

海鳗外周血细胞的显微结构^{*}

谢嘉华 陈朝阳

(泉州师范学院生物学系 泉州 362000)

摘要: 对海鳗外周血液有形成分用常规 Wright 氏和 Giemsa 氏染色并进行显微观察,可鉴别出红细胞、血栓细胞、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和酸性粒细胞;还见到幼稚的、正在分裂的、分解和解体状态的红细胞;未发现碱性粒细胞。红细胞数量多,椭圆形,具椭圆形核;白细胞中血栓细胞最多,分散分布,形态多样;淋巴细胞、单核细胞、中性和酸性粒细胞与其它鱼类的基本相似。

关键词: 海鳗;血细胞;显微结构

中图分类号: Q954, Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)06-14-05

Microscopic Structures of the Peripheral Blood Cells in the Pike Eel *Muraenesox cinereus*

XIE Jia-Hua CHEN Chao-Yang

(Department of Biology, Quanzhou Normal College, Quanzhou 362000, China)

Abstract: The peripheral blood cells of the pike eel *Muraenesox cinereus* were stained by Wright's and Giemsa's stain. Six major cell types, erythrocyte, thrombocyte, lymphocyte, monocyte, neutrophil granulocyte and eosinophil granulocyte, were recognized by using light microscope on the stained smears. In addition, the immature, dividing, dissolved and "nuclear shadow" erythrocyte were also found. But basophil granulocyte was not found in blood smears. Among these cells, the erythrocyte was the most abundant, ellipsoid and with an ellipsoid nucleus. Among the leucocytes,

* 福建省教育厅科技项目(No. JA02250);

第一作者介绍 谢嘉华,女,40岁,硕士研究生,副教授;主要从事动物解剖和生理学教学和研究;E-mail: xjh9212003@sohu.com。

收稿日期:2002-12-18,修回日期:2003-07-10

thrombocyte was the most abundant, disperse and with four shapes. Lymphocyte, monocyte, neutrophil granulocyte and eosinophil granulocyte were basically similar to other fishes.

Key words: *Muraenesox cinereius*; Blood cell; Microscopic structure

鱼类血细胞是机体免疫的重要成分,关于鱼类血细胞形态结构的研究,国内外已有不少资料,如鲛鱼、鳙鱼、鲢鱼、鳊鱼^[1]、鳗鲡^[2]、鳊鱼^[3]、黄颡鱼^[4]、鳊^[5,6]、斑鲂^[7]、鲮^[8]、小点猫鲛^[9,10]、暗纹东方鲀^[11]、鲤鱼、草鱼^[12-14]、日本白鲫^[15]、大弹涂鱼^[16]、鲫鱼^[17]、南极鳕鱼^[18]、丽鱼^[19]、金鱼^[20]等。但这些研究多集中在淡水鱼类。海鳗(*Muraenesox cinereius*)是分布广、营养价值高、大众喜食的海水主要的经济鱼类之一,目前国内外对海鳗血细胞形态的研究尚未见报道。本文就海鳗血细胞的显微结构进行了研究,以资参考。

1 材料与方法

1.1 材料 实验用海鳗购于福建泉州市农贸

市场,共6尾,雌雄不拘,健康无病,体重0.85~1.30 kg,体长88~95 cm,鱼龄2龄以上,性成熟系数0.38%~0.46%。

1.2 实验方法 断尾法采血,血液直接在洁净载玻片上涂片,晾干后,分别按常规Wright氏和Giemsa氏染液染色,Olympus显微镜观察、测量。每尾鱼选2张血涂片,对其上的3151个白细胞进行分类计数(用DLC表示)。细胞大小(长径×短径)取60次测量的平均值。

