

中华鳖肝组织炎性细胞的浸润及其结构^{*}

潘连德

(上海水产大学渔业学院, 200090)

摘 要 用组织化学和显微及亚显微生物技术, 研究了患非寄生性肝病中华鳖(*Trionyx sinensis*)的外周血、肝静脉血相变化和浸润肝组织炎性细胞的亚显微结构及其细胞免疫病理反应。结果表明, 中华鳖的炎性细胞趋化性强、浸润面广。其剧烈的非特异性细胞免疫反应表现为: 嗜中性粒细胞数量多、个体大、结构变化复杂, 并在非特异性细胞免疫反应中发挥重要作用, 其次是淋巴细胞、Kuffer 细胞; 肝组织中被激活的白细胞在结构和数量上发生显著变化, 并在浸润肝组织后聚集、吞噬、消化, 发生强烈的细胞免疫反应。红细胞发生渗出性病理反应。

关键词 中华鳖, 肝组织, 炎性细胞, 亚显微结构, 免疫病理学

现代医学免疫学研究表明, 不管是健康的器官、组织和细胞, 还是器官损伤、组织变性和细胞坏死, 都伴随着永不停息的免疫反应^[3]。肝脏是机体具有多种生理功能的重要器官, 也是免疫病理反应最敏感、最关键的组织。

生活在天然水域的中华鳖(*Trionyx sinensis*)生长缓慢、抵抗力强、保护好、死亡率低、寿命长的生理生态特征与其发达的免疫器官及其免疫因子有直接关系。中华鳖外周血细胞的形态结构显微^[1]和亚显微观察^[4, 9, 12, 14]及其数量的季节变化^[8, 9]研究, 以及中华鳖脾脏在辣根过氧化物酶(HRP)的刺激下淋巴细胞的变化研究^[10]已见报道。鳖炎性细胞的激活、浸润、吞噬及其免疫反应时的结构等免疫病理学研究未见报道。本文报道了患非寄生性肝病^[11]中华鳖外周和肝静脉血相的病理变化, 肝组织中的细胞免疫病理现象, 以及浸润肝组织的炎性细胞显微与亚显微结构研究结果。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

中华鳖 8 只, 体重为 150~500 g, 其中 2 只健康鳖(C₁、C₂)、6 只患非寄生性肝病的鳖分别采自 A 场和 B 场(A₁、A₂、A₃、B₁、B₂、B₃)。

收稿日期: 1997-10-20

* 研究项目得到上海市教育委员会重点学科基金部分资助

1.2 血涂片制作、观察与计数

病鳖颈静脉采血,直接滴载玻片,涂片,自然干燥,Wright-Giemsa染色,Olympus(BH-2)显微镜观察、拍片,并记录红细胞与白细胞比例。

1.3 石蜡切片制作与观察

选择具有典型肝损害症状的组织块,Bouin液固定,常规石蜡包埋,切片厚度5~6 μm,H.E.染色,Olympus(BH-2)显微镜观察、拍片。

1.4 电镜切片制作与观察

在摘取制作石蜡切片组织块时,同步留取电镜切片组织块,切成1~2 mm³小块,2.5%戊二醛溶液前固定,0.1 mol/L磷酸缓冲液洗3次,1%锇酸后固定,0.1 mol/L磷酸缓冲液洗3次,酒精梯度脱水,90%酒精+丙酮(1:1)浸透,丙酮+包埋剂(ERL 10 ml、GER 6 ml、NHA 26 ml、GNA 0.4 ml)(1:1)再浸透,包埋剂包埋,模板固定,60℃烘干,LKB-8800超薄切片机切片,醋酸铀-柠檬酸铅双重染色,JEM100-Ⅹ透射电镜观察、拍片。

2 结果与讨论

2.1 血相的改变

2.1.1 外周血血相变化 血涂片红细胞、白细胞计数结果(表1)显示,发生炎症反应时,血相变化显著,白细胞和淋巴细胞比例剧增,比正常鳖(1:0.26)增加了6~19倍,且白细胞和淋巴细胞数量增加,与病情严重性呈正相关。作为鳖病特别是慢性疾病的早期诊断,血常规检验方法简单易操作,采血方便,不损伤鳖体。因而可作为中华鳖患病早期诊断的指标。

