

# 植物血凝素对兴国红鲤头肾和脾脏的比较组织学研究

胡成钰 洪江 王军花 余志坚 林光华

(南昌大学生命科学与食品工程学院, 南昌 330047)

**摘要:** PHA 注射前后兴国红鲤头肾和脾脏结构基本相同。红鲤头肾有被膜, 为淋巴样组织, 由许多血管、血窦和淋巴索组成。脾脏是实质性器官, 淋巴细胞聚集成团, 有弥散的胰腺组织渗入。注射 PHA 后头肾和脾脏内的大淋巴细胞、小淋巴细胞、巨噬细胞以及原始型细胞显著增加, 而粒细胞数量变化不明显。

**关键词:** 植物血凝素; 头肾; 脾脏; 组织学; 兴国红鲤

**中图分类号:** S965.116 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2002)05-0489-05

鲤(*Cyprinus carpio*)、鲫(*Carassius auratus*)的脾脏和头肾组织学研究, 已有一些报道<sup>[1-3]</sup>, 但仅限于对其组织形态学的描述, 没有探讨刺激后器官内免疫细胞变化的规律。兴国红鲤(*C. carpio* Var. *Singuanensis*)是经多年选育的一个优良品种, 其种质指标已由国家标准局公布, 有关其头肾和脾脏组织学还未见报道。因此, 本研究采用 PHA 体内注射方法, 对正常及刺激后的头肾及脾脏组织学及其相关免疫细胞数量变化规律进行了比较研究, 一方面为鱼类免疫学及组织学提供基础资料, 另一方面为鱼类疾病的防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

试验用鱼取自江西省国家级兴国红鲤良种场。选择自仔幼鱼到实验前都未感染过任何疾病的兴国红鲤 70 尾, 体重 150—200g, 试验组 40 尾和对照组 30 尾, 在水族箱中进行适应性驯养 2 周后, 试验组按鱼体重 8μg/g, 胸鳍注射 PHA(购于上海医学化验所), 对照组注射等量的 0.65% 生理盐水, 水温 20—25℃饲养。自注射之日起, 7d 后进行第 1 次取材, 然后每隔 7d 分别取试验组 6 尾及对照组 3 尾, 解剖鱼体, 仔细剥离头肾和脾脏, 用生理盐水迅速洗去血渍, Bouin 氏固定, 常规石蜡包埋法, HE 染色, 显微观察。

## 2 结果

### 2.1 兴国红鲤头肾和脾脏组织学

**2.1.1 兴国红鲤头肾组织学** 头肾位于鱼躯体前端背部, 呈三角形圆锥状, 淡红色, 为淋巴样组织。头肾外包有结缔组织的外被膜, 厚薄不一, 其游离面厚, 而与其它组织相接处较薄。在头肾组织内可以观察到分散分布的血窦, 为毛细血管末端扩大形成的窦状隙, 仅

收稿日期: 2001-10-10; 修订日期: 2002-01-30

基金项目: 国家自然科学基金(编号 30060066)资助

作者简介: 胡成钰(1964—), 男, 江西省南昌市人; 副教授; 主要从事细胞生物学研究

由单层内皮细胞构成。还有一些血管分布(图版 I : 1),其窦腔比一般血窦大得多,腔内有许多血细胞,内壁由单层内皮细胞构成,外由复层柱状上皮细胞包绕,通常可见 2—4 层。在头肾中,可见淋巴窦和淋巴索(图版 I : 2),其中淋巴窦为狭窄且很细小的空腔,密布于头肾各处,由于淋巴窦的分布而将淋巴细胞分隔开来。淋巴索则为粗短不一,曲折的条带状,充满细胞,是运送淋巴细胞的主要通道。胶状质多呈不规则圆形,其周围由一层胶状质细胞围绕,大小及形态变化较大,无基膜,细胞核多为浅蓝色。头肾中还有一些甲状腺滤泡分布。淋巴细胞是头肾各类细胞的主要成分(图版 I : 2, 3),胞质嗜碱性,其中小淋巴细胞数目较多,个体较小,核质比例较大,呈圆形,大淋巴细胞数目较少(图版 I : 5),个体较大,结构较为清晰,核质比例较小。在头肾组织中,可以观察到许多原始型细胞和幼稚型细胞,包括原淋巴细胞,原粒细胞及原巨噬细胞等,这些细胞体积较大,胞质和核质染色均较浅,核染色质较稀疏。还有较多的粒细胞(图版 I : 4),该种细胞体积较大,核染色质清晰,胞质颜色较浅,核多呈腊肠状或马蹄形。此外,头肾中还有一些巨噬细胞(图版 I : 3),该细胞个体很大,核也大,但细胞形态及核形态不均一,变化较大。