2 结果

2.1 白细胞分类计数和各类血细胞大小测定 见表1。

表1 白细胞分类计数和各类血细胞大小

白细胞分类计数值		细胞大小	胞核大小
DLC(%)		(μm)	(μm)
红细胞		(12.68 ± 0.81) × (8.15 ± 0.75)	(4.28 ± 0.51) × (2.56 ± 0.17)
血栓细胞	63.6	(10.86 ± 1.55) × (5.16 ± 0.66)	(6.09 ± 0.71) × (3.03 ± 0.54)
淋巴细胞	19.4	(7.83 ± 1.19) × (6.78 ± 1.12)	(5.95 ± 1.13) × (5.11 ± 0.87)
单核细胞	4.3	(12.76 ± 1.61) × (11.19 ± 1.27)	(7.87 ± 1.22) × (5.76 ± 0.95)
中性粒细胞	12.1	(14.44 ± 1.56) × (12.13 ± 1.41)	(6.85 ± 0.96) × (4.82 ± 0.42)
酸性粒细胞	0.6	(13.65 ± 0.95) × (12.59 ± 0.64)	(4.99 ± 0.65) × (4.45 ± 0.87)

表中除白细胞分类计数值外其余数据皆为平均值 ± 标准差(SD)

2.2 血细胞的显微结构 血涂片分别用Wright氏和Giemsa氏染色法染色,Wright氏染色剂使胞浆尤其是中性粒细胞的颗粒着色清晰,Giemsa氏染色剂使胞核着色清晰,各类血细胞在两种染色剂下的着色反应一致。

海鳗外周血涂片中,椭圆形的红细胞占绝大多数,少数单个或三五成群的白细胞分散于密集的红细胞之间。

红细胞:分为正常红细胞(包括成熟红细胞和幼稚红细胞)及分解和解体状态的红细胞。成熟红细胞椭圆形,表面光滑,核椭圆形,位于细胞中央。核内含有致密染色质团块,染成深

紫红色。胞质内充满血红蛋白,染成均匀的浅紫红色。血涂片中偶而可见直接分裂的红细胞;幼稚红细胞数量较少(少于成熟红细胞的1/10),胞体及胞核均较圆,略大于成熟红细胞,着色较成熟红细胞浅;分解红细胞较正常红细胞显著增大,核也显著增大。染色质成疏网状,染成玫瑰红色。胞质染色很浅,常看到细胞膜破裂的现象。“核影”红细胞裸核状,无细胞质,比分解红细胞的核更大。染色质疏网状,染成玫瑰红色,颜色随体积的增大而渐浅(图版I:1,2)。

白细胞:按Ehrlish标准,将海鳗白细胞分

为血栓细胞、淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和酸性粒细胞。

血栓细胞:在血涂片中常单个分布,偶见有数个集合在一起。细胞呈纺锤形、圆锥形、椭圆形、长杆形。核椭圆形或长椭圆形,与细胞形态相适应。核质比例大,致密染色质染成蓝紫色。胞质染成浅灰蓝色,分布于两极或在核外围成极薄的一圈,有时甚至看不清楚。偶见血栓细胞分裂现象(图版 I:3~5)。

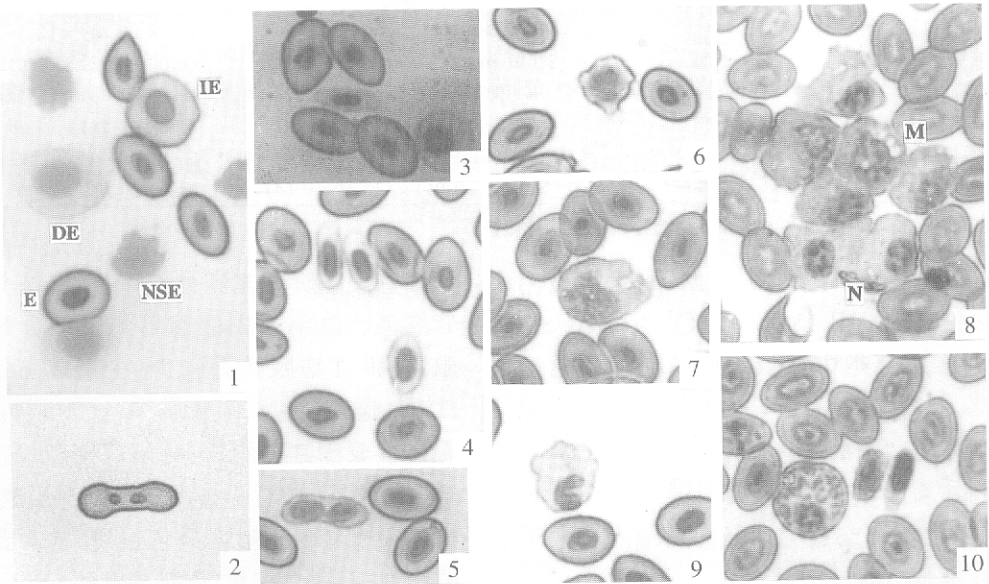
淋巴细胞:是白细胞中个体较小的细胞。细胞呈圆形或不规则圆形。核圆形,有的在胞质较多的一侧有缺刻,中位或偏于一侧。核所占比例大,核中染色质浓密,染成蓝紫色。胞质染成浅蓝色,呈一薄层围于核外,常向外伸出伪足样突起(图版 I:6)。淋巴细胞有时与血栓细胞难以区分,特别是当血栓细胞的长径较短时。在同一张涂片上比较,淋巴细胞的胞体及胞核均较圆,着色也比血栓细胞略深,且胞质常向外伸出伪足样突起。

