

乌龟白血细胞发育过程的观察

李长玲 曹伏君 刘楚吾 刘丽

(湛江海洋大学水产学院 湛江 524025)

摘要: 通过对乌龟骨髓、脾脏、肝脏等几种组织涂片的观察研究,发现骨髓与脾脏是乌龟的主要造血器官;白血细胞的发育过程大致经过三个阶段,即原始阶段、幼稚阶段、成熟阶段。着重描述了各个阶段细胞的形态特征,并对乌龟白血细胞的发育及命名等问题作了初步探讨。

关键词: 乌龟; 白血细胞发育; 白血细胞; 造血器官

中图分类号:S966.5 文献标识码:A 文章编号:1000-3207(2001)05-0491-07

国内外学者对爬行类血细胞形态结构的研究已有所报道。Szarski 等^[1]对两栖爬行动物血细胞大小进行过研究,吴孝兵等^[2]也研究了四种龟类血细胞显微形态学参数,王石泉^[3]对中华鳖外周血细胞的显微形态结构也进行了研究,李长玲等^[4]进行了乌龟红血细胞发育的研究。但尚未见有关白血细胞发育的研究报道。众所周知,哺乳动物血细胞的发生器官是骨髓、胸腺、脾脏、淋巴结,在某些特殊情况下肝脏也有一定的造血功能。为此,作者对乌龟的白血细胞在骨髓、脾脏、肝脏等造血器官中发育的过程进行了观察与研究,旨在为脊椎动物的系统演化及爬行类血液学的研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料来源 实验用乌龟(*Chinemys reevesii* Gray)系人工孵化、室内人工养殖,无明显病变现象,体重50—250g,共10只,解剖后,迅速取出肝脏、脾脏、骨髓。

1.2 制片方法 肝脏、脾脏作一切面,直接涂片;骨髓取股骨,挤出骨髓,进行涂片。空气中干燥后甲醇固定,即进行Wright染色液染色,Olympus显微镜油镜下观察并照相。每种细胞随机取样50个,测定其大小,取其平均值和标准差(S. D.)。

1.3 结果判定标准 各系统、各发育阶段细胞形态标准的划分,参照文献[5]标准^[5,6],即一般将白血细胞按照成熟过程分为三个阶段:原始阶段、幼稚阶段和成熟阶段。粒细胞幼稚阶段在成熟过程中形态变化较大,根据其特殊颗粒出现的特点,可将其幼稚阶段分为早幼(无特殊颗粒)、中幼和晚幼(有特殊颗粒)三个阶段,因此其发育分为五个阶段:原始阶段、早幼阶段、中幼阶段、晚幼阶段、成熟阶段。

2 结果

2.1 粒细胞系各发育阶段的形态特点

原粒细胞(图版 I : 1) 细胞大小为 $(13.51 \pm 1.86) \times (12.18 \pm 1.85) \mu\text{m}$ 。胞核圆形或椭圆形, 居中或偏位, 占细胞大部分, 淡紫色的染色质呈细网状, 分布均匀, 可见核仁, 核仁周围明显, 有向外突感。胞浆量较少, 天蓝色, 均匀一致或近膜边缘稍深, 常有钝伪足出现, 无任何颗粒。

早幼粒细胞(图版 I : 2) 细胞大小为 $(14.55 \pm 2.74) \times (12.55 \pm 1.99) \mu\text{m}$ 。胞核圆形或椭圆形, 偏于一侧。细胞和胞核逐渐变大。染色质细粒状或粗粒网状, 核仁没有原粒细胞清晰。胞浆稍多, 淡蓝色, 含有嗜天青颗粒, 开始少, 逐渐增多, 至后期散布于整个胞浆内, 这种颗粒大小不均匀, 呈鲜艳的暗紫红色。

