

奥尼罗非鱼胃肠道中肥大细胞的分布特征

白熙 姜娜[#] 王勇杰 张润祥 季珂萌 王晓丽^{*}

广西大学动物科学技术学院 南宁 530005

摘要: 本研究采用改良甲苯胺蓝染色法探讨了奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) 胃肠道肥大细胞的分布及其形态特点。结果发现, 经甲苯胺蓝染色的肥大细胞其核着深蓝色, 颗粒被染成紫红色, 着色深浅不一。肥大细胞大小不一, 形态各异, 呈圆形、椭圆形或梭形、菱形, 散在或集中分布在黏膜层固有膜和黏膜下层, 尤其常见分布于小血管周围。经统计, 肥大细胞在奥尼罗非鱼的胃、幽门盲囊、后肠、前肠、中肠的数量依次减少。胃和幽门盲囊内肥大细胞数量显著高于前肠和中肠 ($P < 0.05$), 与后肠无显著差异; 前肠、中肠和后肠内肥大细胞数量并无明显差别。

关键词: 奥尼罗非鱼; 肥大细胞; 胃肠道

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2019) 03-441-04

Distribution Characteristics of Mast Cells in Gastrointestinal Tract of *Tilapia Galilaea*

BAI Xi JIANG Na[#] WANG Yong-Jie ZHANG Run-Xiang JI Ke-Meng WANG Xiao-Li^{*}

College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China

Abstract: Distribution and morphological characteristics of mast cells in gastrointestinal tract of *Tilapia Galilaea* were studied by modified toluidine blue staining. The results showed that the mast cells scattered or concentrated in the lamina propria mucosa and submucosa, especially around small blood vessels (Fig. 1). Mast cells varied in their sizes and shapes. They were round, oval, fusiform or rhombic in shape, and their nuclei were in dark blue when stained with toluidine blue, and the granules were in purple red with varying shades of color (Fig. 2). Statistical analysis (Table 1) by one-way ANOVA of SPSS 24.0 showed that the number of mast cells in stomach (9.7 ± 1.9), pyloric caecum (8.3 ± 2.8), hindgut (8.3 ± 1.8), foregut (6.3 ± 1.9) and midgut (5.1 ± 1.8) of *Tilapia Galilaea* decreased in turn. The number of mast cells in gastric and pyloric caecum was significantly higher than that in foregut or midgut ($P < 0.05$), but there was no significant difference from that in hindgut, and the number of mast cells showed no significant difference in the foregut, midgut and hindgut. In conclusion, mast cells were mainly distributed in the lamina propria and tunica submucosa of various gastrointestinal tissues, with different sizes and shapes, and the number of mast cells

* 通讯作者, E-mail: xiaoliwang@gxu.edu.cn;

第一作者介绍 白熙, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物组织胚胎学; E-mail: 437652872@qq.com;

共同第一作者 姜娜, 女, 本科生; 研究方向: 动物医学; E-mail: 1622913671@qq.com。

收稿日期: 2018-11-12, 修回日期: 2019-01-30 DOI: 10.13859/j.cjz.201903014

decreased successively in the order of stomach, pyloric caecum, hindgut, foregut and midgut.

Key words: *Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂ (*Tilapia Galilaea*); Mast cells; Gastrointestinal tract

肥大细胞是 1879 年 Ehrlich 在疏松结缔组织内发现的, 因此一直被认为是疏松结缔组织的固有成分。然而随着研究的发展, 相继在小鼠 (*Mus musculus*) 的呼吸道以及绵羊 (*Ovis aries*)、大鼠 (*Rattus norvegicus*)、鸡 (*Gallus domestica*)、人 (*Homo sapiens*) 的胸腺内发现肥大细胞的存在 (Greer et al. 2016)。此外, 还发现人类、小鼠等哺乳动物的肥大细胞在其形态、大小、颗粒的化学成分、功能等方面存在较为明显的差异 (王新亭等 1994, Matsuno et al. 2018)。这一现象还出现在同一物种的不同个体、甚至同一个体的不同部位以及同一部位的不同肥大细胞 (Paul et al. 1996, Greer et al. 2016, Ertugrul et al. 2018)。有关肥大细胞在鱼类胃肠道分布的研究少有报道, 因此本研究选取广西本地的经济鱼种奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂, *Tilapia Galilaea*) 作为研究对象, 利用石蜡切片结合改良甲苯胺蓝染色方法对其胃肠道中肥大细胞进行观察, 分析肥大细胞在其胃肠道的数量与分布特点, 希望可以为研究肥大细胞功能提供一定的基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康的奥尼罗非鱼 5 尾, 体长 24 ~ 28 cm, 体重 480 ~ 590 g, 购买于广西大学东校园菜市。实验室稳定 3 d, 将鱼敲击头部致死后, 从肛门沿腹中线剪开腹部并完整取出胃肠道。将胃肠道分成胃、幽门盲囊、前肠、中肠和后肠, 用生理盐水清洗后, Carnoy 固定液 (无水乙醇与冰醋酸和氯仿按照体积比为 6 : 1 : 3 的比例配制, 现用现配) 固定 10 h 后制作石蜡切片, 切片厚度 5 μm 。