单核细胞:细胞圆形、卵圆形或椭圆形,常有伪足样胞质突起。核卵圆形或肾形,多偏于

一侧,也有位于中央位或略偏于中央位。染色质疏松网状,染成紫红色。胞质较丰富,染成蓝色,近核膜处较淡,胞质中有许多大小不等的空泡,空泡间有蓝紫色颗粒散布。小的单核细胞与较大的淋巴细胞形态结构较相似,但前者一般体积较大,而核质比例较小,胞质更丰富且着色更深,核的形状也较不规则(图版 I:7,8)。

中性粒细胞:细胞形态多样,呈圆形、卵圆形、椭圆形、近似长方形或不规则形状,以卵圆形居多,边缘常有波纹状小突起。核较大,形状多样,呈圆形、椭圆形、肾形、哑铃形、分叶状,偶见两个以上核。核染成浅紫红色,偏于细胞一侧。胞质丰富,染成浅蓝至浅粉红色,其中充满淡紫红色小颗粒(图版 I:8,9)。中性粒细胞与单核细胞有时难以区分,前者胞体较大,胞核较小,不超过整个细胞的 1/3,胞核和胞质染色比单核细胞浅。

酸性粒细胞:细胞圆形,核圆形偏于一侧,染成紫红色。胞质染成浅粉红色,胞质中嗜酸性颗粒较粗大,染成紫红色,近细胞膜处分布较多(图版 I:10)。



图版 I 海鳗外周血细胞的显微图像 × 800

1. 成熟红细胞(E)、幼稚红细胞(IE)、分解红细胞(DE)、核影红细胞(NSE); 2. 直接分裂的红细胞; 3、4. 血栓细胞; 5. 直接分裂的血栓细胞; 6. 淋巴细胞; 7. 单核细胞; 8. 单核细胞(M)与中性粒细胞(N); 9. 中性粒细胞; 10. 酸性粒细胞

3 讨 论

海鳗外周血涂片的有形成分中,红细胞占绝大多数。白细胞中,血栓细胞最多,这与鲛鱼、鳙鱼、鲢鱼、鲑鱼^[1]、鳗鲡^[2]、鳐鱼^[3]、黄颡鱼^[4]、鲮^[5,6]、斑鲳^[7]、鲷^[8]、小点猫鲨^[9]、暗纹东方鲀^[11]相同;单核细胞最少,与鲛鱼、鳙鱼、鲢鱼、鲑鱼^[1]、鳗鲡^[2]、鳐鱼^[3]、鲮^[5,6]、斑鲳^[7]、鲷^[8]、小点猫鲨^[9]、暗纹东方鲀^[11]、鲤鱼、草鱼^[12,13]、日本白鲫^[15]、大弹涂鱼^[16]、鲫鱼^[17]相同。粒细胞中,中性粒细胞最多,酸性粒细胞较少,未见到碱性粒细胞,这与鳗鲡^[2]、鳐鱼^[3]、鲤鱼、草鱼^[12,13]、日本白鲫^[15]、大弹涂鱼^[16]相同。至于海鳗各类血细胞的大小与其它鱼类基本一致。

