

几种淡水鱼的胃腺细胞显微 与超微结构的研究*

王 韞 明 王 文

(南京师范大学生物系)

提 要

尼罗非鲫的胃腺细胞和一般硬骨鱼类的泌酸胃酶细胞结构不同,属典型的泌酸细胞,与哺乳动物的壁细胞十分相似。细胞内充满微管泡系和线粒体,但是没有发现胃蛋白酶原颗粒,粗面内质网也极少。乌鳢、鲇和黄颡鱼的胃腺细胞则为典型的泌酸酶原细胞,除有微管泡系和线粒体外,还有丰富的胃蛋白酶原颗粒和粗面内质网。用显示盐酸的 Western 方法证明这两类胃腺细胞都能分泌盐酸,但对检测色氨酸的 Adams 方法,两者都呈阴性反应,未能证明乌鳢胃腺细胞中胃蛋白酶原的存在,可能乌鳢的胃蛋白酶成分中色氨酸的含量不占多数,故未能检出。

这两类胃腺细胞结构和功能的不同,与整个消化道结构的差别相一致,可能与它们的食性不同有关。

微管泡系是两类胃腺细胞共有的结构,是泌酸的结构基础,由一系列短管和囊泡组成。在鱼类中,泌酸过程可能有顶浆分泌和局部分泌两种形式。泌酸活动中细胞顶膜、微管泡系以及高尔基体之间膜的转移关系和泌酸形式有关

关键词 尼罗非鲫,乌鳢,胃腺细胞,超微结构

到目前为止,一般都认为只有哺乳动物的胃腺外分泌细胞,已分化出分泌盐酸的壁细胞和产生胃蛋白酶原的主细胞,而从鱼类至鸟类,其分泌盐酸和产生胃蛋白酶原的功能都由一种细胞完成,这种细胞称泌酸胃酶细胞 (oxynticopeptic cell)^[1-3]。

在观察尼罗非鲫 (*Oreochromis niloticus*) 胃腺细胞的超微结构时,发现其与一般报道的泌酸胃酶细胞的结构显然不同,而与哺乳动物的壁细胞很相似。细胞内充满了微管泡系 (tubulovesicular system, TVS) 和线粒体,没有胃蛋白酶原颗粒,粗面内质网也极少。目前有关淡水鱼类胃腺细胞超微结构的报道很少,为比较全面了解鱼类胃腺细胞的结构和功能,并对几种食性与尼罗非鲫不同的鱼——乌鳢 (*Channa argus*), 鲇 (*Silurus asotus*) 和黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*), 从显微、超微结构和细胞化学方面对胃腺外分泌细胞和粘膜上皮细胞都作了较详细的比较,并对它们的共同结构特点 TVS 的泌酸

* 本工作得到南京市农业专科学校刘家驹主任和南京市水产研究所王长虹同志的热情帮助。参加工作的还有王树杰、丁岳明、吴昌进、张晓燕、冒乃和、杜开河同志,在此一并致谢。

1987年9月9日收到。

形式也作了初步探讨。

材 料 和 方 法

尼罗非鲫, 体长 15—20 cm, 由南京市水产研究所提供; 乌鳢体长 15—29 cm, 鳃约 33 cm, 黄颡鱼约 20 cm, 均购自菜市场。

光镜材料 一般结构经 Bouin 氏液固定, 石蜡切片法, 厚 7—8 μm , 尼罗非鲫胃还作了连续切片。苏木精和伊红染色 (H. E.), 一部分作 PAS 反应。显示盐酸者按 Western^[4] 方法稍加改变, 即将鱼饥饿 3—4 天后, 喂以普鲁士蓝试剂调制的食物 (1.5% $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, 2.5 ml; 2.25% 柠檬酸铁铵 25 ml; 鱼粉和玉米粉 2.5 g), 用吸管将食物自咽部灌入, 2, 4, 6 小时后解剖胃, 检查胃腔内食物的颜色, 同时取材、切片作 PAS 反应。显示胃蛋白酶者, 经 1% 三氯醋酸固定, Adams 法染色^[5], 切片观察。

