

- Philladelphia, 1993, XXIII (2): 379—381.
- 5 Svetovidov, A.N. Treskobraznye (Gadiformes) Fauna SSSR, Zoologicheskii Institute Akademi Nauk SSSR 1948, (n.s) 34, Ryby (Fishes) 9, (4): 1—222 (in Russian).
- 6 松原真代松. 鱼类学(上). 恒星社厚生阁, 昭和54年, 36—52.

无法氏囊仔鸡脾脏发育的观察*

张红卫 高守华 邵旭光

(山东大学生物系 济南 250100)

摘要 用手术摘除法氏囊、酶标技术和生物统计学等方法, 研究无法氏囊后仔鸡脾脏 B 淋巴细胞的发育, 证明鸟类脾脏 B 淋巴细胞主要来源于法氏囊, 但同时也有其它的来源。

关键词 B 淋巴细胞 发生 法氏囊 脾

一般认为鸟类的法氏囊是体液免疫的中枢淋巴器官^[1-5], 是 B 淋巴细胞的发生场所。在胚胎发育早期, 生血干细胞迁入法氏囊原基, 并在其微环境的培育下, 定向分化为 B 淋巴细胞。在孵出后由于外界抗原的刺激, 法氏囊淋巴细胞进一步分化并迁移到脾脏和周围淋巴器官中去, 继续以后的分化成为效应细胞^[3, 6]。另一方面, 也有人提出: 鸟类的法氏囊可能并不是 B 淋巴细胞发生的唯一器官, 在脾脏和小肠中有类似于法氏囊的微环境^[7]。目前由于这些认识尚无充分的实验根据, 关于鸟类是否还存在其它 B 淋巴细胞发生的器官和脾脏 B 淋巴细胞的来源问题尚存在争议。1989—1991 年我们系统地观察了手术摘除法氏囊后仔鸡脾脏的发育, 并结合酶标技术和生物统计学的研究结果, 试图探讨鸟类脾脏 B 淋巴细胞是否都来源于法氏囊还是存在其它的来源。

1 材料与方法

1.1 实验动物 白菜杭鸡, 购于山东省农科院家禽研究所, 常规饲养。

1.2 观察脾脏 B 淋巴细胞发育的仔鸡分为两组

1.2.1 对照组 分别于 1 日龄、1 周龄、3 周龄、5 周龄和 7 周龄各取 3 只仔鸡的脾脏, 分别用 Zenker 氏液和甲醛钙固定液固定。

1.2.2 实验组 对孵出当日的雏鸡进行法氏囊切除手术, 然后分别于 1 周龄、3 周龄、5 周龄和 7 周龄仔鸡取脾脏(每个年龄组 4—5 只鸡)按前述方法固定。法氏囊切除的方法同前^[3]。取材的同时注意检查法氏囊的再生情况并做记录。

上述组织均采用常规石蜡包埋, 4—6 μ m 切片。Zenker 氏液固定的切片采用 H.E. 染色。用甲醛钙固定的切片按王平等的方法^[8]进行 α -萘戊酯酶显示。全部切片均用 Olympus 显微镜观察并照相。

生物统计的切面采取随机取样, 每个年龄组任选 10—15 个脾淋巴小结进行长、短直径的测量和淋巴小结内细胞数的统计。

2 实验结果

2.1 观察 1 日龄雏鸡脾脏的组织学切片, 已有少量嗜碱性淋巴样细胞集聚(图 1 见封 3, 下同), 结合 α -萘戊酯酶标记显示这些细胞中一部分呈现 T 型反应^[4], 即 T 淋巴细胞。同时, 也有一些细胞呈阴性反应(见图 2)。前者多分布在动脉周围淋巴组织鞘(PALS), 后者主要分布在椭圆球周围淋巴组织鞘和淋巴小结区。

* 属国家教委博士点基金资助研究内容。

投稿日期: 1992-03-15, 修回日期: 1995-06-10

2.2 在 1 周龄对照组仔鸡脾脏的组织切片中可以观察到淋巴小结已基本形成(见图 3),在椭圆球周围也有一定数量的淋巴细胞集聚。 α -萘戊酯酶阴性反应表明它们是 B 淋巴细胞。在淋巴小结的周围和椭圆球周围还可以观察到浆细胞。

