

罗非鱼脑垂体结构研究

I. 腺垂体前叶的超微结构*

方展强 何艾文

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

提 要

本文研究尼罗非鲫 *Oreochromis nilotica* 腺垂体前叶的超微结构。前叶主要由促肾上腺皮质激素分泌细胞(ACTH)、催乳激素分泌细胞(PRL)和一种非分泌类型的星状细胞(SC)所构成。对脑垂体结构的周年观察, 表明在产卵期间 ACTH 细胞和 PRL 细胞均高度活跃, ACTH 的分泌可能促进排卵活动, 而 PRL 的分泌活动则受温度变化的影响。腺垂体前叶只接受 B 型神经分泌纤维的直接支配, 星状细胞和 I 型脑垂体细胞则参与腺细胞分泌颗粒的释放和运输等活动。本文并讨论了腺细胞的分泌颗粒通过胞吐和扩散两种方式释放等特点。

关键词 腺垂体, 前叶, 超微结构, 尼罗非鲫

对罗非鱼脑垂体结构的研究已有过报道^[1], Leatherland 等曾描述了非洲原产地五种罗非鱼腺垂体的腺细胞类型及其超微结构特点。近年来作者对尼罗非鲫 *Oreochromis nilotica* 脑垂体的显微和超微结构等方面做了一些研究^[2-4], 本文则进一步研究尼罗非鲫腺垂体前叶的超微结构特点, 并提出了其超微结构的一般模式。

材料与方法

实验动物 三龄的尼罗非鲫雌鱼, 体长 17—20cm, 体重 250—300g, 取自华南师范大学生物系鱼类研究室实验鱼塘和乳源县南水水库车干水温泉鱼塘。

垂体的透射电镜样品制备 剖开颅骨, 迅速摘取垂体样品, 经 0.2mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)漂洗, 投入 4% 戊二醛低温固定 5h, 再置 1% 铁酸固定 3h, 逐级乙醇脱水, 环氧丙烷透明, Epon 812 包埋, 先用 LKB 超薄切片机制备各为 1μm 厚切片, 以 1% 甲苯胺蓝染色作定位用, 再切成 400—600 Å 超薄切片, 醋酸双氧铀及 Reynolds 柠檬酸铅液复染, 最后置 H-300 型透射电镜观察及拍照。

结 果

(一) 脑垂体的一般结构

性成熟的尼罗非鲫脑垂体呈鸡心形实心腺体(图版 I : 1),由神经垂体(Neurohypophysis)和腺垂体(Adenohypophysis)两部分构成。神经垂体由不同类型的神经分泌纤维(Neurosecretory firber)和脑垂体细胞(Pituicyte)形成树根状结构,分布到腺垂体各叶。腺垂体由前叶(Rostralis pars distalis)、间叶(Proximal pars distalis)和过渡叶(Pars intermedia)构成,前叶位于垂体腺背面,形成两团白色隆起;间叶占据腺体中部和宽扁的腹部;过渡叶则位腺体呈削尖的后部。