电镜材料 按常规取材, 4% 戊二醛和 1% 锇酸双固定, 环氧树脂“812”包埋, LKB V 型超薄切片机切片, 厚 600—700 \AA , 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色, H-6002 型电镜观察。

以上所有材料除细胞化学只取胃体外, 均分别取贲门、胃体和幽门三部分。

观 察 结 果

光镜下 尼罗非鲫和乌鳢的胃腺, 从颈部到底部都由同一种类型的细胞组成。细胞呈椭圆形, 大小均匀, 经 H. E. 染色, 胞质嗜酸性。粘膜上皮细胞则都呈柱状, 经 PAS 反应, 细胞游离面呈深红色阳性反应, 胃小凹处的上皮细胞红色更深, 但 H. E. 切片中, 这两处均为透明区。乌鳢上皮细胞游离面的深红色层比尼罗非鲫的要厚得多, 约占整个上皮细胞高度的 1/4—1/3 (图版 I: 6)。另外在贲门、幽门部分, 尼罗非鲫均有发达的粘液腺 (图版 I: 4, 5), 为上皮内陷形成, PAS 反应亦为深红色, 乌鳢则没有。以上 PAS 反应的对照片, 在反应前, 先经唾液消化 30 分钟, 37℃, 反复两次, 除去糖元、淀粉, 红色不变, 另先经醋酸酐和无水吡啶的混合液处理 24 小时, 22℃, 再进行 PAS 反应则无色, 证明 PAS 阳性区含有糖蛋白成分。鳊和黄颡鱼与乌鳢基本相似。

电镜下 尼罗非鲫胃腺细胞 (图版 I: 1) 内充满线粒体和 TVS, 线粒体多数为长椭圆形, 密集于基底面, 向腺腔面逐渐减少, 约占整个细胞体积的 50%, 腺腔周围没有分布。线粒体基质的电子密度低, 嵴呈板状, 密集, 与纵轴垂直。TVS 由单位膜围成, 密集于腺腔周围, 向基底面逐渐减少, 包括一系列短管和囊泡, 短管直径约 60—80 nm, 长度多数在 1 μm 以内, 可弯曲, 不见分支, 末端往往膨大成囊, 不存在哺乳动物壁细胞特有的细胞内小管 (intercellular canaliculi)。粗面内质网很少, 仅靠近基底面有少量分布。核糖体几乎没有。高尔基体位于核附近, 进食后的腺细胞内特别明显。核位于基底面, 核仁明显。细胞顶膜有微绒毛伸入腺腔内, 进食后的腺细胞微绒毛特别多。细胞内未见到有酶原颗粒。

粘膜上皮细胞内, 除具有一般上皮细胞的超微结构外, 比较突出的是, 细胞内有两类

不同大小的颗粒(图版 I:3):一类小形的棒状颗粒,直径约 80 nm,长约 200 nm,分散在上皮细胞的游离端,电子密度高;另外在胃小凹处,还有一类比较大形的椭圆形颗粒,直径约 700 nm,长约 1 000 nm,电子密度较低,成群分布于上皮细胞内。由于这两处相当于光镜下的 PAS 阳性反应区,估计这两类颗粒均为含有糖蛋白的粘原颗粒。

