

# He-Ne 激光照射罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维的电镜观察

姚泊<sup>①</sup> 黄丽宜<sup>②</sup> 曹爱娣<sup>②</sup> 梁美玉<sup>②</sup>

(<sup>①</sup> 广州大学基因功能和生物芯片研究中心 广州 510405; <sup>②</sup> 广州大学生物与化学工程学院 广州 510405)

**摘要:** 用 He-Ne 激光照射罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的腹髓鞘神经纤维, 结果表明, 神经胶质细胞为不规则形, 核的一端较大, 另一端分叉, 半包裹着轴突, 呈蝴蝶形, 核的横轴直径为  $3.07 \mu\text{m}$ , 轴突直径为  $1.53 \mu\text{m}$ ; 在髓鞘中普遍出现增厚的膜层结构, 且膜层结构厚薄不一, 具有高嗜钨性、电子密度大, 正常的膜层厚度为  $33.33 \text{ nm}$ , 增厚的膜层厚度可达  $100 \text{ nm}$ 。在两膜层之间存在着许多颗粒状物质。

**关键词:** He-Ne 激光; 罗氏沼虾; 髓鞘神经纤维; 超微结构

中图分类号: Q954.Q421 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2005)01-72-04

## The EM Observation on the Myelinated Nerve Fiber of *Macrobrachium rosenbergii* Radiated by He-Ne Laser

YAO Po<sup>①</sup> HUANG Li-Yi<sup>②</sup> CAO Ai-Di<sup>②</sup> LIANG Mei-Yu<sup>②</sup>

(<sup>①</sup> Genomic Function and Biological Microarray Research Center, Guangzhou University, Guangzhou 510405;

<sup>②</sup> College of Biology and Chemistry Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510405, China)

**Abstract:** The structure of myelinated nerve fiber in the abdomen of *Macrobrachium rosenbergii* radiated by He-Ne laser was observed with electronic microscopy. It was found that the shape of the glial cell was irregular. The nucleus was butterfly-like in shape, with one end being expanded and the other end being fork-like. The axon was partly wrapped by the fork-like end of the nucleus. The nucleus measured  $3.07 \mu\text{m}$  and the axon measured  $1.53 \mu\text{m}$  in diameter. There were thicker membrane structures in the myelinated nerve fibers in the radiated group than in the normal group. The width of the normal membrane was  $33.33 \text{ nm}$ , while the width of the thicker membrane was  $100 \text{ nm}$ . There were many granules between membrane structures.

**Key words:** He-Ne laser; *Macrobrachium rosenbergii*; Myelinated nerve fiber; EM observation

有髓鞘神经纤维广泛存在于脊椎动物的神经系统, 而无脊椎动物的神经纤维大都属于无髓鞘神经纤维。由于在虾和蟹等甲壳类动物中, 其神经系统具有髓鞘神经纤维这一特殊的结构, 因此, 很早以前就引起人们的注意, 并对日本沼虾 (*Macrobrachium nipponensis*)、对虾 (*Penaeus orientalis*)、罗氏沼虾 (*M. rosenbergii*)、周氏新对虾 (*Metapenaeus joyneri*)、中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 的髓鞘神经纤维、神经细胞结构等进行了研究<sup>[1-5]</sup>。近年来, 有不少人开展用激光照射虾类动物的各种组织细胞, 研究这些虾类动物各种组织的细胞结构、同工酶的变化<sup>[6-8]</sup>, 甚至用激光照射虾眼柄的神经

分泌细胞, 诱导其性腺成熟和产卵<sup>[9]</sup>。但有关用激光照射罗氏沼虾的腹部髓鞘神经纤维, 观察其变化的情况尚未见报道。本文在这方面进行了相关的研究。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 实验所用的罗氏沼虾购自广州桂花岗市场、三元里市场, 体长为  $7.9 \sim 13.0 \text{ cm}$ , 体重为  $7.5 \sim$