1.2 染色方法

胃肠道各部位先取 3 张蜡片行常规 H.E 染色做预实验, 观察其组织结构。其余蜡片行改良甲苯胺蓝染色, 观察肥大细胞形态与分布, 具体方法: 脱蜡入水, 改良甲苯胺蓝染色 5 min, 水洗, 于 90% 乙醇分色, 镜检确定最佳分色时间, 本实验 5 s 为最佳分色时间; 脱水, 透明, 中性树脂封片并标记。

1.3 统计分析

在不同样本中各随机抽取 3 张不连续的切片, 于光学显微镜 10 × 40 倍镜下各随机抽取 5 个视野 (共 15 个), 记录视野中不同部位肥大细胞数量, 采用 SPSS 24.0 软件单因素方差分析 (one-way ANOVA) 不同部位肥大细胞数量的差异, 若存在显著的差异, 则采用 Duncan 法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。结果用平均值 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示。

2 结果

2.1 奥尼罗非鱼胃肠道肥大细胞的形态与分布

光学显微镜下观察, 肥大细胞大小不一, 形态各异, 呈圆形、椭圆形或梭形、菱形, 散在或集中分布在胃肠道组织的黏膜层固有膜和黏膜下层以及小血管周围。

胃和幽门盲囊中肥大细胞数量较多, 多数分布在黏膜下层, 少量分布在黏膜固有层, 并且有临近小血管分布的现象。奥尼罗非鱼肠道缺乏黏膜肌层, 且固有膜和黏膜下层无明显分界, 前肠、中肠、后肠中的肥大细胞主要分布于黏膜层固有膜, 黏膜下层也有少量分布 (图 1)。

油镜下, 胃肠道组织中肥大细胞体积较大, 形状大小各有不同。细胞核着色为深蓝色, 小而圆, 多位于细胞中央; 细胞轮廓清晰, 胞内充满大小不等的异染性颗粒, 颗粒被染成紫红色, 其着色深浅不一 (图 2)。