在 1 周龄实验组仔鸡的脾脏中也有淋巴小结,这些淋巴小结的大小与对照组差别不大,但淋巴小结的淋巴细胞数相对较少,椭圆球周围的淋巴细胞也较稀少(见表 1、图 7 和封 3 图 4)。

表中显示了这个年龄的实验组和对照组的差异。在淋巴小结周围和椭圆球周围也观察到浆细胞。 α -萘戊酯酶阳性细胞在 PALS 中的

数目对照组和实验组无明显差异。

2.3 3 周龄对照组仔鸡脾淋巴小结和椭圆球周围的 B 淋巴细胞明显较同龄实验组仔鸡密集,细胞数量明显增多,淋巴小结的大小也有明显差异(见表 1 和图 7)。

2.4 5 周龄对照组和实验组仔鸡脾脏发育的差异已非常显著。对照组不仅淋巴小结的细胞数明显多于实验组,而且淋巴小结的大小和面积也明显超过实验组(见表 1 和图 7)。切片中在椭圆球周围和淋巴小结周围也可观察到更多的浆细胞。

2.5 7 周龄对照组与实验组间的差异较第 5 周更为显著(见表 1、图 7 及封 3 图 5 和 6)。

表 1 实验组、对照组脾淋巴小结内细胞数、半径、面积比较

项 目	淋巴小结内细胞数目		淋巴小结的半径(μ)		淋巴小结的面积(μ^2)		
	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	
1 周 龄	$\bar{x}$	227.50	167.30	1.45×10^3	1.338×10^3	6.795×10^6	5.785×10^6
	s^2	3886.28	1771.57	0.045×10^6	1.989×10^6	4.238×10^{12}	4.493×10^{12}
	t	2.531		1.17		1.0754	
	p	$0.02 < P < 0.05$		$0.2 < P < 0.3$		$0.2 < P < 0.3$	
	n	10		10		10	
3 周 龄	$\bar{x}$	271.74	185.67	1.618×10^3	1.47×10^3	8.404×10^6	7.27×10^6
	s^2	12822.11	1589.67	0.0593×10^6	0.0294×10^6	5.98×10^{12}	3.34×10^{12}
	t	2.7768		1.925		1.439	
	p	$P < 0.01$		$0.05 < P < 0.1$		$0.1 < P < 0.2$	
	n	15		15		15	
5 周 龄	$\bar{x}$	389.8	243.47	2.169×10^3	1.704×10^3	15.393×10^6	9.238×10^6
	s^2	14635.24	969.98	0.212×10^6	0.0411×10^6	39.32×10^{12}	5.16×10^{12}
	t	3.9178		3.5797		3.574	
	p	$P < 0.001$		$0.001 < P < 0.01$		$0.001 < P < 0.01$	
	n	15		15		15	
7 周 龄	$\bar{x}$	533.73	261.37	2.357×10^3	1.565×10^3	17.717×10^6	7.877×10^6
	s^2	188568.56	5952.62	0.0933×10^6	0.0638×10^6	21.665×10^{12}	6.28×10^{12}
	t	2.3923		7.73897		7.2091	
	p	$0.02 < 0.0015$		$P < 0.001$		$P < 0.001$	
	n	15		15		15	