乌鳢胃腺细胞(图版 I:2)和尼罗非鲫的明显不同之处是:细胞内有数量相当多的酶原颗粒,粗面内质网也比较丰富,酶原颗粒分布在腺腔和核之间,椭圆形,大小约 $0.7 \times 0.4 \mu\text{m}$,电子密度深浅不一,粗面内质网比较集中于基底面和线粒体周围,但线粒体数量相对比较少。除此外,细胞内也同样有发达的 TVS 分布于腺腔周围,也同样不具有细胞内小管,细胞顶面也有微绒毛伸入腺腔。粘膜上皮细胞内的粘原颗粒比尼罗非鲫多,集中分布于细胞游离端,所占上皮细胞的体积与光镜下 PAS 阳性区相当,约为 1/4 左右。细胞基部有成束的张力细丝(tonofilament),直径约 10 nm 左右,起支持作用。另外上皮内还有一种特殊的梨形细胞(图版 II:12),为单细胞腺体,大小约 $10.6 \times 4 \mu\text{m}$ 左右,细胞内有 6—7 个高电子密度的棒状体,呈放射状排列,前端伸向上皮的游离面,核大,位于细胞基部,核周围有粗面内质网,核与棒状体间为滑面内质网,线粒体分布于细胞前端。这种梨形细胞与 Catton (1948)^[6] 于光镜下在鲑鳟鱼类的小肠粘膜上皮和鳃上皮以及肾小管和腹膜上皮等处观察到的一种粗颗粒细胞(coarse granulocyte)很相似,它可以在上皮内从基部迁移至表面,然后释放出液体状的内容物,其功能尚不清楚。

鲇和黄颡鱼胃腺细胞结构与乌鳢的属同一类型,与尼罗非鲫的不同。即细胞内兼有 TVS、酶原颗粒以及丰富的粗面内质网和一定数量的线粒体,还有高尔基体。粘膜上皮细胞也与乌鳢的相似,游离端有丰富的粘原颗粒,基部有张力细丝(图版 II:11),直径约 13 nm,比乌鳢的更粗些,但上皮层内未见有梨形细胞。

讨 论

关于胃腺细胞功能 根据以上观察,显然尼罗非鲫的胃腺细胞与乌鳢、鲇及黄颡鱼的都不同,和哺乳类壁细胞却很相似,唯一不同之处是没有细胞内小管,所以估计其功能也是分泌盐酸。由于不存在细胞内小管,盐酸可能在腺腔内生成,即 H^+ 主动运输至腺腔,与来自血液并通过微管泡系转运至此处的 Cl^- 结合而形成。为证明盐酸的生成部位,我们用 Western 方法,分别给尼罗非鲫和乌鳢投喂普鲁士蓝调制的食物,隔一定时间,分别打开胃腔,发现腔内的食糜和胃粘膜表面都已变成蓝色,以 2 小时后的胃腔,蓝色最明显,此时胃液 pH 2—3,6 小时后,蓝色食糜已大部分进入肠内。观察了 2 小时的胃粘膜切片,胃小凹及腺腔边缘和腺腔内均能见到蓝色沉淀物(图版 I:6),但腺细胞内没有。说明盐酸是在腺腔内生成,经胃小凹分泌至胃腔的。

至于尼罗非鲫胃能否产生胃蛋白酶? Fish (1960)^[7] 和 Nagase (1964)^[8] 报道了莫桑比克非鲫(*Oreochromis mossambicus*)胃具有胃蛋白酶活性, Moriarty (1973)^[9] 在尼罗非鲫胃壁中还检测到了胃蛋白酶原,但我们在电镜下未发现尼罗非鲫胃腺细胞中有酶原颗粒,用检测色氨酸的 Adams 法^[2],也未得到阳性结果。需要提出的是,用同样方法检测小鼠胃主细胞,得到了阳性结果,而乌鳢胃腺细胞却亦为阴性,但 Western^[4] 用此

法在杜父鱼 (*Cottus gobio*) 胃腺细胞中得到了标志胃蛋白酶原的黑色颗粒。可能乌鳢的胃蛋白酶成分中色氨酸的含量不多, 故不能以色氨酸反应作为检测胃蛋白酶的指标。

除胃腺细胞外, 尼罗非鲫胃粘膜的其他部分是否也有可能产生胃蛋白酶? 已知人胃幽门腺的粘液分泌物中, 含有胃蛋白酶原成分^[10]。详细观察了尼罗非鲫胃粘膜上皮细胞以及贲门、幽门部分, 并和乌鳢作比较。发现胃粘膜上皮细胞内, 有如上述的两类粘原颗粒, 贲门和幽门部分还有粘液腺, 而乌鳢胃粘膜上皮细胞内只有一类粘原颗粒, 数量比较多, 但贲门和幽门部分都没有粘液腺。故推测尼罗非鲫胃粘膜上皮细胞内的两类粘原颗粒中, 可能有一类含有胃蛋白酶原, 还有待今后证实。

