

蛇胸腺胚胎发育的组织学研究*

陆宇燕, 李玉鹏

(烟台师范学院生物系 山东烟台 264025)

摘 要 该文应用光镜、电镜和细胞计数技术对胚胎发育期虎斑颈槽蛇胸腺的发育分化进行了研究。在胚胎发育 11 期, 胸腺原基内出现前淋巴细胞。从胚胎发育 12 期至出生前(16 期), 淋巴细胞不断增殖分化, 小淋巴细胞逐渐增多, 而淋巴母细胞和中淋巴细胞逐渐减少。胸腺皮质和髓质形成于 16 期。巨噬细胞以及肌样细胞和胸腺 APUD 细胞分别形成于胚胎发育 14 期和 15 期, 随后数量有所增加, 分别分布于胸腺皮质和髓质。

关键词 蛇 胸腺 发育 APUD 细胞

爬行动物不仅是真正的陆栖类群, 而且还是最初出现的羊膜动物, 在系统演化上处于关键性的位置。随着比较和发育免疫生物学的发展, 对爬行动物免疫器官的结构、淋巴细胞分化

和免疫应答及其调节等进行了大量研究, 积累

* 论文得到山东省自然科学基金(Q97D09141)资助;

第一作者介绍: 陆宇燕, 女, 36 岁, 讲师, 学士;

收稿日期: 1997-08-20, 修回日期: 1998-07-13

了丰富的资料^[1]。但关于爬行动物免疫器官的胚胎发育研究确很少, 仅见有对树蜴 (*Calotes versicolor*) 和埃及蜥蜴 (*Chalcides ocellatus*) 的显微结构观察^[2-3]。本文在对虎斑颈槽蛇 (*Rhabdophis tigrina*) 胚胎发育研究的基础上^[4], 采用光镜、电镜和免疫组织化学等方法, 对其胸腺胚胎发育的组织结构特点和细胞分化规律等进行初步观察和分析, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 根据对虎斑颈槽蛇胚胎发育的分期, 从 11 期到出生, 每期解剖蛇卵 5 枚, 并每隔 5 天解剖 3~5 枚蛇卵辅助按期收集的材料。

1.2 方法 胸腺经 10% 甲醛和 4% 戊二醛固定, 按常规方法进行样品处理。其中石蜡切片经苏木精-伊红 (H-E) 和姬母萨 (Giemsa) 液染色, 显示胸腺的组织结构和细胞; 肌动蛋白 (Actin) 和 5-羟色胺 (5-HT) 免疫组化染色 (PAP 法) 显示肌样细胞和胸腺腺前体摄取和脱羧细胞 (APUD), Actin 多抗系 Transformation Research Inc 产品, 5-HT 系 DAKO 公司产品。超薄切片经柠檬酸铅和醋酸铀染色, Hitachi-300 透射电镜观察。

细胞计数采用血细胞计数板计数, 具体方法参考文献^[3]。

2 结果

连续切片观察表明: 在胚胎发育 10~11 期, 胸腺芽 (thymic buds) 已开始与咽囊上皮脱离, 并向腹背侧缓慢迁移。此时的小芽主要为上皮性细胞团, 周围为间充质, 没有结缔组织性的被膜。细胞团中央可见有一个空腔, 为上皮细胞从咽囊壁上突起形成胸腺原基时残留下来的结构。

胸腺芽不断增大, 细胞增多, 并进一步向腹背侧迁移。在胚胎发育 11 期至 12 期初, 胸腺呈椭圆形, 长约 300 μm , 淋巴干细胞和淋巴母细胞先后开始出现 [图版 I: 1 (见封 2), 下同]。淋巴干细胞较小, 4~7 μm , 胞质嗜碱性强, 含有