〈注〉1. n 为统计的淋巴小结数 2. 上述测量在 400 $\times$ 进行

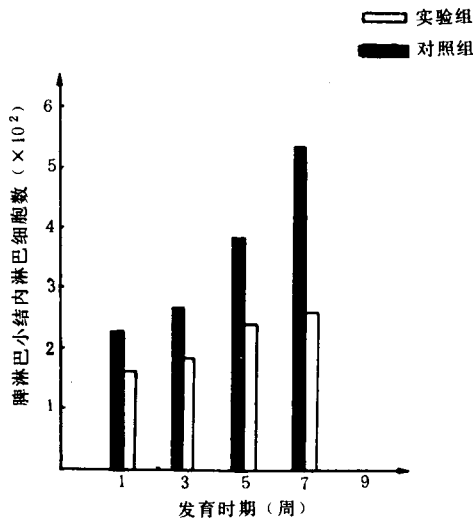


图7 不同发育时期淋巴细胞数比较

3 讨论

鸟类脾脏 B 淋巴细胞主要来源于法氏囊。Wood 和 Linna 曾用 H^3 -胸腺嘧啶示踪法证明法氏囊淋巴细胞可以迁移到脾脏^[9]。本实验对手术无法氏囊仔鸡脾脏发育的系统观察和统计学研究均进一步表明鸟类脾脏 B 淋巴细胞主要来源于法氏囊。手术无法氏囊的仔鸡从 1 周龄开始脾脏淋巴小结的发育和其内 B 淋巴细胞数量与对照组比较已显示差异。随着发育的进程这种影响逐渐增强,到第 5 周龄时无法氏囊仔鸡与对照组仔鸡脾脏淋巴小结的发育情况已有很明显的差异。实验组脾淋巴小结内淋巴细胞数仅为对照组的 2/3 左右,表明此时法氏囊对脾脏发育的影响已开始进入高峰期。到第 7 周龄时实验组和对照组差异更为明显,此时实验组脾淋巴小结内淋巴细胞数大约仅为对照组的 1/2。对照组脾脏发育的进程正好与法氏囊淋巴细胞发育和外迁的进程相符合^[1]。实验组由于在孵出当日已手术摘除法氏囊,脾脏 B 淋巴细胞依赖区的发育受到明显影响。这均表明脾脏 B 淋巴细胞主要来源于法氏囊。

鸟类脾脏 B 淋巴细胞还存在其它来源。我们在 1 日龄雏鸡脾脏的组织学切片中就观察到少量散在的淋巴细胞, α -萘戊酯酶显示这些淋巴细胞中有一些可能属于 B 淋巴细胞。这些细胞可能并不来源于法氏囊,而来源于其它的场所。因过去的工作曾表明法氏囊淋巴细胞的迁移是在孵出后受到抗原刺激时才发生的事件^[9,10]。同时对孵出当日手术无法氏囊仔鸡脾脏发育的系统观察,发现这些仔鸡脾脏淋巴小结的发育虽然受到较大影响,B 淋巴细胞数目明显减少,但它们仍然具有典型的淋巴小结和一定数量的淋巴细胞。表明脾脏 B 淋巴细胞可能并不完全来源于法氏囊,还有其它的来源。因本文手术摘除法氏囊的仔鸡,绝大多数无再生法氏囊残基,这些非法氏囊来源的 B 淋巴细胞可能由胚肝和胚胎时期的骨髓发生,有待于进一步探讨。

参考文献

- 1 高舜德,张红卫,黄浙. 山东大学学报,1982,2: 160—171.
- 2 高舜德,张红卫,黄浙. 动物学研究,1982,3: 263—267.
- 3 Glick B. The bursa of Fabricius and immunoglobulin synthesis. *Int. Rev. Cyto.*, 1977, 48: 345—402.
- 4 Moore M.A.S. and F.F.T. Owen. Experimental studies on the development of the bursa of Fabricius. *Devel. Biol.*, 1966, 14: 40—50.
- 5 高舜德,张红卫,黄浙. 关于间质生血干细胞侵入法氏囊上皮及分化成淋巴细胞的研究. 动物学报,1983,29(1): 1—8.
- 6 高舜德,张红卫,黄浙. 实验生物学报,1984,17: 391—401.
- 7 Sato K. and S. Abe. The possible presence of a bursal independent IgM-producing system in chicks. *Immunology*, 1975, 28: 293—295.
- 8 王平,樊启旭,李放等. 北京鸭腔上囊的研究. 北京大学学报,1985,4: 75—81.
- 9 Wood R. and F. Linna. The transport of cells from the bursa of Fabricius to the spleen and the thymus. *Acta Path and Microbiol. Scand.* 1965, 64: 470.
- 10 高舜德,张红卫,黄浙. 关于法氏囊内 T 淋巴细胞及腔淋巴细胞的. 动物学报,1985,31(2): 101—105.