综上所述, 乌鳢和尼罗非鲫的胃腺细胞, 代表了硬骨鱼类中两种不同的类型, 前者兼有分泌盐酸和胃蛋白酶原的功能, 后者只能分泌盐酸, 胃蛋白酶原可能另由上皮细胞分泌。这种结构和功能的差别, 除与系统演化有关外显然与不同的食性相联系。乌鳢是肉食性鱼类, 整个消化道短而粗, 胃发达, 肠子也粗短, 为消化道长度的 46%, 还有一对盲囊, 结构与小肠相似, 也有消化吸收作用。尼罗非鲫为杂食性鱼类, 消化道细而长, 胃比较小而壁薄, 肠占整个消化道长度的 96% 左右。与消化道结构相适应的是胃细胞的结构和功能也有差异, 包括胃蛋白酶的分布^[11]。Moriarty^[9] 在尼罗非鲫胃内发现蓝绿藻为胃酸所溶解, 然后在小肠内消化, 所以尼罗非鲫对食物的消化作用可能主要在肠内进行。

关于微管泡系和盐酸分泌形式 无论是尼罗非鲫或是乌鳢等的胃腺细胞, 都有共同的结构即微管泡系, 是泌酸的基础结构, 其形态特征与 Sugai 等 (1985)^[12] 用快速冰冻替代法所描述的小鼠壁细胞的微管泡系基本类似, 但管泡稍大, 并且没有分支。关于微管泡系和细胞顶膜之间的相互联系以及与泌酸的关系, 前人已有很多研究^[3, 12, 13], 但尚未得出共同结论。在观察尼罗非鲫和黄颡鱼的胃腺细胞超微结构时, 发现前人未提及的几种现象, 对解释泌酸过程中 TVS 和顶膜之间的关系可能有一定意义。泌酸过程的电镜照片 (图版 II: 7—10), 图版 II: 7, 8 是尼罗非鲫胃腺细胞的泌酸过程。其中图版 II: 7 示细胞一部分顶膜破裂, TVS 随同一部分胞浆涌入腺腔, 属顶浆分泌形式。图版 II: 8 是在喂以普鲁士蓝食物后 2 小时的情况, 这时腺腔完整, 内有各种大小的囊泡, 其中一个与顶膜相接, 似刚从顶膜脱离出。类似局部分泌方式, 也可能是顶浆分泌的后期, 顶膜已修补完整。图版 II: 9, 10 是黄颡鱼胃腺细胞的泌酸情况。其中图版 II: 9 示顶膜与细胞浆的一部分, 随同 TVS 和酶原颗粒一起突入腺腔, 突起的柄部还能看到断痕, 另有 1 酶原颗粒即将以出胞方式直接排入腺腔。图版 II: 10 可见到已释放至腺腔的 TVS 和酶原颗粒, TVS 膜已破, 酶原颗粒尚完整, 图版 II: 9, 10 也属顶浆分泌形式, 但顶膜破坏的程度较小, 图版 II: 7—10 说明鱼类胃腺细胞的泌酸过程有顶浆分泌和局部分泌两种方式, 前者破坏的细胞顶膜通过膜的再生而修补恢复, 损失的 TVS 可能由高尔基囊泡补充; 后者在 TVS 或酶原颗粒和细胞顶膜间有膜的转移关系。Forte^[14] 等认为高尔基体囊泡膜、TVS 膜和顶膜的糖蛋白成分相同, 说明它们间的转移是可能的。由于未作系统深入观察和标本数有限, 以上推论尚待进一步证实。