大量多聚核糖体; 淋巴母细胞较大, 8~10 μm , 嗜碱性略弱 (见图版 I: 3 和 7)。随着胚胎发育, 胸腺体积不断增大, 淋巴母细胞不断分裂增殖, 数量增多, 而胸腺上皮细胞所占比例相对减少; 其中淋巴母细胞和中淋巴细胞相继逐渐减少, 小淋巴细胞逐渐增多。胸腺中央的空腔逐渐缩小, 被膜区域出现成纤维细胞并逐渐形成较致密的结缔组织性被膜, 血管穿过被膜进入胸腺实质。电镜观察, 上皮细胞胞体较大, 具有少量粗短的胞突。细胞之间有桥粒相连, 表层上皮细胞的基底面具有基膜。胞核较大, 椭圆形, 异染色质少, 核仁明显。胞质电子密度较小, 淡染型, 线粒体和多聚核糖体丰富, 高尔基复合体较发达, 粗面内质网, 溶酶体和张力丝少。随着胚胎发育, 上皮细胞中逐渐出现少量致密小体, 溶酶体和张力丝也增多, 细胞突起加长, 胚胎发育 14~15 期, 皮质和髓质开始分化, 实质中出现巨噬细胞 (见图版 I: 2)。电镜观察巨噬细胞表面有微绒毛样突起, 胞核椭圆形, 偏位, 异染色质比上皮细胞多。胞质中含有一些初级和次级溶酶体。肌样细胞和 APUD 细胞出现于胚胎发育 15 期, 前者的形态结构与成体的未成熟肌样细胞相似, 免疫组化染色也显示此时胸腺内有 Actin 阳性的椭圆形细胞。后者呈梭形或椭圆型, 5-HT 免疫反应阳性。到 16 期, 此时蛇胚胎发育已基本完成, 和仔蛇形体相近, 胸腺也发育完善, 皮质和髓质明显, 巨噬细胞、肌样细胞和 APUD 细胞数量增加, 毛细血管后微静脉 (即高内皮静脉) 也已形成。出生时, 皮髓分区明显, 但胸腺小囊不明显 (见图版 I: 5, 6 和图 1 与 2)。

另外, 在胚胎发育 14 期, 胸腺周围的间充质中出现少量嗜酸性的颗粒细胞。随后并在胸腺外被膜区不连续性排成一层。同时在胸腺实质中也开始出现少量这种细胞 (见图版 I: 4)。在被膜完全形成之后, 这类细胞数量减少, 甚至消失。细胞呈椭圆形, 大小 15 μm 。胞核圆形, 位于细胞中央, 胞质有空泡和嗜酸性颗粒, 或呈嗜酸性的网络状, 似颗粒内含物释放所致。电镜下, 颗粒呈圆形或椭圆形, 大小 0.8~1 μm 内

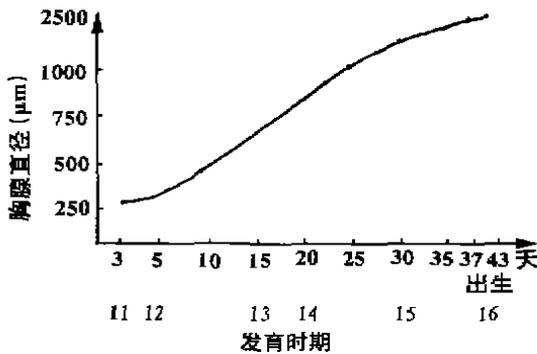


图1 胚胎期蛇胸腺的增长变化

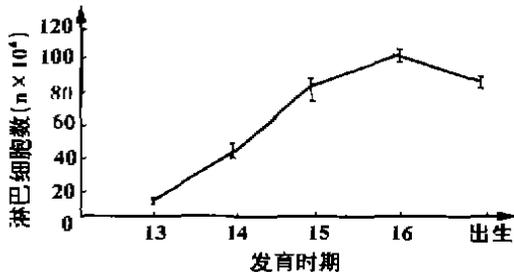


图2 胚胎发育过程中胸腺淋巴细胞的数目变化

含均质致密物质,电子密度中等,有个别颗粒呈空泡状,内仅有少量致密物质。游离核糖体较多,高尔基复合体较发达,粗面内质网较少。细胞表面有微小的短突起,和邻近的成纤维细胞以小突起相连接(见图版I:8)。

3 讨论

蛇胸腺微环境的发育特点基本上和大鼠、蜥蜴、泥鳅及蛙的相似,而与鸟类有所不同^[5-9]。本文结果表明胸腺上皮细胞和淋巴细胞的增殖和分化构成了胸腺胚胎发育的全过程。也就是说,胸腺从原基样结构逐渐增大,形成具有皮质和髓质分区的胸腺,主要与胸腺上皮细胞和淋巴细胞的分化有关。从图1和2可以看出,随着胚胎发育,胸腺的体积增长呈“S”型,在胚胎发育13~16期间增长较快;淋巴细胞数量在胚胎13~15期增长较快,而从15期到出生时,胸腺分化形成皮质和髓质期间,细胞增长较缓慢。

对鸡的研究表明,在孵化11天,胸腺皮质和髓质已开始形成,随后即有大量小淋巴细胞

分化形成;而在15~16天已形成的小淋巴细胞却又被淋巴母细胞所代替,重新开始建立一个新的淋巴细胞发育时序^[9]。而蛇和蜥蜴等则不同,胸腺皮质髓质的形成较晚,同样小淋巴细胞的分化成熟也较迟,没有出现第二次淋巴细胞发育时序的现象。

