

文章编号: 1000- 0615(2001)06- 0492- 04

皱纹盘鲍血细胞的亚显微结构及分类研究

陈全震, 杨俊毅, 王小谷, 高爱根

(国家海洋局第二海洋研究所, 浙江 杭州 310012)

摘要: 通过对皱纹盘鲍血细胞的超微结构的观察, 将其血细胞分成 5 种类型: 大颗粒细胞、小颗粒细胞、特殊颗粒细胞、透明细胞和淋巴样细胞。根据胞核的形态和胞质中细胞器的结构特征, 研究认为大、小颗粒细胞是同一类细胞的不同发育阶段, 而特殊细胞则是大、小颗粒细胞的原始细胞; 透明细胞和淋巴样细胞是两类完全分化了的细胞。

关键词: 皱纹盘鲍; 血细胞; 形态; 分类

中图分类号: Q247; S944.3 **文献标识码:** A

Ultrastructure and classification of blood cells of *Haliotis discus hannai*

CHEN Quan-zhen, YANG Jun-yi, WANG Xiao-gu, GAO Ai-gen

(Second Institute of Oceanography, State Ocean Administration, Hangzhou 310012, China)

Abstract: The ultrastructure of hemocytes of *Haliotis discus* was studied. Five types of hemocytes were recognized: large granule cell, small granule cell, special granule cell, transparent cell and lymphoid cell. According to the morphology of the nucleus and the characters of cell organelle in the cytoplasm, large granule cell and small granule cell are considered the same type cell in different developmental stages, however, special granule cell is early haemocytes of them. Transparent cell and lymphoid cell are completely differentiated cells.

Key words: *Haliotis discus hannai*; haemocytes; morphology; classification

血细胞是动物对自身生理状态变化和对外界环境因子的刺激非常敏感的细胞, 近 30 年来国外对有关贝类, 特别是双壳类血细胞的形态和功能等已进行了大量研究^[1-7]。在国内, 周永灿等^[8]、翟永梅^[9]等及余燕萍和石安静^[10]已分别作过综述, 具体研究工作仅见沈亦平等^[11]对淡水育珠蚌褶皱纹冠蚌血细胞进行过光镜显微研究, 并将这种双壳类血细胞分为透明细胞、A 型颗粒细胞、B 型颗粒细胞和浆液细胞。目前由于不同的研究者运用不同的实验材料和根据不同的细胞结构特征进行描述和分类, 因此, 关于贝类血细胞的种类和结构目前尚无一致的结论。

关于腹足类鲍的血细胞亚显微结构研究至今未见报导, 本文以皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*) 血细胞为材料, 根据核的形态和胞质中的细胞器作为主要形态指标, 并参照人体血细胞亚显微结构的分类特征^[12], 对鲍的血细胞亚显微结构进行观察, 与其它贝类作比较, 旨在丰富贝类血细胞的分类资料, 同

收稿日期: 2001-02-15

基金项目: 国家海洋局青年基金(98147-70); 浙江省分析测试基金资助项目(20506-70)

第一作者: 陈全震(1965-), 男, 浙江杭州人, 研究员, 硕士, 主要从事海洋生物学和动物免疫学的研究。Tel: 0571-88076924-2475,

E-mail: cqzqz@mail.hz.zj.cn

时也为鲍的细胞免疫机制研究提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

皱纹盘鲍取自福建省连江大海水产开发有限公司鲍鱼养殖场。

1.2 方法

取鲍心脏血液,用台式离心机($5\ 000\ r\cdot\min^{-1}$)离心7min后除去上层血清,向管内加2.5%戊二醛固定60min,1%锇酸后固定1h,2%琼脂定型,经丙酮梯度脱水,Epon 812包埋,超薄切片,醋酸双氧铀——柠檬酸铅双染,再经透射电镜观察并照相。

2 结果

2.1 有粒细胞

2.1.1 大颗粒细胞

细胞呈圆形或椭圆形,直径为7.3~10.8 μm ,细胞核单核,呈椭圆形,胞质内有许多胞质颗粒,颗粒直径0.3~1.0 μm ,颗粒内有1~2个电子密度较高的结晶体,呈块状或板状。有的颗粒呈空泡状,其内容物可能在制片过程中丢失。胞质内尚可见线粒体。有时细胞表面有短的胞突(图版-1、2)。