参 考 文 献

- [1] 吴尚忠译(尾崎久雄著), 1983. 鱼类消化生理(上册). 87—100 页. 上海科技出版社。
- [2] 方肇寅等译 (U. 威尔士 V. 斯托赫著), 1973. 比较动物细胞学和组织学. 235—236 页. 科学出版社。
- [3] Rebolledo, I. M. and Vial, J. D., 1979. Fine structure of oxynticopeptic cell in the gastric glands of an elasmobranch species (*Halaelurus chilensis*). *Anat. Rec.*, **193**: 805—822.
- [4] Western, J. R. H. and Jennings, J. B., 1970. Histochemical demonstration of HCl in the gastric tubules of teleosts using an in vivo Prussian blue technique. *Comp. Biochem. Physiol.*, **35**: 879—884.
- [5] Adams, C. W. M., 1977. A p-dimethylaminobenzaldehyde nitrite method for the histochemical demonstration of tryptophane and related compounds. *J. Clin. Path.*, **10**: 56—61.
- [6] Catton, W. T., 1948. Coarse granulocytes in epithelial tissue of teleost fish. *Nature*, **162**: 894.
- [7] Fish, G. R., 1960. The comparative activity of some digestive enzymes in the alimentary canal of *Tilapia* and perch. *Hydrobiologia*, **15**: 161—178.
- [8] Nagase, G., 1964. Contribution to the physiology of digestion in *Tilapia mossambica*: digestive enzymes and the effects of diets on their activity. *Zeitschrift für vergleichende physiologie*, **49**: 270—284.
- [9] Moriarty, D. J. W., 1973. The physiology of digestion of blue-green algae in the Cichlid fish, *Tilapia nilotica*. *J. of Zoology*, **171**: 25—39.
- [10] Sanford, P. A., 1982. Digestion system physiology. pp. 38—40. Edward arnold.
- [11] Kapoor B. G., 1975. The alimentary canal and digestion in teleosts. *Advances in Marine Biology*, **13**: 109—239.
- [12] Sugai, N. and Ito, S., 1985. The fine structure of the tubulovesicular system in mouse gastric parietal cell processed by cryofixative method. *J. Electron. Microsc.*, **34**(2): 113—122.
- [13] Sedar, A. W., 1962. Electronmicroscopy of the oxyntic cell in the gastric glands of the bullfrog, *Rana catesbiana*. *Jour. of Cell Biol.*, **14**(1—3): 152—156.
- [14] Forte, T. M. and Fort, J. G., 1970. Histochemical staining and characterization of glycoproteins in acid-secreting cells of frog stomach. *J. of Cell Biol.*, **47**: 437—452.

MICROSCOPIC AND ULTRAMICROSCOPIC STUDIES ON GASTRIC GLAND CELLS OF SEVERAL FRESH WATER FISH ES

Wang Yunming and Wang Wen

(Biology Department, Nanjing Normal University)