嗜中性中幼粒细胞(图版 I : 3) 细胞大小为 $(12.60 \pm 2.18) \times (10.87 \pm 2.12) \mu\text{m}$ 。胞核偏于一侧, 多为椭圆形、肾形。紫红色的染色质粗粒网状或有小的凝聚。核仁不清或消失。胞浆稍多或核浆各半, 呈淡蓝色, 有黄色嗜中性颗粒或不明显, 嗜天青颗粒逐渐减少。

嗜中性晚幼粒细胞(图版 I : 4) 细胞大小为 $(13.5 \pm 1.29) \times (12.5 \pm 0) \mu\text{m}$ 。胞核呈肾形或近圆形, 呈淡蓝色, 常偏于细胞一侧, 胞质染成粉红或淡红色, 嗜中性颗粒细小, 充满整个胞质。

嗜中性粒细胞(图版 I : 5) 细胞大小为 $(19.08 \pm 2.54) \times (14.03 \pm 1.23) \mu\text{m}$ 。边缘较平整。核不规则形, 约占整个细胞的 $1/2$, 位于细胞中央。染色质着色与单核细胞的相仿。胞质几乎不着色, 其中有淡蓝色颗粒状物质不均匀分布在胞质内, 有时不清。

嗜酸性中幼粒细胞(图版 I : 6) 细胞大小为 $(13.80 \pm 2.07) \times (12.31 \pm 2.03) \mu\text{m}$ 。胞核椭圆形, 常偏于细胞一侧; 染色质粗粒网状, 核仁不清晰或消失。胞浆淡蓝色或灰蓝色, 内有圆形、大小一致、有折光性、状如剥开的石榴子状的颗粒, 早期的颗粒有淡黄色、暗红色、蓝黑色和橘黄色, 当细胞非常幼稚时, 所含颗粒少, 随着细胞逐渐成熟, 所含嗜酸性颗粒越多, 直至充满胞浆, 颜色趋于一致的橘黄色。

嗜酸性晚幼粒细胞(图版 I : 7) 细胞大小为 $(13.75 \pm 1.32) \times (12.5 \pm 1.18) \mu\text{m}$ 。胞核圆形, 偏于细胞一侧; 胞浆内充满嗜酸性颗粒, 染成橘红色, 大小一致, 呈米粒状。

嗜酸性粒细胞(图版 I : 8) 细胞大小为 $(14.15 \pm 2.00) \times (13.00 \pm 1.68) \mu\text{m}$ 。核较小、圆形, 偏心位, 染色质颗粒粗大, 染成紫红色。胞质中充满红色的嗜酸性粗大颗粒, 散在一侧, 颗粒呈圆形或不规则形。

嗜碱性中幼粒细胞(图版 I : 9) 细胞大小为 $(13.98 \pm 2.45) \times (12.82 \pm 2.12) \mu\text{m}$ 。胞核圆形或椭圆形, 染色质呈束状, 粗糙且较为纤细; 核仁模糊不清或消失。胞浆淡蓝色, 含有大小不等的、分布散乱的、呈暗紫色的嗜碱性颗粒, 常覆盖于核上。

嗜碱性晚幼粒细胞(图版 I : 10) 细胞大小为 $(13.25 \pm 1.21) \times (12.25 \pm 1.42) \mu\text{m}$ 。胞核半圆形或椭圆形, 中位或偏位, 胞浆淡蓝色, 稀疏地散布有大小不等的、染成深蓝色的嗜碱性颗粒, 并常覆盖于胞核上面。

嗜碱性粒细胞(图版 II : 11) 细胞大小为 $(12.30 \pm 1.22) \times (11.35 \pm 1.36) \mu\text{m}$ 。核染