2.1.2 小颗粒细胞

细胞呈圆形或变形虫状,直径为7.9~11.3 μm ,细胞核呈圆形或肾形。胞质内有直径为0.3~0.6 μm 不等的胞质小颗粒和粗面内质网(图版-3、4)。

2.1.3 特殊颗粒细胞

细胞呈圆形或椭圆形,直径为13.1~16.5 μm ,胞质内有较丰富粗面内质网和具有板状内嵴的线粒体以及丰富的溶酶体和小颗粒,有时在胞质中能见到细胞分裂时的染色质团块(图版-5、6)。

2.2 无粒细胞

2.2.1 透明细胞

细胞呈变形虫状,细胞体直径为7.5~11.2 μm ,胞核呈肾形,有多核现象;胞质突起较多,胞质内含有大量的粗面内质网和成堆的粒径为0.05 μm 左右的糖原颗粒,无明显的其它胞质颗粒(图版-7~10)。

2.2.2 淋巴样细胞

细胞多为圆形,直径为6.3~8.2 μm ,相对较小;细胞核较大,细胞质中电子密度低,无高电子密度颗粒。此类细胞也可变形,变得不规则,但伪足短。胞质内细胞器不多,仅有少量的线粒体、光面型内质网和溶酶体样的颗粒(图版-11、12)。

3 讨论

根据血细胞的亚显微结构特征,将皱纹盘鲍的血细胞分为透明细胞、淋巴样细胞、大颗粒细胞、小颗粒细胞和特殊细胞。Ford等^[12]及Russell Pinto和Reimao^[13]分别认为双壳类血细胞可分为3个亚群,即无颗粒的透明细胞、大颗粒细胞、小颗粒细胞,这与对虾的血细胞分类相一致^[14]。沈亦平和马丽君^[11]将淡水双壳类褶纹冠蚌血细胞分为透明细胞、A型颗粒细胞(大颗粒细胞)、B型颗粒细胞(小颗粒细胞)和浆液细胞。根据Cheng的分类法(即将胞质中的颗粒作为主要形态、染色指标)^[4],我们将皱纹盘鲍的血细胞分为无颗粒细胞和有颗粒细胞两大类,无颗粒细胞又分透明细胞和淋巴样细胞两类,有颗粒细胞又分为大颗粒细胞、小颗粒细胞和特殊细胞3种。

沈亦平和马丽君认为大、小颗粒细胞是同一类细胞的不同发育阶段^[11],这与我们观察到的结果一样,大、小颗粒细胞之间只是颗粒的大小不一,其它如形状和颗粒内大多有结晶板(图版1~4)(类似于