**2.1.2 兴国红鲤脾脏组织学** 脾脏位于腹腔内肠前段背部,呈长条形,前宽后窄,颜色暗红,依系膜附着在体壁背侧。脾脏主要分为脾膜和脾髓,脾膜由扁平上皮组织和结缔组织组成,结缔组织向脾髓延伸,把脾脏分隔成若干个不规则的小叶。由于脾脏内不形成淋巴结,所以无红髓和白髓之分,两者是混和的。脾髓并不密集成淋巴组织,其内小梁结构不明显,有大量的结缔组织纤维和网状纤维并交织成网,网格中有红细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、粒细胞、原始型细胞等(图版 I : 6, 7, 8),其中数量最多的免疫细胞是淋巴细胞,淋巴细胞聚集形成淋巴细胞岛(图版 I : 8),其中又以小淋巴细胞居多。在脾髓中各类原始型细胞和幼稚型细胞占有一定的比例。包括原淋巴细胞、幼淋巴细胞、原粒细胞和幼粒细胞等。脾髓中有脾窦结构(图版 I : 9),由脾细胞包绕,脾内神经纤维甚多,多为无髓鞘纤维,在动脉管的肌组织里和脾膜内较易看到。脾脏中,有一些腺体分布(图版 I : 10),腺细胞呈立方形,核位于基部,外周由扁平上皮组织分隔。秉志认为是渗入脾脏内的胰腺组织。

2.2 PHA 注射前后兴国红鲤头肾和脾脏免疫细胞(表 1)

表 1 PHA 注射前后兴国红鲤头肾、脾脏 5 种细胞的变化(t—检验)

Tab. 1 The Comparison of t test of 5 kinds of cells in the head kidney and spleen of Xingguo Red Carp, injected with PHA, and the control group

细胞类型	头肾			脾脏		
	试验组 ( $\bar{X} \pm SD$ )	对照组 ( $\bar{X} \pm SD$ )	显著性(t) 检 验	试验组 ( $\bar{X} \pm SD$ )	对照组 ( $\bar{X} \pm SD$ )	显著性(t) 检 验
小淋巴细胞	56.40±5.59	42.80±2.59	+	41.05±3.56	20.10±3.08	++
大淋巴细胞	27.80±1.30	12.40±1.14	++	12.89±1.58	5.38±1.54	++
粒细胞	20.60±3.65	21.80±2.77	-	5.38±0.82	3.05±0.74	-
巨噬细胞	11.20±2.48	7.80±1.30	+	26.08±4.15	17.18±1.90	+
原细胞和 幼稚细胞	56.20±1.92	17.00±2.00	++	38.36±5.15	17.90±2.15	++

注:“++”表示差异极显著;“+”表示差异显著;“-”表示差异不显著(测定次数 5 次)

### 3 讨 论

#### 3.1 兴国红鲤头肾和脾脏组织结构和免疫细胞

鱼类头肾和脾脏是重要的免疫和造血器官<sup>[2-6]</sup>。兴国红鲤头肾和脾脏组织结构与鲤的大致相同。头肾主要由网状淋巴组织构成,这与卢全章<sup>[7]</sup>、钟明超等<sup>[8]</sup>和 Dalmo<sup>[9]</sup>等的结果相近,兴国红鲤头肾外包结缔组织外被膜,卢全章在草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)头肾中未观察到结缔组织外被膜,只有一层胶原纤维包裹。脾脏中,可以观察到一些胰腺泡,说明胰腺组织渗入脾脏内。在兴国红鲤头肾和脾脏中有各种发育阶段的原始细胞(包括原红细胞、原粒细胞、原淋巴细胞和原巨噬细胞等),而且原始细胞的数量所占比例较高。同时可以观察到淋巴细胞、粒细胞和巨噬细胞等。原始细胞和幼稚细胞数量在头肾和脾脏无甚差别,而头肾内的小淋巴细胞、大淋巴细胞和粒细胞的平均数量分别是42.8%、12.40%、21.80%,远高于脾脏的20.10%、5.38%和3.05%。脾脏内的巨噬细胞均数17.16%远高于头肾的7.80%,说明头肾和脾脏在兴国红鲤非特异性免疫中各有特点,并都十分重要。