(二) 前叶的超微结构

1. 腺细胞类型 前叶约占腺垂体 1/3,由促肾上腺皮质激素分泌细胞(ACTH)和催乳激素分泌细胞(PRL)两类腺细胞构成。ACTH 细胞数量少,仅占前叶腺细胞数量的 5—8%,多数分布在与神经垂体的接合处,独立或数个成群分布。处于越冬前的 ACTH 细胞(图版 I : 2)胞体呈长卵形,其长径 8—12 μm ,短径 4—6 μm ,核大而圆,核径 3.5—5.5 μm ;细胞具有高的胞核/胞质比率;胞质内分布一种呈空晕状的被膜小型圆球状分泌颗粒(Secretory granules),直径在 110—180nm 之间,分泌颗粒的中心显得十分致密,形成一个电子密度大的核心,近界膜缘则形成一圈清晰空隙,致使外周呈空晕状。分泌颗粒由胞吐(Exocytosis)形式释放到胞体外空间。ACTH 细胞通常不与 PRL 细胞直接接触,其胞体常被一类脑垂体细胞(Pituicyte)胞突所包围。在越冬期间,ACTH 细胞胞体缩小,胞核边缘呈锯齿状,胞质内出现溶酶体,高尔基体不发达。在夏季和秋季繁殖季节,ACTH 细胞胞体膨大,核孔开放度大,核周腔也十分扩大;胞质内分泌颗粒分布密集,可见胞吐轮廓;胞质内往往出现扩大呈板层状内质网池和膨大的线粒体(图版 I : 3)。对 ACTH 细胞的周年观察发现仅在繁殖季节的排卵期间细胞具最高活动状态。PRL 细胞构成滤泡状细胞群,占据腺垂体前叶的大部分。越冬前的 PRL 细胞(图版 I : 4)胞体呈梨形状,长径 10—12.5 μm ,短径 5—6 μm ,核球状,直径 4—4.5 μm ,常偏于胞体一侧;胞质内分布被膜圆球状分泌颗粒,直径 120—200nm,其分布有明显极性,通常密集分布在靠近星状细胞胞突所包围的界面;粗面内质网呈波纹状排列;线粒体呈长杆状,数量较多。越冬期间,PRL 细胞的超微结构显示的变化不大,仅出现数个溶酶体。在夏季繁殖季节,PRL 细胞处于活跃状态(图版 I : 5),胞体极度膨大,致使星状细胞胞质突起明显缩小;胞质内含有密集的分泌颗粒,在靠近星状细胞的胞质突包围的一端分布;高尔基体发达,成环状;线粒体多数呈哑铃状。在越冬期间的将尼罗非鲫转移到水温 26℃ 的温泉水中时,PRL 细胞则呈较活跃的颗粒合成和分泌活动。但过高的水温(28℃ ± 2),PRL 细胞明显提高其分泌活动。PRL 细胞胞质内的分泌颗粒的释放方式与 ACTH 细胞不同,分泌颗粒首先在胞质内释放,再通过胞质膜扩散到星状细胞的胞质突中,胞质内颗粒膜则与内质网池膜相互融合,致使大量分泌颗粒释放后,往往在胞质内逐步形成板层状结构或呈一同心圆排列的内质网池(图版 I : 6);此期,线粒体往往呈高度空囊状,内嵴结构也消失。由此可以认为,在同一水域中,外界温度提高是决定 PRL 细胞活动加大的主要因素,此结果前人亦有论及^[5]。