第一作者介绍 姚泊, 男, 博士, 副教授; 研究方向: 甲壳类动物、虾、蟹) 神经系统和病害的研究。

收稿日期 2004-08-09, 修回日期 2004-11-04

21.6 g。

**1.2 实验条件与管理** 养殖箱为 138 cm × 55 cm × 54 cm, 养殖水体为 2/3, 自来水经暴气并静放数天后使用; pH 值为 6.0~7.0, 水温为 19~24℃, 每天光照 12 h; 每天早晚投喂, 定时定量, 24 h 充气, 每天排污; 罗氏沼虾人工养殖 2 d 后再进行实验。

**1.3 激光照射方法** 采用单偏振、单模的 He-Ne 激光器, 输出功率为 11 mW, 光斑直径为 0.5 cm, 原束照射。用湿纱布包裹虾的头胸部, 露出照射部位, 倒置放在解剖盘上照射激光 20 min, 照射距离为 0.9 cm。照射后养殖 12 h, 然后取经照射的腹神经组织。

**1.4 电镜样品制备** 把经激光照射的罗氏沼虾腹神经索切成大小为 1 mm × 1 mm × 1 mm 的样品, 在 4% 的戊二醛固定液(0.1 mol/L 二甲砷酸钠缓冲液, pH 7.4)中固定。然后经磷酸缓冲液冲洗 3 次, 每次 30 min 以上。1% 锇酸固定液(0.1 mol/L 磷酸缓冲液, pH 7.2)固定 2 h, 磷酸缓冲液冲洗 3 次, 每次 30 min 以上。经丙铜系列脱水, Epon's 812 液渗透包埋, Epon's 812 液聚合条件为 37℃ 过夜, 60℃ 12 h 以上。AO 超薄切片机切片, 切片厚度为 50~100 nm。切片经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色之后在 Xphilips EM400 透射电镜下观察。

## 2 结果

**2.1 神经胶质细胞** 神经胶质细胞为不规则形(图版 I)核的一端较大, 另一端分叉, 半包裹着轴突, 呈蝴蝶形(图版 I:1C)。轴突直径为 1.53 μm。在轴突和胶质细胞的外部有髓鞘包裹着(图版 I:1D)。在部分髓鞘之间还存在空隙(图版 I:1H)。核的横轴直径为 3.07 μm。电子密度大的染色质即异染色质主要分布于核的边缘(图版 I:1A), 但在核中央也观察到少量明显的电子密度大的染色质小块, 电子密度小的染色质即常染色质主要分布在核的中央部分(图版 I:1B)。

**2.2 髓鞘结构** 罗氏沼虾腹部髓鞘神经纤维中直径大小不一的切面, 为圆形或者椭圆形(图版 I:2)。有的髓鞘神经纤维直径为 8.33 μm, 轴突直径为 6.00 μm(图版 I:2C)。髓鞘层厚度平均为 1.12 μm, 在髓鞘的膜层之间存在着许多泡状物和颗粒状物质。在髓鞘层中存在着膜层增厚的现象。增厚的膜层具有高嗜锇性, 电子密度大(图版 I:2 小箭头), 且厚薄不一, 增厚的膜层厚度可达 100 nm; 正常的膜层不具有高嗜锇性, 电子密度小(大箭头), 厚度为 33.33 nm, 两者厚度相差 3 倍。在两膜层之间的距离, 其宽度不一, 并且存在着许多颗粒状物质(图版 I:4I)。

在髓鞘中, 还存在着由明暗交替的片层结构(图版

I:3)。膜层结构与片层结构有明显的不同。片层结构呈不连续的排列, 但厚度均匀。暗片层宽度为 42.67 nm, 明片层宽度为 26.67 nm(图版 I:3F, E)。

## 3 讨论

采用激光和不采用经激光照射的罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维的结构主要有以下不同: 前者的神经胶质细胞核的形状呈蝴蝶状, 髓鞘中普遍存在着膜层增厚现象。但对本身异染色质高度凝聚化的胶质细胞核来说, 两者的常染色质和异染色质比例的变化却不大, 电子密度大的异染色质均位于核的边缘。