成紫红色, 胞质中含有圆形着深色的嗜碱性颗粒, 大小不等, 分布不均, 常覆盖在核上, 胞质表面伸出伪足。

2.2 淋巴细胞各发育阶段的形态特点

原淋巴细胞(图版 II: 12) 细胞大小为 $(11.60 \pm 2.51) \times (10.75 \pm 2.17) \mu\text{m}$ 。胞核圆形或椭圆形, 居中或偏位, 核周界明显; 深紫色的染色质在各系细胞中最粗糙, 正副染色质间不透明, 列成粗网状。核仁 1—3 个, 蓝色周界明显, 似凹陷小洞, 无突感, 胞浆极少, 深蓝色或鲜蓝色, 胞核周围有浅色环带区存在, 无颗粒; 核偏于细胞的一边, 其细胞质中有一个似空泡、圆形的浅色区。

幼淋巴细胞(图版 II: 13) 大小与原淋巴细胞相似, 胞核圆形或椭圆形, 或偶尔有小凹陷, 仍占细胞的大部分。染色质粗糙、较致密; 核仁不明显或消失。胞浆鲜蓝色或淡蓝色(比原淋巴细胞色浅), 无颗粒或有嗜天青颗粒。

淋巴细胞(图版 II: 14) 大淋巴细胞的大小为 $(13.24 \pm 2.37) \times (11.91 \pm 2.16) \mu\text{m}$ 。细胞圆形或不规则圆形, 核所占的比例大, 位于细胞中央或与质膜相切, 着色较浅。核外的细胞质浅染, 在核外围成窄环或仅在胞核凹陷处可见, 胞质总是向外伸出伪足样的突起。大淋巴细胞平均直径 $12.80 \mu\text{m}$ 左右, 染色质较细而松散, 染色淡。在脾脏的涂片上可见淋巴核细胞系有丝分裂的现象。(图版 II: 15)

2.3 单核细胞系各发育阶段的形态特点

原单核细胞(图版 II: 16) 细胞大小为 $(17.38 \pm 1.90) \times (14.38 \pm 2.42) \mu\text{m}$ 。圆形或不规则形; 胞核形态多样, 常呈不规则形; 紫红色的染色质呈纤细的网状, 分布不均匀; 有核仁, 一般 1—3 个, 较清晰; 胞浆较丰富, 浅蓝色或灰蓝色, 常有钝伪足突出。

幼单核细胞(图版 II: 17) 细胞体常较原单核细胞大, 大小为 $(17.96 \pm 3.50) \times (14.32 \pm 3.18) \mu\text{m}$ 。圆形或椭圆形, 有时非常不规则; 胞核形状不一, 染色质仍较纤细, 已开始聚集, 直至呈细网状。核仁可见或不清晰。胞浆增多, 灰蓝色, 常有伪足出现, 并散有许多细小而呈砂粒状的嗜天青颗粒。

单核细胞(图版 II: 18) 细胞圆形或卵圆形, 大小为 $(14.90 \pm 1.42) \times (13.30 \pm 1.47) \mu\text{m}$ 。核圆形, 较大, 占整个细胞的 $1/3$ — $1/2$, 位于细胞中央。染色质疏网状, 红紫色, 比淋巴细胞的染色质染色浅。胞质丰富, 染成灰蓝色。单核细胞与较大的淋巴细胞较相似, 但前者体积较大, 核质比例较小, 胞质更丰富。在脾脏的涂片上可见单核细胞系有丝分裂的现象。(图版 II: 19)

3 讨论

3.1 关于乌龟白血细胞发育过程中各阶段细胞的命名问题

在血细胞研究中, 一般形态学检查对于及时地了解正常与疾病状态时血细胞的变化, 对诊断疾病均具有重要的意义。但是由于血细胞形态上的特殊变化, 不同造血器官血细胞成熟进度不一致, 学者们对血细胞的认识有所不同, 加之乌龟白血细胞的发生研究至今没见报道, 因此对乌龟血细胞命名没有一个统一标准, 本文中血细胞发育过程的命名主要根据王风计等标准而命名, 即采用三个阶段命名。乌龟白细胞发育有某些特性, 但原则上白细胞发育仍划分为三个阶段, 其形态特点与哺乳动物既有相似之处, 也有不同之点, 乌