鱼类成熟红细胞为椭圆形的中心凸出的细胞,与哺乳类红细胞的重大区别是具有一个细胞核。幼稚红细胞呈圆形略大于成熟红细胞,胞质及胞核染色均较成熟红细胞略浅。根据红细胞的发生,由原红细胞经幼稚红细胞到成熟红细胞,胞体及胞核均由大变,形态由圆形变为椭圆形,核固缩浓染^[21]。海鳗外周血中所见到的成熟及幼稚红细胞的形态也证实了这点。此外,作者还观察到,成熟红细胞除椭圆形外,还有部分呈不规则形状,它们多分布在涂片不均匀的地方。因此,可认为这种不规则形状并非红细胞的正常形态,而是由外界因素造成的变形。

红细胞直接分裂现象也被观察到,但数量甚少,且个体间有差异,与幼稚红细胞的数目也不成比例,说明红细胞主要由造血器官产生后释放入外周血。

在海鳗外周血涂片中还广泛观察到“核影”红细胞(由于某些因素造成红细胞膜破裂,胞质外溢,而其核仍在血液中存在一段时间)以及由成熟红细胞到“核影”红细胞的过渡类型——分解红细胞。“核影”红细胞是红细胞衰老过程中的形态表现,观察中发现,不同个体甚至同一个体的不同血涂片中,“核影”红细胞的数目差异较大。影响“核影”红细胞数量的因素是多方面的^[16],作者认为主要与取材时鱼体自身的生理

状态有关,其次则是制片过程中外界因素的影响。

血栓细胞是鱼类中具有凝血作用的细胞,它具有哺乳动物血小板的功能,在外周血中一般成群分布,且数量多。海鳗血栓细胞数量多,形态多样,有纺锤形、圆锥形、椭圆形和长杆形,与鳐鱼^[3]、鲮^[5]、日本白鲫^[15]相同,但在外周血中却分散分布而表现出与日本白鲫相同^[15]。Ellis^[6]认为这4种形态只有在不使用抗凝剂的情况下才出现,是采血时鱼体受到不同程度刺激的应激反应。Rowley等^[22]认为若使用合适的抗凝剂,血栓细胞即为卵圆-纺锤形,并推测这可能是其活体中的正常形态;而血栓细胞在外周血中成群分布则是由于涂片过慢或在此之前血样已有部分凝固所致。鉴于此,本研究以使用抗凝剂肝素钠和不使用抗凝剂作为对照,发现4种形态的血栓细胞始终存在,且分散分布。因此,作者赞同Barber等^[18]的推测,即这种形态的不同显示了发育时期或功能状态的不同,而且也体现了种间差异。

海鳗淋巴细胞的显微结构与其它鱼类无明显差异,大小之间也无绝对的分界。研究表明,血液中的小淋巴细胞并非是终末细胞,而只是处于静止不活跃状态,一旦遇到合适的刺激,细胞形态又可变大,重新进行细胞分裂和分化^[23]。因此,作者赞同不同大小的淋巴细胞可能代表了同一种细胞的不同功能状态的观点^[6]。

单核细胞存在于所有脊椎动物中,担负着非特异性免疫的重要作用^[10]。鱼类单核细胞有较多的胞质突起,胞质中含有较多的液泡和吞噬物,说明它可以进行活跃的变形运动,这在鳐鱼^[3]、鲮^[6]、斑鲳^[7]、小点猫鲨^[9,10]、鲤^[14]、日本白鲫^[15]、鲫鱼^[17]、丽鱼^[19]等多种鱼类已得到证实。中性粒细胞存在于所有硬骨鱼类血液中,有吞噬和消化机能,能做变形运动^[24],参与机体的炎症反应^[25]。海鳗单核细胞和中性粒细胞的数量在不同个体间存在差异,且两者间有一定的相关性。据报道^[1],寄生虫病可引起鱼血液中单核细胞的骤增。实验中通过解剖发