根据细胞核的形态和大小, 以及核内异染色质的分布情况, 在电镜下观察到的这种神经胶质细胞属于少突胶质细胞, 其特点是核内异染色质主要分布在核内膜, 也有少量分布在核中央, 核呈圆形或椭圆形, 主要功能是形成神经系统的髓鞘。

作者曾经在未经激光照射的健康成体罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维中, 观察到这种类型的神经胶质细胞<sup>[3]</sup>, 其核的形状呈马蹄形, 电子密度大的异染色质也主要位于核的边缘。在中国对虾 *P. chinensis* 的腹髓鞘神经纤维中, Xu 等也观察到这种类型的细胞, 其核的形状呈马蹄形, 电子密度大的异染色质同样位于核的边缘<sup>[11]</sup>。在中华绒螯蟹的神经胶质细胞中, 具有形成髓鞘膜功能的胶质细胞在形态结构上也相似<sup>[4]</sup>。

黄丽宜等人用 He-Ne 激光照射罗氏沼虾脑神经组织的神经细胞, 发现细胞的形态结构发生了变化, 而没有观察到神经细胞核内的异染色质发生凝聚现象<sup>[8]</sup>。与这次电镜观察到的实验结果相一致。程惠贞等对激光照射后的罗氏沼虾神经节组织细胞进行酯酶同工酶活性的研究, 结果表明: 在 4 条酶带中, 只有 1 条酶带有明显的变化, 其余的酶带变化不大<sup>[6]</sup>。

在不采用激光照射的健康成体日本沼虾、罗氏沼虾、中国对虾腹髓鞘神经纤维的髓鞘中, 没有观察到有增厚的膜层结构<sup>[1,3,11]</sup>。这种增厚的膜层结构与不采用激光照射的日本沼虾和罗氏沼虾的腹髓鞘神经纤维中观察到的片层结构有明显的差别。片层结构为排列整齐、规则、且明暗交替, 片层的宽度相对一致, 为髓鞘中局部的高嗜锇性区域。

在经激光照射的罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维的髓鞘中, 还观察到一种片层结构。这种片层结构从形态上与叶容等在未经激光照射的健康成体罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维中观察到的片层结构相似<sup>[1]</sup>。但是, 其特点是没有高嗜锇性, 片层明暗交替, 暗层略宽于明层, 其明暗比例为 1/1.33, 而不是前者的 1/1。另外, 这种片层

的宽度暗片层为 42.67 nm, 明片层为 26.67 nm, 前者片层宽度超过 300 nm。这次观察到的片层结构是否同前者同属一类型, 还是受到激光照射后片层结构发生了变化, 还有待进一步的研究。

在髓鞘之间存在较大的间隙(图版 I H), 这可能是电镜样品在制备过程中形成的, 而不是髓鞘的自然状态。

从实验结果来看, 采用 He-Ne 激光照射后神经胶质细胞核的形态结构和髓鞘膜层结构都发生变化, 这说明激光对膜层结构有较大的影响。

在虾腹神经索中存在许多直径大小不一的神经纤维, Bullock 认为巨大的神经纤维具有遇到危急情况时立即作出迅速逃逸的反应功能<sup>[10]</sup>。除了罗氏沼虾这种腹髓鞘神经类型外, 还有其它的类型。在对虾属的种类如中国对虾腹神经纤维髓鞘结构中, 轴突外侧还有微管层和膜层两层结构, 在少突胶质细胞形成膜层结构的过程中, 膜层髓鞘和轴突之间会存在一个较宽的间隙<sup>[11]</sup>。Terakawa, Xu 等人 10 多年一直研究对虾髓鞘腹神经纤维的“跳跃传导”作用, 研究结果表明, 对虾的这些髓鞘神经纤维具有像恒温动物髓鞘神经纤维那样的快速传导, 但是传导的效率并没有那样高<sup>[12-15]</sup>。