龟隶属爬行类, 是羊膜动物, 有些方面更应该与哺乳类相似。当然在比较不同动物的血细胞时, 只有当两种不同细胞的形态、功能与起源都一致时, 才能给它们以同样的名称。因此乌龟白血细胞发育各阶段的命名还无法最后确定。

3.2 乌龟白血细胞的发育特点

观察结果表明: 乌龟的白血细胞发育过程基本与哺乳类相似, 即在造血器官内, 在一定的微环境和某些因素的作用下经历一个连续变化的过程, 定向地发育成各种白血细胞。现代研究证实, 哺乳类胚胎时期各器官的造血功能都是由于卵黄囊的造血干细胞通过血流依次种植到肝脏、脾脏、骨髓、淋巴结, 引起造血。到骨髓后这种造血功能终生维持^[6]。在观察乌龟白血细胞发育过程中发现: 在骨髓涂片上能见到各个发育时期的粒细胞, 说明骨髓是粒细胞的主要发育场所; 在脾脏的涂片上能见到各个发育时期的淋巴细胞和单核细胞, 同样可以说脾脏是淋巴细胞和单核细胞的主要发育场所。另外, 在脾脏涂片上也可以找到晚幼粒细胞、成熟粒细胞。而在肝脏涂片上, 找不到各种原始细胞, 很少看到各处幼稚细胞。故可说明乌龟的造血组织主要在骨髓和脾脏, 而在肝脏很少。

在观察中还发现: 年龄越小的, 其骨髓涂片中的各种类型的原始细胞和幼稚细胞就越多; 年龄越大的, 其骨髓涂片中的各种类型的原始细胞和幼稚细胞就相对越少。这种情况与人的相似^[6]。

3.3 乌龟白血细胞发育的一般规律

粒细胞的发育 从原始粒细胞经幼粒细胞的发育到成熟的过程中, 胞核由大变小, 胞质由少变多, 核质比由大变小; 核仁由有变无。在幼粒细胞的胞质中, 首先出现嗜天青颗粒, 然后逐渐减少; 胞质中进一步再各自分化出嗜中性、嗜碱性、嗜酸性的特殊颗粒, 且逐步增多直至充满细胞质。各种粒细胞在骨髓涂片上, 有集群现象, 可能与骨髓的分化功能有关, 不同的部位, 分化不同的细胞。

淋巴细胞的发育 从原始淋巴细胞经幼稚淋巴细胞的发育而逐渐成熟, 胞体变化不大, 核质比稍变大, 核仁由有到无。有些原始淋巴细胞和幼淋巴细胞的胞质中, 出现一个类似圆形的空泡状结构。淋巴细胞主要是在脾脏发育, 与哺乳类相似。在脾脏涂片上, 发现原淋巴细胞和幼淋巴细胞各有大、小两种形态, 可能这些大小不等的细胞分别发育成外周血液中的大、小淋巴细胞。

单核细胞的发育 其发育过程类似其它的细胞, 胞体由大变小, 胞浆量逐渐增多, 胞浆染色由蓝灰色到灰蓝色; 胞核由大变小, 由椭圆形到肾形, 染色质由纤细疏松网状到疏松粗网状, 核仁从有到无。单核细胞主要在脾脏发育, 与鱼类的相似^[7,8], 与哺乳类不同。哺乳类的单核细胞主要在骨髓中发育。

单核细胞系和淋巴细胞系在整个发育过程中只出现一种颗粒——嗜天青颗粒, 组织化学显示: 对于哺乳动物来说, 这两类细胞嗜天青颗粒内化学成分存在着差异, 前者除了酸性磷酸酶外还含有过氧化物酶和非特异性脂酶, 后者则不含这两种酶。乌龟的这两系细胞有无上述差异尚需要进一步研究才能作出结论。