表1 中华鳖外周血红细胞与白细胞比值

Table 1 The ratio of red-cell to leucocyte of peripheral blood of *Trionyx sinensis*

样本 specimen	C ₁	C ₂	A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃
红/白细胞 red c./leuco	1:0.18	1:0.34	1:4.07	1:4.85	1:2.56	1:1.61	1:4.24	1:4.11

2.1.2 肝静脉血液成分变化 正常鳖肝静脉内红细胞占绝大多数,而肝损害鳖则由白细胞和淋巴细胞占有多数(图版I-1,×400)。这与肝组织炎症加重,血液中白细胞增加有关。被激活的白细胞为游走做准备或正在贴壁、游出、聚集。

2.1.3 血细胞数量变化 具有吞噬、消化、解毒等功能的嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞数量增加和活性增强,使机体的非特异性免疫水平提高。淋巴细胞的数量增加和活性增强,使机体的特异性免疫水平提高。二者构成了机体的抗病力。同时,红细胞数量相对锐减,使机体组织供氧不足,组织、细胞缺氧,CO₂积累,物质代谢下降。临床表现为呼吸困难、活动迟缓、反应迟钝、食欲和食量锐减或停食等症状。

2.2 炎性细胞肝组织的浸润

2.2.1 浸润细胞数量大,面积广 肝组织受到损害时,炎性细胞被激活、趋化、游走,浸润肝组织后聚集、吞噬、消化(图版I-2,×100)坏死组织与细胞。炎性细胞先在门静脉的周围贴壁,然后向炎症组织聚集并浸润整个病灶,光镜下难辨肝组织结构,所见多为血细胞(图版I-3,×200)。电镜下所见肝静脉中白细胞占绝大多数,挨血管的肝细胞所见结构极少,多

为浸润到肝细胞中的白细胞和淋巴细胞(图版 I - 4, $\times 2\ 900$)。

2.2.2 游走细胞种类多 浸润肝组织的嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞(图版 I - 5, $\times 2\ 900$)、Kuffer 细胞(图版 I - 6, $\times 5\ 800$)、单核细胞(图版 I - 7, $\times 5\ 800$)和淋巴细胞(图版 I - 8, $\times 3\ 600$)进行本身的或协同的或抑制的免疫反应。以往研究认为,中华鳖嗜中性粒细胞具有嗜异染颗粒,而称为嗜异粒细胞^[1,4]。作者认为中华鳖嗜中性粒细胞具有同哺乳类^[6]和鸟类^[12]相似的结构、免疫功能及发生、发育变化,在非寄生性肝病的细胞免疫反应中起着重要作用。

2.2.3 溶酶体、合胞体多 变性、坏死的肝细胞部分胞浆与由浸润肝组织中的嗜中性粒细胞、Kuffer 细胞分泌的溶酶体(图版 II - 1, $\times 3\ 600$)包围形成合胞体,溶酶体进行消化、分解作用(图版 II - 2, $\times 7\ 200$),并可见消化后的膜片和残体(图版 II - 3, $\times 7\ 200$)。

2.3 渗出性出血的病理反应

人类^[15]、家禽^[5]和鱼类^[2]的红细胞具有免疫机能或免疫反应已见报道。中华鳖红细胞的结构与鸟类、鱼类相似,且个体大、数量多,表现了极大的载 O_2 和 CO_2 能力。本研究发现了中华鳖红细胞在病变肝组织中发生红细胞大量渗出的病理现象(图版 II - 4, $\times 400$),关于中华鳖红细胞是否具有 C_{3b} 受体及免疫机能等问题有待进一步研究。