## 参 考 文 献

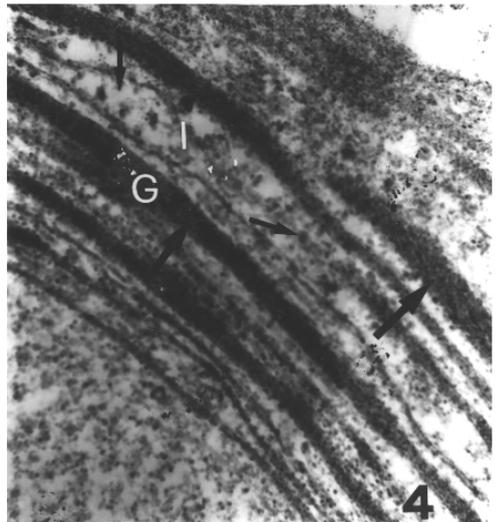
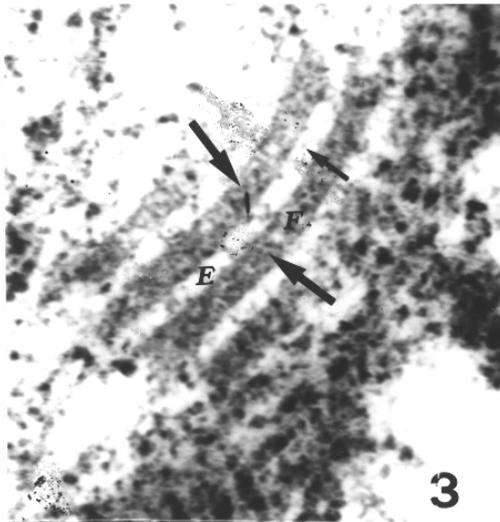
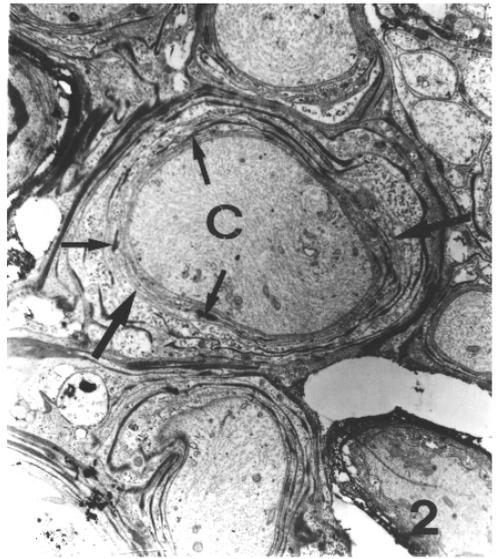
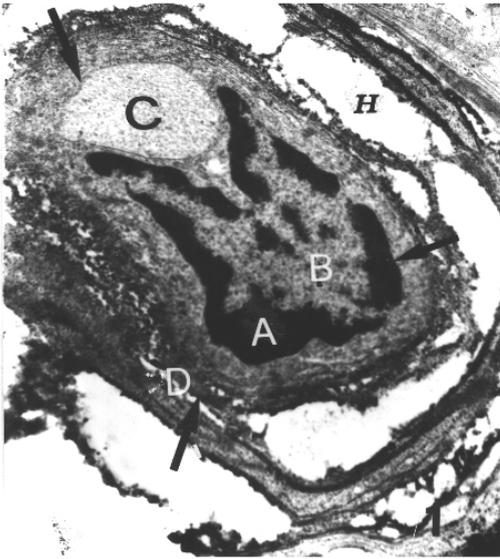
- [ 1 ] 叶容, 黄世楷. 沼虾神经纤维髓鞘的超显微结构. 生物化学与生物物理学报, 1962, 2(2): 93 ~ 96.
- [ 2 ] 徐科, 宋绣娥, 张铁蜂. 对虾神经纤维特有的轴突壁的微管结构. 动物学报, 1980, 26(3): 220 ~ 221.
- [ 3 ] 姚泊. 罗氏沼虾一种有髓鞘神经纤维的电镜观察. 动物学杂志, 1995, 30(3): 7 ~ 9.
- [ 4 ] 赵云龙, 李红, 王群等. 中华绒螯蟹神经细胞和胶质细胞的光镜和电镜观察. 动物学研究, 1999, 20(6): 411 ~ 414.
- [ 5 ] 姚泊, 黄丽宜. 周氏新对虾有髓鞘神经纤维的超微结构. 广州大学学报(自然科学版), 2003, 2(2): 114 ~ 116.
- [ 6 ] 程惠贞, 姚泊, 林慧贤等. 激光照射对罗氏沼虾酯酶同工酶的影响. 激光生物学报, 1997, 6(1): 978 ~ 982.
- [ 7 ] 姚泊, 马彦洪, 张永良. 脉冲 YAG 激光照射罗氏沼虾眼柄神经分泌细胞的电镜观察. 激光生物学报, 1998, 7(2): 108 ~ 110.
- [ 8 ] 黄丽宜, 姚泊, 梁美玉等. He-Ne 激光照射罗氏沼虾心脏、肌肉、鳃和脑神经节组织细胞光学显微镜观察. 激光生物学报, 2004, 13(2): 105 ~ 110.
- [ 9 ] 虞冰如等. 人工诱导日本沼虾卵巢的成熟和产卵的研究. 水产科技情报, 1990, 17(3): 66 ~ 68.
- [ 10 ] Bullock T H, Moore J K, Fields D. Evolution of myelin sheaths: both lamprey and hagfish lack myelin. *Neurosci Lett*, 1984, 48: 145 ~ 148.
- [ 11 ] Xu K(Ke Hsu), Susumu Terakawa. Review Fenestration nodes and the wide submyelinic space form the basis for the unusually fast impulse conduction of shrimp myelinated axons. *J Experimental Biology*, 1999, 202: 1978 ~ 1989.