在脾脏的涂片上, 各种单核细胞的分布基本是均匀的, 即没有明显的集群现象。而各种淋巴细胞的分布有集群现象, 在涂片的有些部位很多, 而在有些部位几乎没有发现; 这种现象可能与脾脏的结构和功能有关, 即可能在脾脏的不同部位分化不同的细胞所致。

这可能与人骨髓中的造血岛相似。

参考文献:

- [1] Szarski H, Czopek G. Erythrocyte diameter in some amphibia and reptiles [J] *Bull Acad. Polonaise Ser Sci Biol*, 1966, **14**: 433—437
- [2] 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—32
- [3] 王石泉. 鳖外周血细胞显微形态及细胞化学[J] 动物学杂志, 1995, **30**(1) : 16—18
- [4] 李长玲等. 乌龟红血细胞发生的研究[J] 湛江海洋大学学报, 2000, **20**(1) : 1—4
- [5] 王风计.《血细胞学图谱》[M] 天津: 天津科学技术出版社, 1980, 1—45
- [6] 上海第一医学院主编.《组织胚胎学》[M] 北京: 人民卫生出版社, 1981, 118—129
- [7] 郭琼林. 草鱼肾脏和脾脏血细胞发育过程的观察[J] 水生生物学报, 1993, **17**(1) : 40—45
- [8] Booker J. The haemacytology and histology of the haemopoietic organs of South African fresh water fish. I. The haemopoietic organs of *Clarias galiapinus* and *Sarotherodon massm bicus* [J]. *J Vet Res* 1979, **46**: 217—222

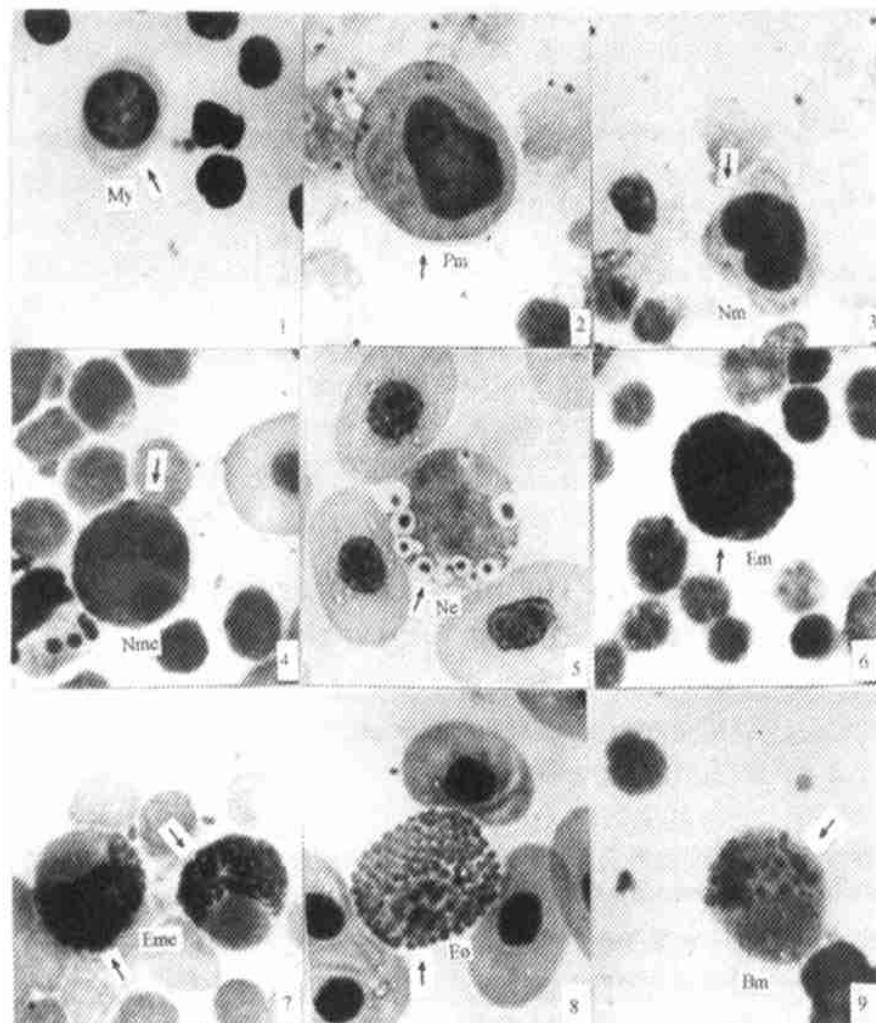
OBSERVATION ON THE DEVELOPMENT OF BLOOD CELLS OF REEVES' TURTLE (*CHINEMYS REEVESII*)