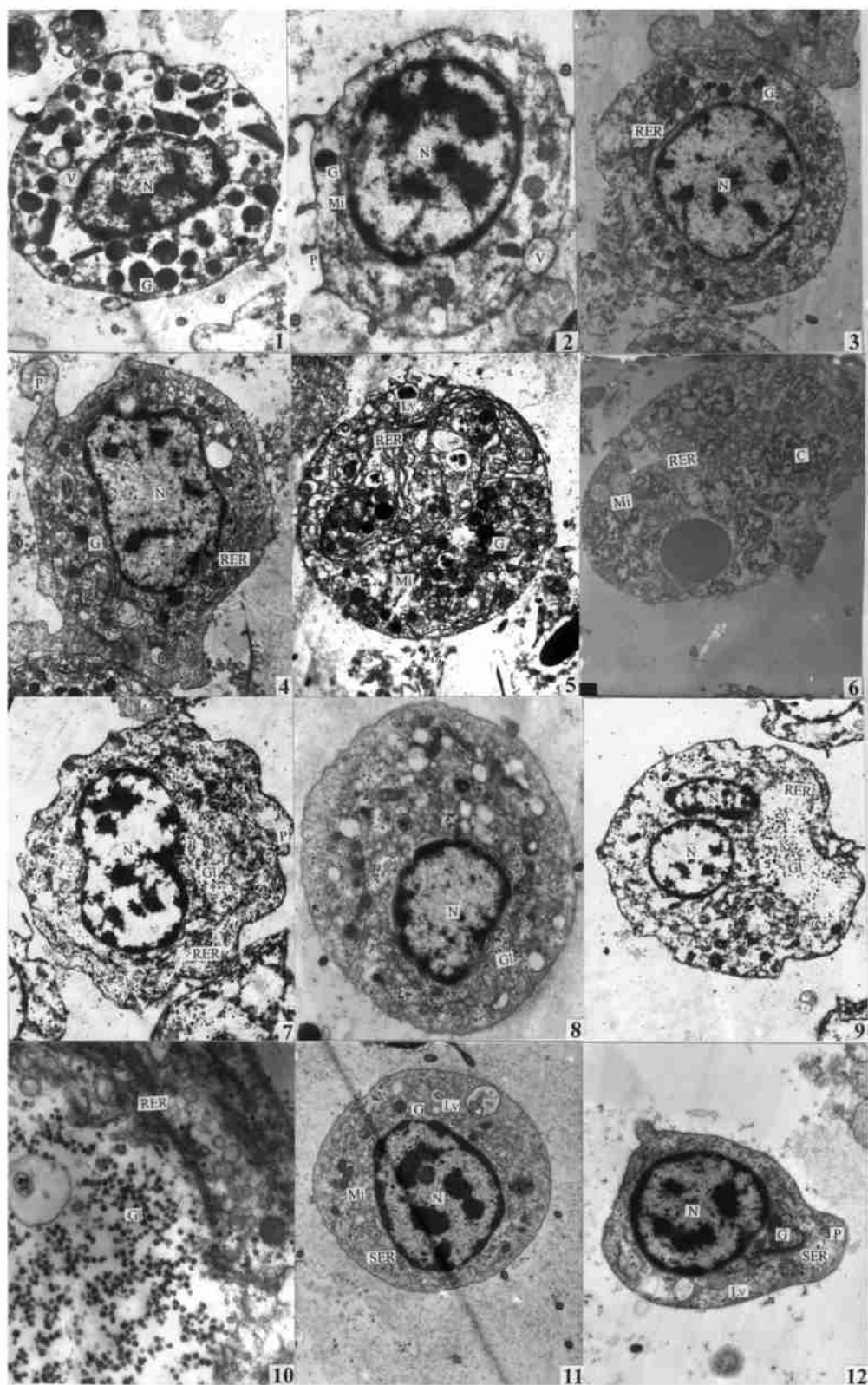
哺乳动物嗜酸性粒细胞中的嗜酸性颗粒结构^[15]);我们之所以称第四类细胞为“特殊细胞”,是因为这类细胞的胞质内有较丰富内质网和具有板状内嵴的线粒体以及丰富的溶酶体和小颗粒,和染色质团块,所有这些特征说明该类细胞具有较强的代谢功能,具有细胞分裂和蛋白质合成的能力,不是完全特化的细胞(图版-5、6)。由此推断,这种特殊细胞很可能是大、小颗粒细胞的原始细胞。这在鱼类的外周血液中同样能见到红细胞、小淋巴细胞的分裂图像和幼稚型嗜中性白细胞^[16],而在哺乳动物的外周血液中,血细胞全是缺乏分裂能力已经分化了的细胞,也没有幼稚型的血细胞,这便充分说明了鲍的外周血液中的血细胞与鱼类的血细胞一样,是分化程度较低的细胞。

鲍血细胞中的透明细胞的核呈肾形或马蹄形或多核,胞质中具有丰富的核糖体等,这些结构特征与林光华^[17]报导的草鱼的大淋巴细胞、冯怀亮等^[18]报导的鲤的血栓细胞和钟慈声^[15]描述的人体外周血中的血小板结构都相类似。沈亦平和马丽君^[11]在研究淡水双壳类褶纹冠蚌血细胞时,在光镜下观察到的透明细胞的核形态不规则,胞质少,突起细长,也有双核现象,这也符合 Cheng^[4]所描述的透明细胞的结构特征,但我们在电镜下所观察到丰富的核糖体是对 Cheng 的结论的丰富和补充。Chen 和 Bayne^[19]在研究双壳类血细胞功能时认为透明细胞在血细胞凝集作用中起主要作用,类似于脊椎动物鱼类的血栓细胞和哺乳动物的血小板;由此建议称该类细胞为“拟血栓细胞”可能更为贴切。透明细胞有双核现象,是一种细胞老化的表现,与 Mix^[20]认为透明细胞是血细胞中最原始的类型,它可以分化为不同类型的颗粒细胞的观点不同。

淋巴样细胞的超微结构类似于脊椎动物草鱼的小淋巴细胞^[17]、中华鳖的淋巴细胞^[21]和人体外周血的小淋巴细胞^[12]。这类细胞结构的共同点都是细胞核较大,胞质内细胞器不多,仅有少量的线粒体、内质网和溶酶体样的颗粒。

参考文献:

- [1] Chenery D P. A summary of invertebrate leucyte morphology with emphasis on blood elements of the manila clam, *Tapes semidecussata*[J]. Biol Bull, 1971, 140(3):353-368.
- [2] Moore M N, Lowe D M. The cytology and cytochemistry of hemocytes of *Mytilus edulis* and their response to experimentally injected carbon particles[J]. J Invertebr Pathol, 1977, 19: 18-30.
- [3] Bayne C J, Moore M N. Hemolymph functions in *Mytilus californianus*: the cytochemistry of hemocytes and their response to foreign implants and hemolymph factors in phagocytosis[J]. J Invertebr Pathol, 1979, 34: 1-20.
- [4] Cheng T C. Bivalves[A]. Invertebrate blood cells[C]. London: Academic Press, 1981, (2): 231-300.
- [5] Pipe R K. Differential binding of lectins to hemocytes of the mussel *Mytilus edulis*[J]. Cell Tiss Res, 1990, 261: 216-268.
- [6] Morvan A. Monoclonal antibodies against hemocytes of the Japanese oyster *Crassostrea gigas*[J]. Dev Comp Immunol, 1991, 15(Suppl): 73-75.
- [7] Hervio D, et al. Establishment of an experimental infection protocol for the flat oyster *Ostrea edulis* with the intrahaemocyte protozoan parasite: application to parasite resistant oyster selection[J]. Aquac, 1995, 132(1/2): 183-194.
- [8] 周永灿, 潘金培. 贝类细胞和体液的防御机制研究进展[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 449-454.
- [9] 翟永梅, 丁秀云, 李光友. 软体动物血细胞及体液免疫研究进展[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29(5): 558-562.
- [10] 余燕萍, 石安静. 贝类血细胞研究进展[J]. 动物学杂志, 1998, 5(5): 40-44.
- [11] 沈亦平, 马丽君. 淡水育珠蚌褶纹冠蚌血细胞的初步研究[J]. 水生生物学报, 1993, 17(2): 190-192.
- [12] Ford S S, Ashkon-Alox K A, Kanalevs S A. Comparative cytometric and microscopic analyses of oyster hemocyte[J]. J Invertebr Pathol, 1994, 64(2): 114-122.
- [13] Russell Pinto F, Reimao R. Distinct cell types engage in different responses to sheep erythrocyte[J]. Fish & Shellfish Immunology, 1994, 4(5): 387-397.
- [14] 叶燕玲, 陈宽智. 中国对虾血细胞超微结构、分类及计数[J]. 青岛海洋大学学报, 1993, 23(2): 35-42.
- [15] 钟慈声. 细胞和组织的超微结构[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984. 85-99.
- [16] 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[J]. 动物学研究, 1985, 6(2): 147-153.
- [17] 林光华. 成年草鱼外周血细胞的超微结构[J]. 动物学报, 1996, 42(2): 123-128.
- [18] 冯怀亮, 李斌. 鲤鱼血细胞显微结构的观察[J]. 水产学报, 1991, 15(3): 241-244.
- [19] Chen J H, Bayne C J. Bivalve mollusc hemocyte behaviors: characterization of hemocyte aggregation and adhesion and their inhibition in California mussel (*Mytilus californianus*) [J]. Biol Bull, 1995, 188: 255-266.
- [20] Mix M C A. General model for leucocyte cell renewal in bivalve mollusks[J]. Mar Fish Rev, 1976, 38: 37-41.
- [21] 军萍, 郭明申, 韩希福. 中华鳖血细胞显微和超微结构的观察[J]. 中国水产科学, 1999, 6(4): 106-108.



1. 大颗粒细胞, $\times 7\ 500$; 2. 大颗粒细胞, $\times 10\ 000$; 3. 小颗粒细胞, $\times 6\ 000$; 4. 小颗粒细胞, $\times 6\ 000$; 5. 特殊颗粒细胞, $\times 4\ 000$; 6. 特殊颗粒细胞, $\times 4\ 000$; 7. 透明细胞, $\times 7\ 500$; 8. 透明细胞, $\times 7\ 500$; 9. 透明细胞, $\times 6\ 000$; 10. 透明细胞, $\times 20\ 000$; 11. 淋巴样细胞, $\times 6\ 000$; 12. 淋巴样细胞, $\times 7\ 500$.

N- 细胞核, G- 胞质颗粒, Ri- 核糖体, RER- 粗面内质网, SER- 滑面内质网, Mi- 线粒体, Gl- 糖元, V- 空泡, P- 胞突, Ly- 溶酶体, C- 染色质。