- [ 12 ] Terakawa S, Hsu K. Ionic currents of the nodal membrane underlying the fastest saltatory conduction in myelinated giant nerve fibers of the shrimp *Penaeus japonicus*. *J Neurobiol*, 1991, 22: 342 ~ 352.
- [ 13 ] Xu(Hsu) K, Terakawa S. Saltatory conduction and a novel type of excitable fenestra in shrimp myelinated nerve fibers. *Jap J Physiol*, 1993, 43(Suppl. 1): S285 ~ S293.
- [ 14 ] Hsu K, Terakawa S. Fenestration in the myelin sheath of nerve fibers of the shrimp: a novel node of excitation for saltatory conduction. *J Neurobiol*, 1996, 30: 397 ~ 409.
- [ 15 ] Xu(Hsu) K, Terakawa S. Saltatory conduction and a novel type of excitable fenestra in shrimp myelinated nerve fibers. *Jap J Physiol*, 1993, 43(Suppl. 1): S285 ~ S293.

姚 泊等 :He-Ne 激光照射罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维的电镜观察

图版 I

YAO Po *et al.* : The EM Observation on the Myelinated Nerve Fiber of *Macrobrachium rosenbergii* Radiated by He-Ne Laser

Plate I



经激光照射罗氏沼虾腹髓鞘神经纤维结构

1. 横切面 × 6 800 ; 2. 横切面 × 2 900 (小箭头 : 增厚的膜层结构 ; 大箭头 : 正常膜层结构) ; 3. 片层 × 98 000 ; 4. 增厚膜层 × 30 000

A : 神经胶质细胞电子密度大的染色质 (箭头所示) ; B : 神经胶质细胞电子密度小的染色质 ; C : 髓鞘纤维的轴突 ; D : 腹神经纤维的膜层髓鞘 ; E : 腹神经纤维髓鞘中的明片层结构 (小箭头) ; F : 在腹神经纤维髓鞘中的暗片层结构 (大箭头) ; G : 在髓鞘中增厚膜层结构 (大箭头) ; H : 髓鞘之间的空隙 ; I : 在髓鞘中膜层结构之间的颗粒物质 (小箭头)