LI Chang-ling, CAO Fur-jun, LIU Chui-wu and LIU Li

(Fisheries College, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang, 524025)

Abstract: In this paper, the development of the white blood cell in *Chinemys reevesii* was studied through the observation on the stained smears of the bone marrow, the spleen and liver etc. The results show that the bone marrow and spleen are the principal organs producing white blood cells in *Chinemys reevesii*, and that the development of the white blood cell consists of three stages, the primitive stage, the immature stage and mature stage. Morphological characters of the white blood cells at different stages were described. A preliminary discussion was made on the nomenclature and developmental patterns of white blood cells in *Chinemys reevesii*.

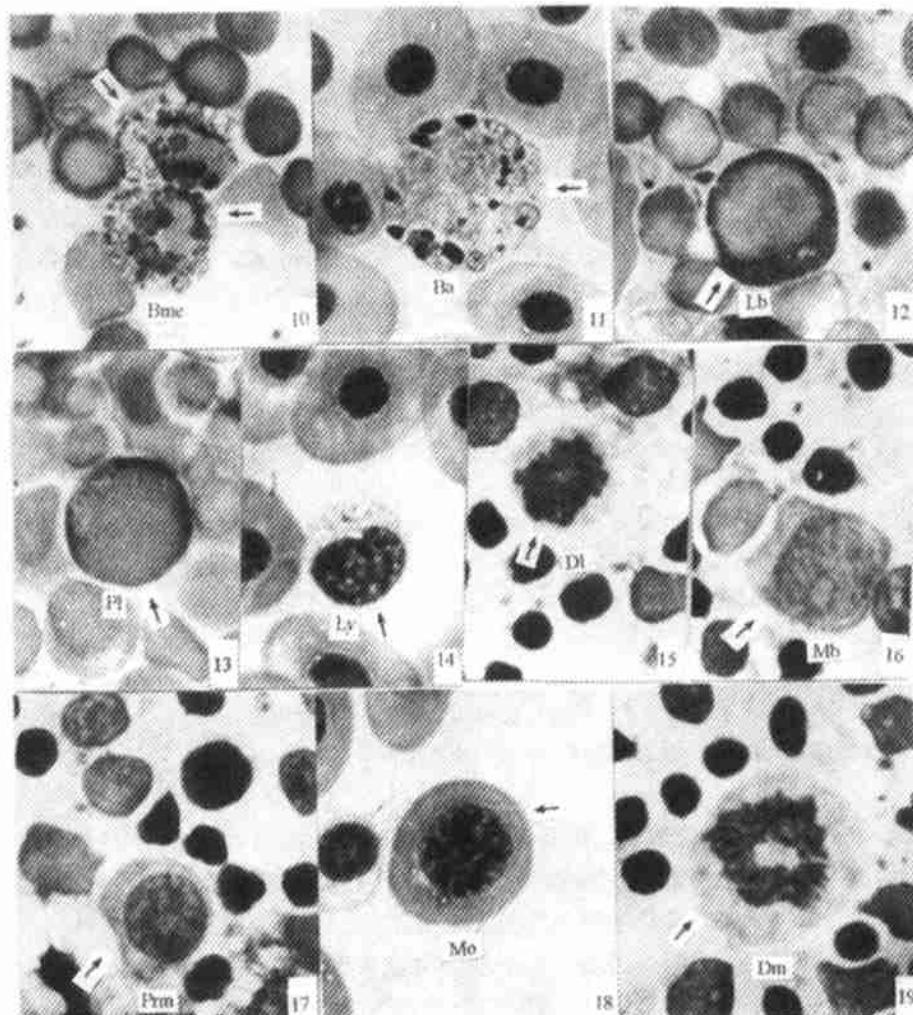
Key words: *Chinemys reevesii*; Development of white blood cells; White blood cells; Organs Blood- cells- producing organs