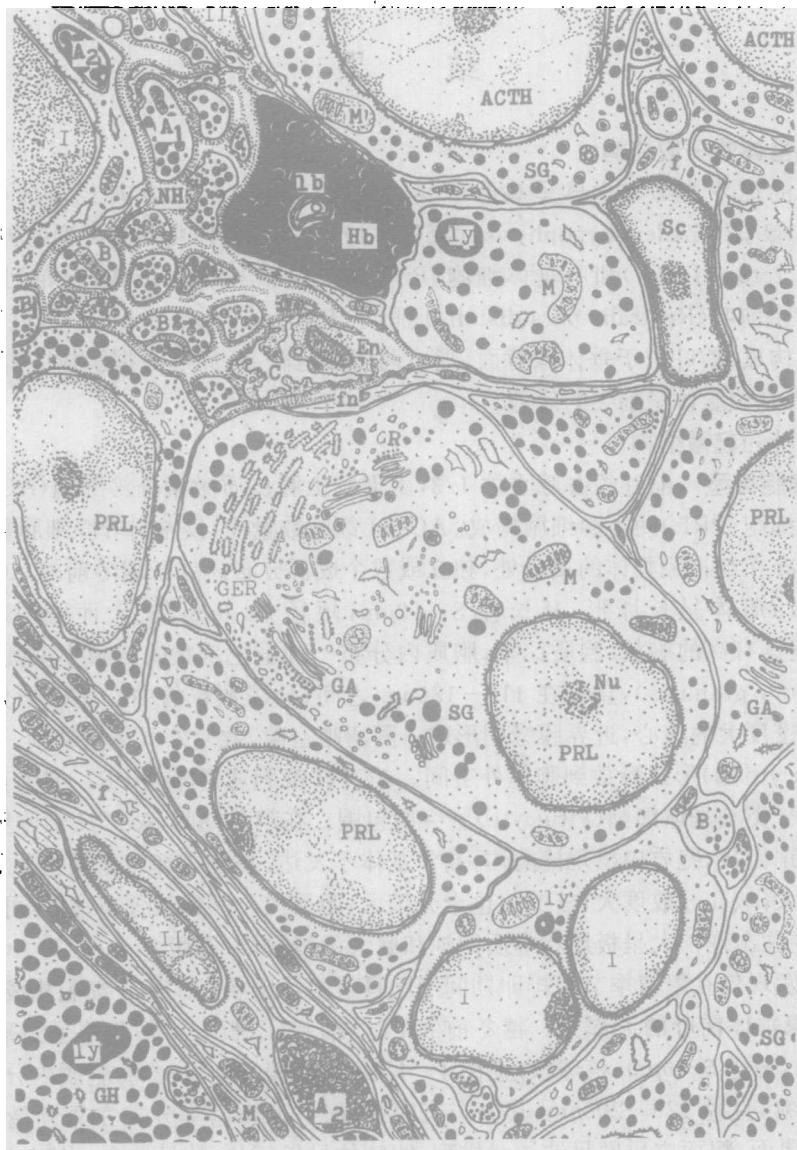


图1 尼罗罗非鱼腺垂体前叶超微结构模式图

Fig. 1 Diagram demonstrating ultrastructural organization of adenohypophyseal pars distalis of *Oreochromis nilotica*

I I型脑垂体细胞; II II型脑垂体细胞; A₁ A₁型神经分泌纤维; A₂ A₂型神经分泌纤维; ACTH 促肾上腺皮质激素分泌细胞; B B型神经分泌纤维; C 毛细血管; En 内质细胞; f 微丝; fn 膜孔; GA 高尔基体; GER 粗面内质网; GH 生长激素分泌细胞; Hb 赫令氏体; 1b 板层体; ly 溶酶体; M 线粒体; NH 神经垂体; Nu 核仁; PRL 催乳激素分泌细胞; R 核糖体颗粒; Sc 星状细胞; SG 分泌颗粒

2. 非分泌细胞类型

腺垂体前叶腺细胞群间分布两类胞质本身不含有分泌颗粒结构的非分泌细胞类型。分布在PRL细胞群之间为一类星状细胞(Stellate cell)(图版Ⅰ:7),胞体呈不规则状,并

形成众多放射状胞质突起包围着 PRL 细胞,形成网状系统;星状细胞的胞核/胞体比率很高;核仁大并呈颗粒状;胞质内不含被膜分泌颗粒,但往往可见含有从 PRL 细胞扩散的无被膜颗粒物质。另一类为脑垂体细胞,这类细胞起源于神经垂体,但也常与神经分泌纤维构成“根状”结构,深入分布到腺细胞群间(图版 I : 8)。脑垂体细胞分为 I 型和 II 型^[3], I 型胞体内常具数个溶酶体,紧密包围不同类型的神经分泌纤维轴突终端(Terminals),常可发现神经分泌纤维穿越其胞质的现象(图版 I : 9);偶尔也可见具双核结构(图版 I : 10);这类细胞具有对各类神经分泌纤维轴突支持和营养的功能。II 型脑垂体细胞胞体十分长,核也呈梭形,胞质内不仅含众多线粒体,还富含微丝(Microfilament)结构,胞质内也常可见一类从 ACTH 细胞扩散的无被膜颗粒物质(图版 I : 11),因此,II 型脑垂体细胞似乎参与腺细胞胞质内激素物质的运输活动。

3. 神经垂体与腺垂体前叶的关系

在前叶腺细胞群中发现大量 B 型纤维轴突的终端,并与 PRL 细胞形成直接的轴-腺突触联系。ACTH 细胞未发现受神经分泌纤维的直接支配,它们之间往往被一层基膜(Basement membrane)或 II 型脑垂体细胞胞质突相隔,腺垂体前叶超微结构模式见图 1。