巨噬细胞和肌样细胞出现于蛇胸腺发育晚期皮质和髓质形成之时,并随胸腺发育而数量增多,巨噬细胞不仅具有吞噬能力,还可分泌多种细胞因子^[10]。其在蛇胸腺发育晚期的出现,可能参与了此时胸腺皮质和髓质的形成、吞噬衰老死亡的淋巴细胞和调节细胞分化和功能。虽然对肌样细胞的功能还不清楚,细胞起源尚有争议,本文结果表明蛇胸腺的肌样细胞出现于胸腺发育晚期,是胸腺正常发育中的一种正常的细胞成分^[11]。总之,胸腺淋巴细胞的发育分化和成熟不仅与胸腺上皮细胞密切相关,而且也与胸腺组织结构中其他成分有关^[10]。

值得注意的是本文在胸腺被膜形成的区域和胸腺实质,观察到有一些嗜酸性的颗粒细胞,细胞虽被膜的形成而逐渐消失。这类细胞的显微和超微结构特点与嗜酸性粒细胞相似。正常胸腺实质中含有少量嗜酸性粒细胞、肥大细胞和其他颗粒细胞,但有关胸腺发育过程中出现嗜酸性粒细胞,尚不了解。这类细胞在胸腺发育分化和胸腺被膜形成中的作用值得重视。

参 考 文 献

- 1 Zapata, A. G., E. L. Cooper. The Immune System: Comparative Histophysiology. New York: John Wiley & Sons, 1991
- 2 Pitchappan, R., V. R. Muthukkaruppan. Analysis of the development of the lizard *Calotes versicolor* II: histogenesis of the thymus. *Dev. Comp. Immun.*, 1997, 1(2): 217~230
- 3 El Deeb, S., S. Zuda, R. El Ridi. Ontogeny of hemopoietic and lymphopoietic tissues in the lizard *Chalcide ocellatus*. *J. Morph.*, 1985, 185(2): 241~253
- 4 李玉鹏,陆宇燕,王平. 虎斑颈槽蛇的孵化和胚胎发育分期的研究. *两栖爬行动物学研究*, 1997, 6: 243~247
- 5 Viceman, A., A. G. Zapata. Ontogenetic development of the thymus stroma of Wistar rats. 49~54. In: "Lymphocit

- Tissue & in Vivo Immune Response, Imhof, B. A. (eds), New York: Marcel - Dekeer Inc, 1991”
- 6 Nagata, S. EM study on the early histogenesis of thymus in the toad. *Xenopus laevis*. *Cell and Tissue Res.*, 1977, **179** (1):87~96
 - 7 Henry, M., M. Charlemagn. Development of amphibian thymus. II: Morphological differentiation, multiplication and lysis of thymocytes in the urodele *Pleurodeles walthi*. *J Embryo. Exp. Morph.*, 1981, **57**(2):219~223
 - 8 Chibon, P., Y. Moustafa. Image analysis and autoradiographic study of organogenesis in the amphibian thymus *Thymus*, 1986, **8**(2):261~277
 - 9 Kendall, M D Functional anatomy of the thymic microenvironment. *J. Anat.*, 1991, **177**(1):1~29
 - 10 Nakamura H., K. E. Nakano, M. Yashudo The ontogeny of thymic myoid cells in the chicken *Dev Growth Diff*, 1986, **28**(1):185~190
 - 11 Saad, AH, A Zapata Rotilian thymus gland; an ultrastructural overview. *Thymus*, 1992, **20**(1):135~152

ONTOGENY OF THYMUS IN SNAKE (*RHABDOPHIS TIGRINA*)

LU Yu-Yan LI Pi-Peng

(Department of Biology, Yantai Normal College, Shandong 264025)

ABSTRACT The embryonic development of thymus in snake (*Rhabdophis tigrina*) was investigated with light and electron microscopy, as well as cell account and immunohistochemical methods. The prolymphoid cells located in thymus at stage 11. From stage 12 to birth time (stage 16) the mitotics and development of lymphoid cells progressed, the number of small lymphocytes decreased. The thymic cortex and medulla developed completely at stage 16. Macrophage appeared at stage 14, while myoid cells and thymic APUD cells located in thymic medulla at stage 15 and their numbers slightly increased at stage 16.

