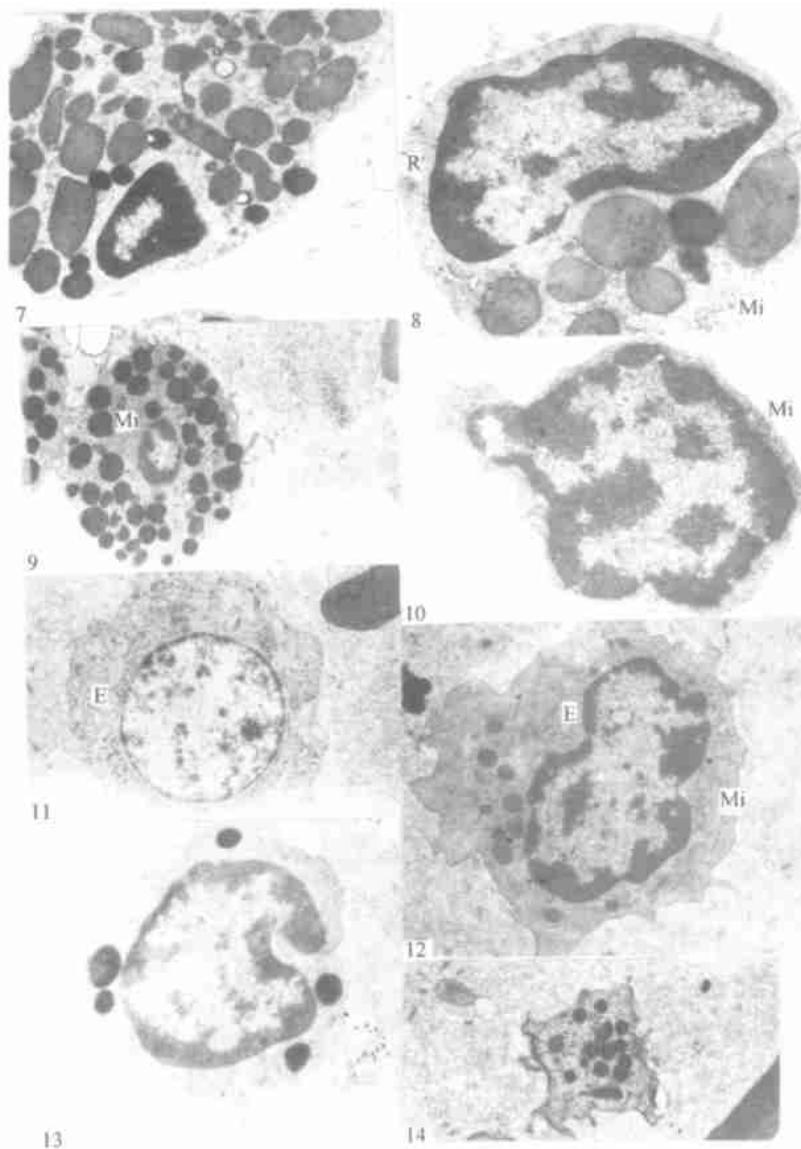


图版

1. 示幼鳄红细胞的伪足(Ps)样突起, $\times 10000$; 2. 示红细胞分化状况, $\times 6000$; 3. 示嗜中性粒细胞 型, $\times 10000$; 4. 示嗜中性粒细胞 型, $\times 10000$; 5. 示嗜中性粒细胞 型, $\times 25000$; 6. 示嗜中性粒细胞 型, $\times 10000$

Ps: 伪足, E: 内质网, Pv: 吞噬泡, Mi: 线粒体, Ag: 噬天青颗粒, R: 核糖体, C: 中心体, S: 卫星体, Gi: 高尔基体, GL: 糖原颗粒

1. The pseudopod (Ps) projection of erythrocytes in hatching alligator $\times 10000$; 2. The differentiation period of erythrocytes $\times 6000$; 3. The type neutrophil (E: endoplasmic reticulum, Pv: phagocytic vacuole, Mi: mitochondria, Ag: aurophilic grannule, R: ribosome) $\times 10000$; 4. The type neutrophil. (Pv: phagocytic vacuole, C: central body, S: satellite body, Ps: pseudopod) $\times 10000$; 5. The type neutrophil cell (S: satellite body, Gi: Golgi body, R: ribosome, GL: hepatin granules, Mi: mitochondria) $\times 25000$; 6. The type neutrophil $\times 10000$



图版

7. 示嗜中性粒细胞 型, $\times 10000$; 8. 示嗜碱性粒细胞, $\times 17000$; 9. 示嗜酸性粒细胞, $\times 10000$; 10. 示淋巴细胞, $\times 15000$; 11. 示幼单核细胞, $\times 10000$; 12. 示幼单核细胞, $\times 10000$; 13. 示成熟单核细胞, $\times 10000$; 14. 示血栓细胞, $\times 10000$
7. The type neutrophil $\times 10000$; 8. The basophil, Mi: mitochondria, R: ribosome $\times 17000$; 9. The eosinophil, Mi: mitochondria $\times 10000$; 10. The lymphocyte, Mi: mitochondria. $\times 15000$; 11. The immature monocytes, E: endoplasmic reticulum, $\times 10000$; 12. The immature monocytes, E: endoplasmic reticulum, Mi: mitochondria. $\times 10000$; 13. The mature monocytes. $\times 10000$; 14. The thrombocyte $\times 10000$