Abstract

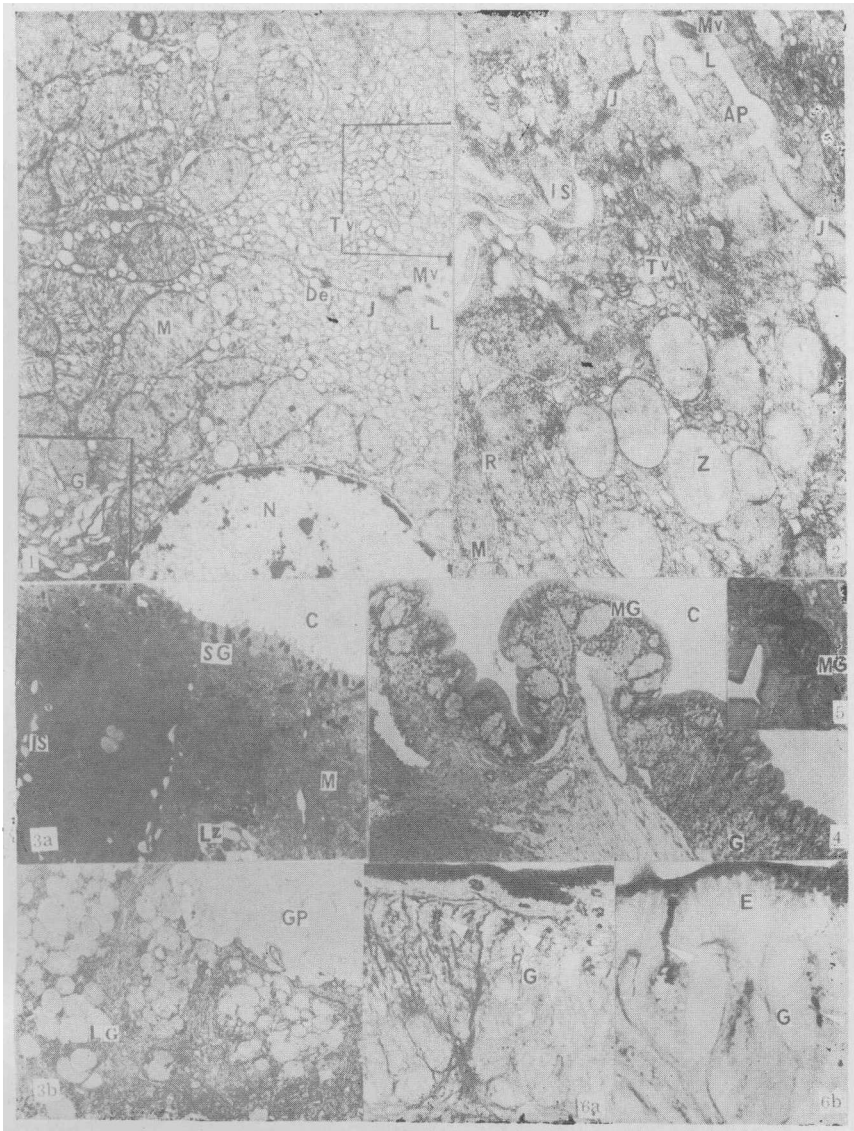
It is now generally accepted that only the gastric glands of mammals have separate acid-producing parietal cells and zynogenic chief cells; in fishes, amphibians and birds, both hydrochloric acid and pepsinogen are assumed to be secreted by one type of cells—the oxynticopeptic cells. The present observations on the microscopic and ultramicroscopic structure of the gastric gland cells of *Tilapia* (*Orochromis niloticus*) indicate that these cells are different from the oxynticopeptic cells but are very similar to the parietal cells of mammals except that they are deficient in intracellular secretory canaliculi. They contain full tubulovesicular systems and mitochondria, but have not pepsinogenic granules, and very few rough-surfaced endoplasmic reticula (RER). The gastric gland cells of another group of fishes, including *Channa argus*, *Silurus asotus* and *Pelteobagrus fulvidraco* etc., are typically oxynticopeptic cells, which have abundant pepsinogenic granules and RER. When the Western method of Prussian blue

reaction for the *in vivo* demonstration of HCl secretion was used, it was shown that the two kinds of gastric cells described above both have a function of HCl secretion. However, the Adams method for the demonstration of tryptophane failed to detect pepsinogen granules in either gland cell, probably because the tryptophan content in the pepsinogen of *Channa argus* is too low to be detected.

Owing to the distinct difference in natural diet of the two groups of fishes, the structure of their alimentary canals and the structure and function of gastric gland cells are apparently different.

The tubulovesicular systems, which is the basic structure for HCl secretion, exists in both groups of fishes. It is composed of well-developed short tubules and vesicles. There are probably two forms of acid secretion in fish, i.e. apocrine and merocrine. During acid secretion, the transformation between apical plasma membrane, tubulovesicular smooth membranes and golgi membranes is related to the form of acid secretion.