KEY WORDS Snake Development Thymus lymphocyte APUD cell

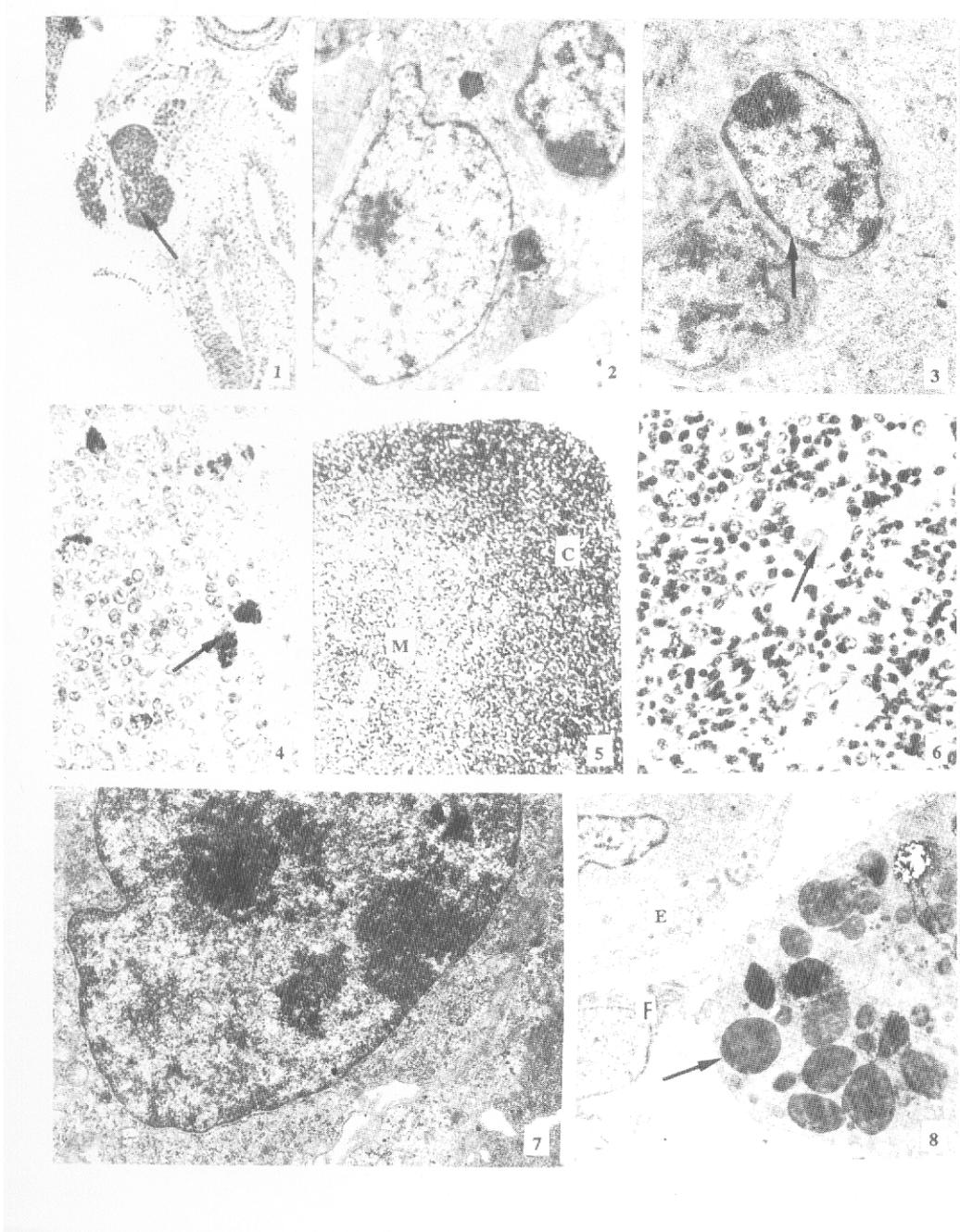


图1 胚胎发育12期胸腺的结构(↑) H-E染色, $\times 90$; 图2 15期胸腺内的巨噬细胞 $\times 9000$; 图3 12期胸腺内的淋巴干细胞(↑)和淋巴母细胞 $\times 9000$; 图4 15期胸腺实质内的嗜酸性粒细胞(↑) Gimesa染色 $\times 400$; 图5~6 16期胸腺的结构 c:皮质、M:髓质和↑:肌样细胞 分别为 $\times 90$, $\times 360$; 图7 13期胸腺内的淋巴母细胞 $\times 14400$; 图8 14期胸腺被膜的结构 ↑:嗜酸性粒细胞、E:胸腺上皮细胞和F:成纤维细胞 $\times 4400$