讨 论

1. 腺垂体前叶腺细胞类型及其功能

对尼罗非鲫的观察结果表明,同属的罗非鱼脑垂体前叶 ACTH 细胞和 PRL 细胞有相似的分布和具有相同的超微结构特征。Leatherland 等对罗非鱼的观察结果认为 ACTH 细胞-肾上腺轴参与调节鱼体对外环境的离子平衡,尽管其作用与 PRL 细胞的功能有所区别。我们对尼罗非鲫的观察,发现仅在繁殖季节的排卵期间,ACTH 细胞处于较高的活动状态,这与在其它卵生硬骨鱼类的研究认为 ACTH 参与促进或影响卵母细胞成熟和排卵的看法相一致^[6]。作者已经证明 PRL 有调节渗透压的作用,降低水环境矿化度会导致 PRL 细胞高的活性,但处于温泉水环境中,PRL 细胞活动变化则不显示明显的昼夜变化。

2. 腺细胞分泌颗粒的形成和释放方式

研究表明,PRL 的合成过程,颗粒首先附着在粗面内质网表面并在内质网中合成蛋白质,随后由滑面内质网表面以出芽的方式形成众多运输小泡,这些光亮小泡进一步输送其合成功物到达高尔基体囊泡的凸面上并排列着,随后在高尔基囊泡中浓缩,加工并形成分泌囊泡释放在胞质中,最后成熟形成功能颗粒。ACTH 细胞分泌颗粒的形成也相类似。腺细胞分泌颗粒的释放方式一般通过胞吐形式进行,并在胞质膜上形成典型的“Ω”膜坑外型,我们在 ACTH、GTH 和 GH 细胞观察到这种方式。但是在 PRL 细胞中,分泌颗粒似乎是由一种扩散的方式释放。本文表明,PRL 细胞内的分泌颗粒首先在胞质内释放,颗粒内激素物质随后移动靠近胞质膜,并通过扩散方式释放到星状细胞的胞质中;胞质内的分泌颗粒膜随后与内质网池膜相互融合,致使胞质内形成呈板层状排列的扩大的内质网池。在 PRL 细胞高度活动时,这种过程十分容易被观察到。

3. 非分泌细胞的功能

硬骨鱼类腺垂体前叶存在星状细胞已有许多描述。在其它脊椎动物中,圆口类^[7]和哺

乳类^[8]也存在同类非分泌细胞类型,由此表明脑垂体中分泌和非分泌细胞之间存在的某种古老的关系。星状细胞似乎具有促进 PRL 细胞分泌颗粒释放的功能,同时也具有运输 PRL 细胞所释放的激素物质的作用。但是 ACTH 细胞所释放的激素物质则由 I 型脑垂体细胞胞质所接受。因此可以认为,在硬骨鱼类腺垂体前叶中,星状细胞与 I 型脑垂体细胞都担负运输腺细胞所释放的激素物质的功能。

4. 神经垂体对腺垂体前叶的支配关系

腺垂体前叶的 PRL 细胞直接接受 B 型纤维的支配,但 ACTH 细胞则通过基膜或脑垂体细胞胞质突的紧密连接,再间接接受 B 型或 A 型纤维的支配。已经证明在腺垂体过渡叶中,A₂型纤维的轴突终端与 I 型脑垂体细胞的胞质突形成直接的突触联结,由此再间接支配腺细胞。在前叶同样存在这种联系形式,A 型和 B 型神经分泌纤维是通过 I 型脑垂体细胞再间接支配 ACTH 细胞,ACTH 细胞则通过脑垂体细胞的胞质传送其激素类分泌物质,当然存在的这种关系尚有待进一步的证实。

参 考 文 献

- [1] Leatherland J F, Ball J N, Hyder M. Structure and fine structure of hypophyseal pars distalis in endogenous African species of the genus *Tilapia*. *Cell Tiss. Res.* 1974, **149**: 245—266.
- [2] 方展强等. 尼罗罗非鱼腺垂体的显微和超微结构研究. 华南师范大学学报(自然科学版), 1990(2): 113—118.
- [3] 方展强、何艾文. 尼罗罗非鱼神经垂体的超微结构研究. 动物学报, 1990, **36**(4): 352—359.
- [4] 方展强. 某些环境因子对罗非鱼脑垂体催乳激素分泌细胞活动的影响. 海洋与湖沼, 1991, **22**(3): 221—225.
- [5] 林浩然. 鱼类内分泌学研究的动向. 水生生物学集刊, 1984, **8**(3): 363—370.
- [6] Cook A F, Stacey N E, Peter R E. Preovulatory changes in serum cortisol levels in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1980, **40**: 507—510.
- [7] Percy R, Leatherland J F. Fine structure of the pituitary gland in larval sea lampreys (*Petromyzon marinus L.*). *J. Endocrinol.* 1972, **59**: 40—41.
- [8] Vila-Porcile E. Le réseau des cellules folliculo-stellaires et les follicules de l'adénohypophyse du rat (pars distalis). *Z. Zellforsch.* 1972, **129**: 328—369.