现,海鳗消化道中普遍存在寄生虫,这进一步证实了前人的推论。

参 考 文 献

- [1] 徐豪,张志宇.四种淡水养殖鱼类血细胞的细微结构.水生生物学集刊,1983,8(1):85~91.
- [2] 朱越雄,曹广力.鳊鱼血液细胞的研究.水产养殖,1997(4):18~20.
- [3] 袁仕取,张永安,姚卫建等.鳊鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察.水生生物学报,1998,22(1):39~47.
- [4] 刘金兰,余文斌.黄颡鱼外周血细胞显微结构研究.湖北农学院学报,2000,20(4):351~353.
- [5] Ellis A E. Leucocytes and related cells in the Plaice *Pleuronectes platessa*. *J Fish Biol*, 1976,8:143~156.
- [6] Ellis A E. The leucocytes of fish: a review. *J Fish Biol*, 1977,11:453~491.
- [7] Cannon M S, Mollenhauer H H, Eurell T E, et al. An ultrastructural study of the leukocytes of the Channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J Morphol*, 1980,164:1~23.
- [8] Roubal F R. Blood and other possible inflammatory cells in the sparid *Acanthopagrus australis* (Günther). *J Fish Biol*, 1986,28:573~593.
- [9] Parish N, Wrathmell A, Hart S, et al. The leucocytes of the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L—a morphological study. *J Fish Biol*, 1986,28:545~561.
- [10] Morrow W J W, Pulsford A. Identification of peripheral blood leucocytes of the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L) by electron microscopy. *J Fish Biol*, 1980,17:461~475.
- [11] 顾曙余,殷宁,赵清良等.暗纹东方鲀外周血细胞的显微结构观察.水利渔业,2000,20(6):1~2.
- [12] 赵明蓟,苏泽古,黄文郁等.池养鲤和草鱼血液学指标的研究.水生生物学集刊,1979,6(4):453~464.
- [13] 林光华,张丰旺,翁世骥.草鱼血液的研究.动物学报,1985,31(4):336~343.
- [14] 冯怀亮,李文武,王铁恒等.鲤鱼血细胞显微和亚显微结构的观察.水产学报,1991,15(3):241~244.
- [15] 谢艳霞,林光华.日本白鲫外周血细胞显微及亚显微结构的研究.动物学杂志,1996,31(1):12~16.
- [16] 曹伏君,李长玲,刘楚吾.大弹涂鱼血液的研究.海洋湖沼通报,2000(2):11~15.
- [17] 朱洪文,王浩,秦国强.鲫鱼外周血细胞显微和亚显微结构的观察.动物学研究,1985,6(2):147~153.
- [18] Barber D L, Mills Westermann J E, White M G. The blood cells of the Antarctic icefish *Chaenocephalus aceratus* Lonnberg: light and electron microscopic observations. *J Fish Biol*, 1982,19:11~28.
- [19] Doggett T A, Wrathmell A B, Harris J E. A cytochemical and light microscopical study of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus* Cichlidae. *J Fish Biol*, 1987,31:147~153.
- [20] Fujimaki Y, Isoda M. Fine-structural study of leucocytes in the goldfish, *Carassius auratus*. *J Fish Biol*, 1990,36:821~831.
- [21] 郭琼林,卢全章.草鱼肾脏和脾脏血细胞发育过程的观察.水生生物学报,1993,17(1):40~45.
- [22] Rowley A F, Hunt T C, Page M, et al. Fish. In: Rowley A F, Ratcliffe N A, Eds. Vertebrate Blood Cells. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 19~127.
- [23] 上海第一医学院主编.组织学.北京:人民卫生出版社,1983.140~154.
- [24] 林浩然编著.鱼类生理学.广州:广东高等教育出版社,1999.82~87.
- [25] 周玉,郭文场,杨振国.鱼类血细胞的研究进展.动物学杂志,2001,36(6):55~57.