#### 3.2 PHA 对兴国红鲤头肾和脾脏免疫细胞的影响

PHA 作为一种免疫细胞刺激剂已有较多的报道<sup>[10, 11]</sup>。在虹鳟(*Salmo gairdneri*)的头肾和脾脏中发现了有抗体形成细胞,在抗原的刺激下,抗体首先由头肾的细胞产生,随后由脾脏的细胞增量。林义浩等采用体内注射 PHA 方法观察到草鱼头肾等组织出现许多中期分裂相的细胞,主要是小淋巴细胞转化为淋巴母细胞,从而导致淋巴细胞的大量增生,受抗原激发的淋巴细胞经转化为浆细胞后又可产生抗体<sup>[8]</sup>。PHA 还可刺激 T 淋巴细胞分裂增殖,在体内能促进机体的细胞免疫功能,调节体液免疫功能<sup>[10-12]</sup>。本研究中可以观察到类似的现象,兴国红鲤头肾和脾脏经 PHA 免疫后,小淋巴细胞、大淋巴细胞、原始型细胞(幼稚细胞)都有显著的增加,而其中又以大淋巴细胞、小淋巴细胞最为明显,原始型细胞(幼稚细胞)次之,而粒细胞的数目变化不明显,说明 PHA 主要有刺激淋巴细胞增生的作用,同时 PHA 也能促进兴国红鲤头肾和脾脏中巨噬细胞的增生,提高鱼体对抗原的吞噬反应。Wolke<sup>[13]</sup>认为,鱼类在外部环境或生理状况改变时会产生巨噬细胞的增生和聚集。从结果还可看出,PHA 对刺激脾脏内淋巴细胞的增生要较头肾强,对刺激脾脏和头肾内巨噬细胞增生的能力相似,而对刺激头肾内的原始型细胞(幼稚细胞)的增殖能力远高于脾脏。

#### 参考文献:

- [1] 秉志. 鲤鱼组织[M]. 北京: 科学出版社, 1983
- [2] 秦国强, 王浩, 黄金生. 鲤里和鲫鱼脾脏显微和亚显微结构的研究[J]. 水生生物学报, 1983, 8(1): 63—65
- [3] 郭琼林, 卢全章. 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
- [4] 杨先乐. 鱼类免疫研究进展[J]. 水产学报, 1989, 13(7): 271—283
- [5] 李亚男, 陈全震, 邵健忠, 等. 鱼类免疫学研究进展[J]. 动物学研究, 1995, 16(1): 83—94
- [6] 李亚男, 陈全震, 邵健忠, 等. 草鱼外周血淋巴细胞体外转化诸因子的研究[J]. 海洋湖沼, 1996, 27(4): 380—385
- [7] 卢全章. 草鱼头肾免疫细胞超微结构的观察[J]. 动物学研究, 1997, 21(2): 152—155
- [8] 钟明超, 黄浙. 鲢鱼淋巴样器官的发育[J]. 水产学报, 1995, 19(3): 258—262

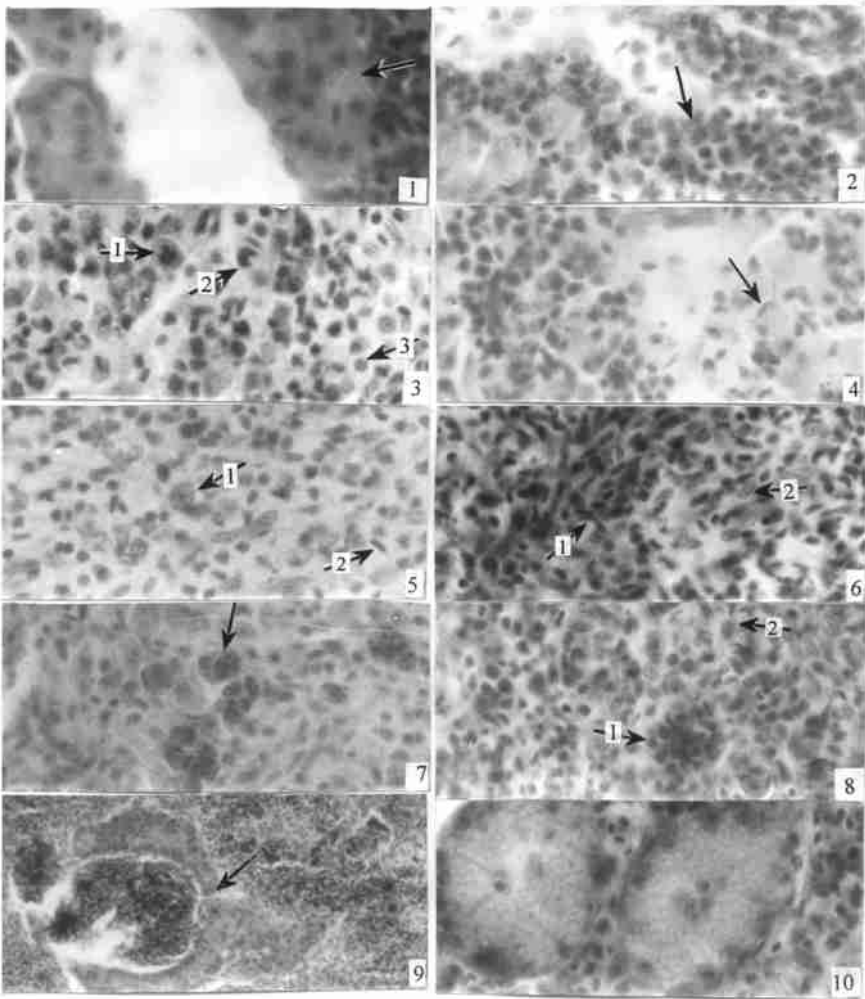
- [ 9 ] Dalmo R A, Ingebrigtsen K, Bogvald J. Non specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticulo endothelial System( RES)[ J]. *Journal of Fish Diseases*, 1997, **20**: 241—273
- [ 10 ] 林义浩. 快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相的 PHA 体内注射法[ J]. *水产学报*, 1982, **6**( 3 ):201—207
- [ 11 ] 林义浩, 钟良明, 温其添, 等. 草鱼出血病免疫刺激防治的研究[ J]. *淡水渔业*, 1983, **5**: 25—32
- [ 12 ] Grane M F, Manning M J. Histogenesis of the lymphoid organs in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. 1836 [ J]. *Dev. Comp. Immunol.* 1980, **4**: 225—264
- [ 13 ] Wolke R E. Piscine macrophage aggregates: a review[ J]. *Anne. Rev. Fish Dis.* 1992, **2**:91—108