STUDIES ON THE STRUCTURE OF PITUITARY IN

OREOCHROMIS NILOTICA

I. ULTRASTRUCTURE OF THE ROSTRAL PARS DISTRALIS OF ADENOHYPOPHYSIS

Fang Zhanqiang and He Aiwen

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract

The ultrastructure of the rostral pars distalis of adenohypophysis was examined in *Oreochromis nilotica*. The rostral pars distalis is mainly composed of adrenocorticotrophic cells, prolactin cells and one non-secretory cell type-stellate cells. The observations on the annual cycle of the structure of pituitary showed that the adrenocorticotrophic cells and prolactin cells become active during ovulation. It is suggested that ACTH secretion may facilitate ovulation and the prolactin cell activity is attached by changes in environmental temperature. In rostral pars distalis, only the prolactin cells receive direct innervation from type B neurosecretory ending. The stellate cells and type I pituicytes play an important role in releasing and transferring the secretory granules from the secretory cells. Two means by which the secretory granules are released, exocytosis and diffusion from the secreting cells, are discussed.

Key words Adenohypophysis, Rostral pars distalis, Ultrastructure, *Oreochromis nilotica*

图 版 说 明

图 版 I

1. 尼罗非鲫脑垂体矢状切面光镜图(×20,甲基蓝染色);2. 越冬前的 ACTH 细胞(×7000);3. 通常被 I 型脑垂体细胞包围的 ACTH 细胞(×5000);4. 越冬前的 PRL 细胞(×4500);5. 夏季繁殖期间的 PRL 细胞(×5000);6. 处温泉池塘(29℃)越冬的 PRL 细胞(×15000)

1. Light micrographs of sagittal sections of pituitary gland in *Oreochromis nilotica* (×20, treated with Methyl blue); 2. Adrenocorticotropic cells before wintering (×7000); 3. The adrenocorticotropic cell surrounded by type I pituicytes (×5000); 4. Prolactin cells before wintering (×4500); 5. Prolactin cells during reproduction in summer (×5000); 6. Prolactin cells of fish during wintering in a hot spring pond (29℃) (×15000).

C:capillary 毛细血管;f:microfilament 微丝;

GA:Golgi apparatus 高尔基囊泡;GER: granular endoplasmic reticulum 粗面内质网; Hb; Herring body 赫令氏体; M: mitochondria 线粒体; NH:neurohypophysis 神经垂体; Np:nuclear pore 核孔; PI:pars intermedia 过渡叶; PPD: proximal pars distalis 间叶; RPD:rostral pars distalis 前叶; Sc: stellate cell 星状细胞; SG: secretory granules 分泌颗粒。

图 版 II

7. 星状细胞(×10000);8. 示腺垂体前叶与间叶被脑垂体细胞和神经分泌纤维形成的根状结构分隔(×10000);9. 示 A 型神经分泌纤维伸入 I 型脑垂体细胞的胞质(×10000);10. 一些 I 型脑垂体细胞具双核结构(×10000);11. 越冬期间的 ACTH 细胞(×5000)。

7. Stellate cell. (×10000); 8. The rostral pars distalis and proximal pars distalis separated by the trunk formed by type I pituicytes and neurosecretory fibres (×10000); 9. Type A neurosecretory fibre penetrates deeply into the cytoplasm of type I pituicyte (×10000); 10. Some type I pituicyte have two nuclei (×10000); 11. Adrenocorticotropic cells during wintering (×5000).

A: A neurosecretory fibre A 型神经分泌纤维; B: Type B neurosecretory fibre B 型神经分泌纤维; GH: Growth hormone cell 生长激素分泌细胞; I :Type I pituicyte I 型脑垂体细胞; II :Type II pituicyte II 型脑垂体细胞; ly:Lysosome 溶酶体; Nu: Nucleolus 核仁.