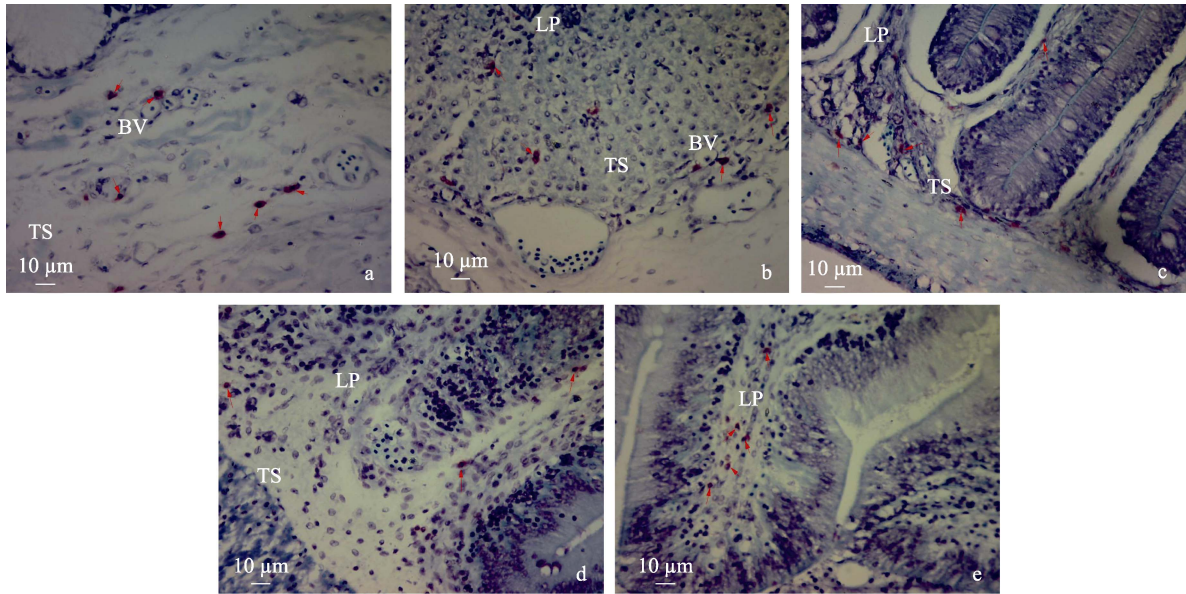


图 1 肥大细胞在奥尼罗非鱼胃肠道的分布 (× 40)

Fig. 1 Distribution of mast cells in gastrointestinal tract of *Tilapia Galilaea* (× 40)

a. 胃; b. 幽门盲囊; c. 前肠; d. 中肠; e. 后肠。a. Stomach; b. Pyloric caeca; c. Foregut; d. Midgut; e. Hindgut.

红色箭头示肥大细胞; BV. 血管; LP. 黏膜固有层; TS. 黏膜下层。

Red arrows show mast cells; BV. Blood vessel; LP. Lamina propria; TS. Tunica submucosa.

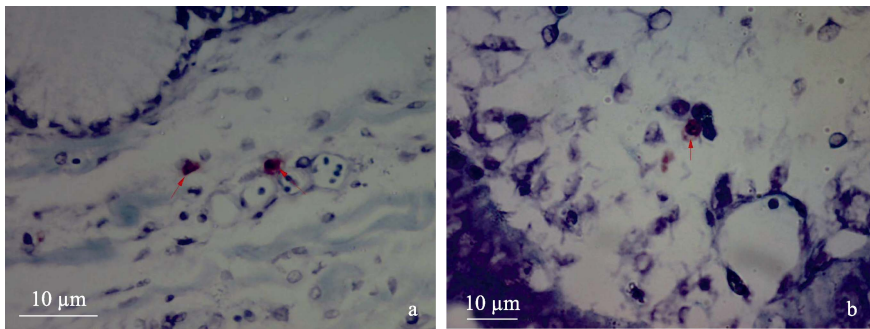


图 2 肥大细胞在奥尼罗非鱼胃肠道的形态 (× 100)

Fig. 2 Morphology of mast cells in gastrointestinal tract of *Tilapia Galilaea* (× 100)

a. 胃; b. 幽门盲囊; 红色箭头示肥大细胞。a. Stomach; b. Pyloric caeca; Red arrows show mast cells.

2.2 奥尼罗非鱼胃肠道肥大细胞的数量

奥尼罗非鱼胃、幽门盲囊和前肠、中肠、后肠内肥大细胞数量计数和差异性见表 1, 在奥尼罗非鱼的胃肠道中以胃组织肥大细胞数量最多, 其次是幽门盲囊和后肠, 肥大细胞

数量最少的是中肠。奥尼罗非鱼胃和幽门盲囊内肥大细胞数量显著高于前肠和中肠 ($P < 0.05$), 但与后肠内肥大细胞数量无显著差异, 且前肠、中肠和后肠内肥大细胞数量并无明显差别。

表 1 奥尼罗非鱼胃肠道肥大细胞的计数
(平均值 ± 标准差)

Table 1 Number of mast cells in gastrointestinal tract of *Tilapia Galilaea* (Mean ± SD)

部位 Tissue site	数量 (细胞个数/视野) Number (number of cells/field of view)
胃 Stomach	9.7 ± 1.9 ^a
幽门盲囊 Pyloric caeca	8.3 ± 2.8 ^a
前肠 Foregut	6.3 ± 1.9 ^b
中肠 Midgut	5.1 ± 1.8 ^b
后肠 Hindgut	8.3 ± 1.8 ^{ab}