## THE COMPARATIVE HISTOLOGY OF SPLEEN AND HEAD KIDNEY IN XINGGUO RED CARP ( *CYPINUS CARPIO* VAR. *SINGUONESIS* ) INJECTED BY PHYTOHEMAGGLUTININ(PHA)

HU Cheng-yu, HONG Yi-jiang, WANG Jun-hua, YU Zhi-jian and LIN Guang-hua  
( *College of Life sciences and food Engineering, Nanchang university, Nanchang 330047* )

**Abstract:** The head kidney and the spleen in Xingguo Red Carp were being compared between the fish injected with PHA and the normal group. It shows that histology of spleen and head kidney are similar to the nor injection group. The head kidney is lymphoid organ which is composed of many sinusoids, blood vessels and lymphous sinusoids. The tegument surround the head kidney. The spleen is substantial organ which penetrate by the tissue of pancreas. The lymphocytes concentrate in group in spleen. The number of lymphocytes, macrophages and hamocytoblasts increase evidently in both head kidney and spleen of the fish injected with PHA. On the contrary, the number of granulocyte do not increase.

**Key words:** Phytohemagglutinin; Head kidney; Spleen; Histology; *Cyprinus carpio* var *singunensis*



图版 I

1. 头肾中血管,  $\times 480$ ; 2. 头肾中淋巴索, 索内充满淋巴细胞,  $\times 480$ ; 3. 头肾, 箭头 1 示巨噬细胞, 箭头 2 示淋巴索, 箭头 3 示幼稚淋巴细胞,  $\times 480$ ; 4. 头肾中粒细胞,  $\times 480$ ; 5. 头肾中大淋巴细胞和红细胞,  $\times 480$ ; 6. 脾脏中箭头 1 示红细胞, 箭头 2 示幼稚红细胞,  $\times 480$ ; 7. 脾脏中巨噬细胞,  $\times 480$ ; 8. 脾脏, 箭头 1 示淋巴细胞岛, 箭头 2 示幼稚淋巴细胞,  $\times 480$ ; 9. 脾脏中脾窦  $\times 130$ ; 10. 脾脏中胰腺组织,  $\times 480$
1. showing the blood vessel in head kidney,  $\times 480$ ; 2. the lymphous sinusoid and lymphocytes in head kidney,  $\times 480$ ; 3. the arrowhead 1 showing macrophage, arrowhead 2 showing lymphous sinusoid, arrowhead 3 showing immature lymphocyte in head kidney,  $\times 480$ ; 4. the arrowhead showing granulocyte in head kidney,  $\times 480$ ; 5. the arrowhead 1 showing large lymphocyte, arrowhead 2 showing erythrocytes in head kidney,  $\times 480$ ; 6. arrowhead 1 showing erythrocyte, arrowhead 2 showing immature erythrocyte in the spleen,  $\times 480$ ; 7. the arrowhead showing macrophage in the spleen,  $\times 480$ ; 8. arrowhead 1 showing the lymphous concentration, arrowhead 2 showing immature lymphocyte in the spleen,  $\times 480$ ; 9 spleen sinusoid,  $\times 130$ ; 10. the tissue of pancreas in the spleen,  $\times 480$