图版I 说明

1. 原始粒细胞(My)(骨髓涂片), $\times 1650$; 2. 早幼粒细胞(Pm)(骨髓涂片), $\times 1650$; 3. 嗜中性中幼粒细胞(Nm)(骨髓涂片), $\times 1650$; 4. 嗜中性晚幼粒细胞(Nme)(脾脏涂片), $\times 1650$; 5. 嗜中性粒细胞(Ne)(血涂片), $\times 1650$; 6. 嗜酸性中幼粒细胞(Em)(骨髓涂片), $\times 1650$; 7. 嗜酸性晚幼粒细胞(Eme)(脾脏涂片), $\times 1650$; 8. 嗜酸性粒细胞(Eo)(血涂片), $\times 1650$; 9. 嗜碱性中幼粒细胞(Bm)(骨髓涂片), $\times 1650$ N:核

1. Myeloblast (the smear of bone marrow), $\times 1650$; 2. Promyelocyte (the smear of bone marrow), $\times 1650$; 3. Neutrophilic myelocyte (the smear of bone marrow), $\times 1650$; 4. Neutrophilic metamyelocyte (the smear of spleen), $\times 1650$; 5. Neutrophil (the smear of blood), $\times 1650$; 6. Eosinophilic myelocyte (the smear of bone marrow), $\times 1650$; 7. Eosinophilic metamyelocyte (the smear of spleen), $\times 1650$; 8. Eosinophil (the smear of blood), $\times 1650$; 9. Basophilic myelocyte (the smear of bone marrow), $\times 1650$ N:nucleus



图版II说明

10. 嗜碱性晚幼粒细胞(Bme) (脾脏涂片), $\times 1650$; 11. 嗜碱性粒细胞(Ba) (血涂片), $\times 1650$; 12. 原淋巴细胞(Lb) (脾脏涂片), $\times 1650$; 13. 幼淋巴细胞(P1) (脾脏涂片), $\times 1650$; 14. 大淋巴细胞(Ly) (血涂片), $\times 1650$; 15. 直接分裂的淋巴细胞(Dl) (脾脏涂片), $\times 1650$; 16. 原单核细胞(Mb) (脾脏涂片), $\times 1650$; 17. 幼单核细胞(Prm) (脾脏涂片), $\times 1650$; 18. 单核细胞(Mo) 血涂片, $\times 1650$; 19. 直接分裂的单核细胞(Dm) (脾脏涂片), $\times 1650$
10. Basophilic metamyelocyte (the smear of spleen), $\times 1650$; 11. Basophil (the smear of blood), $\times 1650$; 12. Lymphoblast (the smear of spleen), $\times 1650$; 13. Prolymphocyte (the smear of spleen), $\times 1650$; 14. Large lymphocyte (the smear of blood), $\times 1650$; 15. Dividing lymphocyte (the smear of spleen), $\times 1650$; 16. Monoblast (the smear of spleen), $\times 1650$; 17. Promonocyte (the smear of spleen), $\times 1650$; 18. Monocyte (the smear of blood), $\times 1650$; 19. Dividing monocyte (the smear of spleen), $\times 1650$