标注完全不同上标字母的数据间差异显著 ($P < 0.05$)。

Values with completely different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

3 讨论

有资料表明, 血液循环系统中血管内皮细胞的发育或许会受到肝素与组织胺这两类肥大细胞释放物质的影响 (Powell et al. 1990, Yao et al. 2010), 说明肥大细胞与血管有着密切的关系。本研究中奥尼罗非鱼消化道黏膜下层结缔组织中的肥大细胞具有沿血管分布的特性, 这与两栖类、禽类、哺乳动物等大部分脊椎动物的肥大细胞分布 (陈伟等 2014) 相似, 这一结论也同胡子鲇 (*Clarias fuscus*) 肥大细胞 (杨筱珍等 2003) 以及红脂鲤 (*Hoplias* sp.) 肥大细胞 (Rocha et al. 2007) 分布特点相似, 由此可见, 哺乳动物与硬骨鱼的肥大细胞均同血管具有密切关系, 围绕血管分布的肥大细胞对血管反应起重要作用。

此外, 有研究发现肥大细胞分布位置不同功能各有不同, 分布在胃肠道黏膜固有膜中的肥大细胞主要参与宿主的免疫反应, 分布在胃肠道黏膜下层的肥大细胞主要与血管生成和组织代谢有关 (Church et al. 1997, 张文学等 2005)。本研究中发现肥大细胞散在或集中分布在胃肠道组织的固有膜和黏膜下层, 胃和幽门盲囊中肥大细胞主要分布在黏膜下层, 部分分布在黏膜固有层, 推测肥大细胞可能主要对其

组织代谢产生影响; 肠道各段内肥大细胞主要分布在黏膜固有层, 推测肠道内的肥大细胞可能主要参与免疫反应, 和肠道内的其他免疫细胞一起为奥尼罗非鱼肠道黏膜提供良好的黏膜免疫屏障。

参 考 文 献

- Ertugrul T, Tutuncu S, Kabak M, et al. 2018. The distribution and heterogeneity of mast cells in tongue from five different avian species. *Anat Histol Embryol*, 47(4): 306–312.
- Greer A, Peter B. 2016. New developments in mast cell biology: clinical implications. *Chest*, 50(3): 680–693.
- Church M K, Levi-Schatter F. 1997. The human mast cell. *Journal Allergy and Clinical Immunology*, 99(2): 155–160.
- Matsuno T, Toyoshima S, Sakamoto-Sasaki T, et al. 2018. Characterization of human decidual mast cells and establishment of a culture system. *Allergology International*, 67(Suppl. 1): 18–24.
- Paul G M, Susan M. M, Christine M, et al. 1996. Immunomorphologic studies of mast cell heterogeneity, location, and distribution in the rat conjunctiva. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 97(6): 1375–1386.
- Powell M D, Wright G M, Burka J F. 1990. Eosinophilic granule cells in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: evidence of migration? *Journal of Fish Biology*, 37(3): 495–497.
- Rocha J S, Chiarini-Garcia H. 2007. Mast cell heterogeneity between two different species of *Hoplias* sp. (Characiformes: Erythrinidae): response to fixatives, anatomical distribution, histochemical contents and ultrastructural features. *Immunol Shellfish Fish*, 22(3): 218–219.
- Yao Y L, Xu C S, Su Z H, et al. 2010. Investigation on distribution and structure of mucosal immunological tissue and cell in reproductive duct of female two-humped camel. *Journal of Camel Practice and Research*, 16(2): 221–226.
- 陈伟, 刘忠伟, 田兴贵, 等. 2014. 剑白香猪各组织中肥大细胞的观察研究. *贵州畜牧兽医*, 38(3): 4–7.
- 王新亭, 徐以明. 1994. 大鼠胸腺实质中的肥大细胞异染性、嗜银性、粘多糖和酶组织化学的研究. *解剖学杂志*, 17(1): 48–51.
- 杨筱珍, 高登慧, 许乐仁. 2003. 胡子鲇肥大细胞的组织化学及形态学. *中国水产科学*, 10(2): 106–110.
- 张文学, 赵良真, 赵艳红等. 2005. 蟾蜍消化道肥大细胞的观察. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 33(4): 176–178.