Key words Tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Channa argus*. gastric gland cell, Ultrastructure



1. 尼罗非鲫胃腺细胞。左下角为进食后发达的高尔基体，右上角框内为各种形态的微管泡系 $\times 6000$ ；2. 乌鳢胃腺细胞超微结构。 $\times 5210$ ；3a. 尼罗非鲫胃粘膜上皮细胞，示小粘原颗粒。 7000 ；3b. 同上示胃小凹处的大粘原颗粒。 $\times 3000$ ；4. 尼罗非鲫胃贲门部，示粘液腺。H. E $\times 41$ ；5. 同上胃幽门部，示粘液腺。H. E + PAS $\times 41$ ；6a. 乌鳢胃粘膜，示普鲁士蓝颗粒于腺腔内。PAS $\times 206$ ；6b. 同上，放大，示胃小凹处和腺腔内的普鲁士蓝颗粒。PAS $\times 103$ 。

图例：AP (细胞顶膜)；C (胃腔)；De (桥粒)；E (上皮)；G (胃腺)；GP (胃小凹)；IS (细胞间隙)；J (连接复合体)；L (腺腔)；LG (大粘原颗粒)；M (线粒体)；MG (粘液腺)；Mv (微绒毛)；N (细胞核)；R (核糖体)；SG (小粘原颗粒)；Tv (微管泡系)；Z (酶原颗粒)

1. Electron micrograph of gastric gland cell of *Tilapia nilotica*. In the rectangle at the lower left is the golgi body of fed fish stomach. In the rectangle at the upper right are various forms of tubulovesicular system $\times 6000$ ；2. Electron micrograph of gastric gland cell of *Ophioccephalus argus*. $\times 5210$ ；3a. Electron micrograph of epithelial cell of gastric mucosa of *Tilapia nilotica* showing small mucinogen granules $\times 7000$ ；3b. The same as above, showing large mucinogen granules in gastric pit region $\times 3000$ ；4. The cardiac region of stomach of *T. nilotica*, showing mucous gland. H. E $\times 41$ ；5. The pyloric region of stomach of *T. nilotica*, showing mucous gland. H. E + PAS $\times 41$ ；6a. The gastric mucosa of *O. argus*, showing Prussian blue granules (Δ) in gland cavity. PAS $\times 206$ ；6b. The magnified micrograph as above, showing the Prussian blue granules in gastric pit and in gastric cavity. PAS. $\times 103$

Notes: AP (apical membrane)；C (gland cavity)；De (desmosome)；E (epithelial cell)；G (gastric gland)；GP (gastric pit)；IS (intercellular space)；J (junctional complex)；L (lumen)；LG (large mucinogen granule)；M (mitochondria)；MG (mucous gland)；Mv (microvillus)；N (nucleus)；R (ribosome)；SG (small mucinogen granule)；Tv (tubulovesicular system)；Z (zymogen granule)



7. 尼罗非鲫胃腺细胞，示顶浆分泌。×5 000； 8. 同上，示局部分泌或顶浆分泌另一时相。×7 500； 9. 黄颡鱼胃腺细胞，示顶浆分泌。×7 500； 10. 同上，示顶浆分泌另一时相。×7 500； 11. 鮡胃粘膜上皮细胞基部，示张力细丝 ×22 500； 12. 乌鳢胃粘膜上皮内的梨形细胞。×4 000

图例：AP (细胞顶膜)； J (连接复合体)； L (腺腔)； Mv (微绒毛)； N (细胞核)； RG (棒状颗粒)； To (张力细丝)； Tv (微管泡系)； V (囊泡)； Z (酶元颗粒)

7. The gastric gland cell of *T. nilotica*, showing apocrine. ×22 500； 8. The same as above, Showing merocrine or another stage of apocrine. ×7 500； 9. The gastric gland cell of *P. fulvidraco*, showing apocrine. ×7 500； 10. The same as above, showing another stage of apocrine. ×7 500； 11. The basal region of epithelial cell of gastric mucosa of *P. asotus*, showing tonofilament. ×22 500； 12. The pear-shaped cell in epithelium of gastric mucosa of *O. argus*. ×4 000

Notes: AP (apical membrane)； J (junctional complex)； L (gland cavity)； Mv (microvillus)； N (nucleus)； RG (rod granules)； To (tonofilament)； Tv (tubulovesicular system)； V (vesicle)； Z (zymogen granule)