2.4 被激活的炎性细胞亚显微结构变化多样

肝组织中激活的炎性细胞亚显微结构与鱼类^[13]差别较大,其中性粒细胞和 Kuffer 细胞表现较突出。

2.4.1 嗜中性粒细胞 嗜中性粒细胞是数量最多、个体最大、核型变化复杂的炎性细胞,按其生理状态分为幼、中、老 3 种类型^[6]:幼嗜中性粒细胞(图版 II - 5, $\times 2\ 900$)核圆形,线粒体较中嗜中性粒细胞少而多于老嗜中性粒细胞,细胞较中嗜中性粒细胞、老嗜中性粒细胞小,核质比 1:1.6;中嗜中性粒细胞(图版 II - 6, $\times 2\ 900$)核周变形而无分支,线粒体最多,细胞较幼嗜中性粒细胞大而小于老嗜中性粒细胞,核质比 1:1.3;老嗜中性粒细胞(图版 II - 7, $\times 5\ 800$; 8, $\times 7\ 200$)核变形复杂多样,细胞最大,线粒体最少且有破裂,胞浆有空泡,核质比 1:1.1,核边缘染色较深,核仁清晰且居边缘。结构的变化足以证明其免疫机能也相应由幼稚、成熟到衰老的发育过程。

2.4.2 嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞 与致炎因素以及炎症反应的阶段不同,使 2 种细胞数量极少,阿米巴运动弱,故浸润到肝组织中的极少。

2.4.3 Kuffer 细胞 血液中单核细胞移行到各组织器官去的时候转变为巨噬细胞而定居,包括腹腔、肺、骨髓、脾、淋巴结和肝^[6]。巨噬细胞的活化与介质释放,在慢性炎症的病因学中起着核心的作用^[7]。肝脏的巨噬细胞称为 Kuffer 细胞, Kuffer 细胞内有吞噬泡,伪足长,核变形且分支(图版 I - 6),与哺乳动物、鸟类的 Kuffer 细胞结构不同^[12]。数量较少,较粒细胞小,核质比为 1:2。

2.4.4 单核细胞 肝静脉中单核细胞的核为长圆形、不分叶,核质比为 1:0.8,核染色均匀(图版 I - 7)。

2.4.5 淋巴细胞 淋巴细胞较小,核染色深,核质比为 1:1.2,胞浆染色淡,线粒体极少(图版 I - 8)。

参 考 文 献

- 1 王石泉. 鳖外周血细胞显微形态及细胞化学. 动物学杂志社, 1995, 30(1): 16~18
- 2 冯来坤, 等. 鱼类红细胞免疫功能的研究. 中国人民解放军兽医大学学报, 1992, 12(2): 121~123
- 3 毕爱华. 医学免疫学. 人民军医出版社, 1995. 10~69
- 4 刘恩勇, 等. 中华鳖外周血细胞形态学观察. 南京农业大学学报, 1991, 14(3): 91~96
- 5 张德成, 等. 鸡红细胞免疫功能研究. 浙江农业大学学报, 1988, 14(2): 161
- 6 钟慈声, 等. 细胞和组织的超微结构. 北京: 人民卫生出版社, 1981. 86~96, 129~134
- 7 候健存. 免疫病理学的分子与细胞基础. 北京: 科学出版社, 1984. 56~86
- 8 程备久, 等. 鳖血细胞数量的季节变化及形态结构研究. 应用生态学报, 1996, 7(4): 411~416
- 9 蒋立科, 等. 鳖血细胞结构及功能的初步研究. 动物学报, 1996, 42(3): 327~329
- 10 简纪常, 等. 中华鳖脾脏在 HRP 刺激下形态结构的变化. 中国水产科学, 1996, 3(1): 21~26
- 11 潘连德. 中华鳖非寄生性肝病组织病理研究. 水产学报, 1998, 22(2): 129~135
- 12 Cooper J E, Jackson O F. Diseases of the reptilia. Vol. 2. New York, London: Academic Press, 1981
- 13 FujiMaKi Y and M Isoda. Fine - structural study of leucocytes in the goldfish, *Carassius auratus*. J Fish Biol, 1990, 36: 821~831
- 14 Hawkey C M, Denntt T B. A Colour atlas of comparative veterinary haematology. Clarendon Press, Oxford, 1989
- 15 Segel I, et al. The red - dell immune system. Lancet, 1981, 2: 556

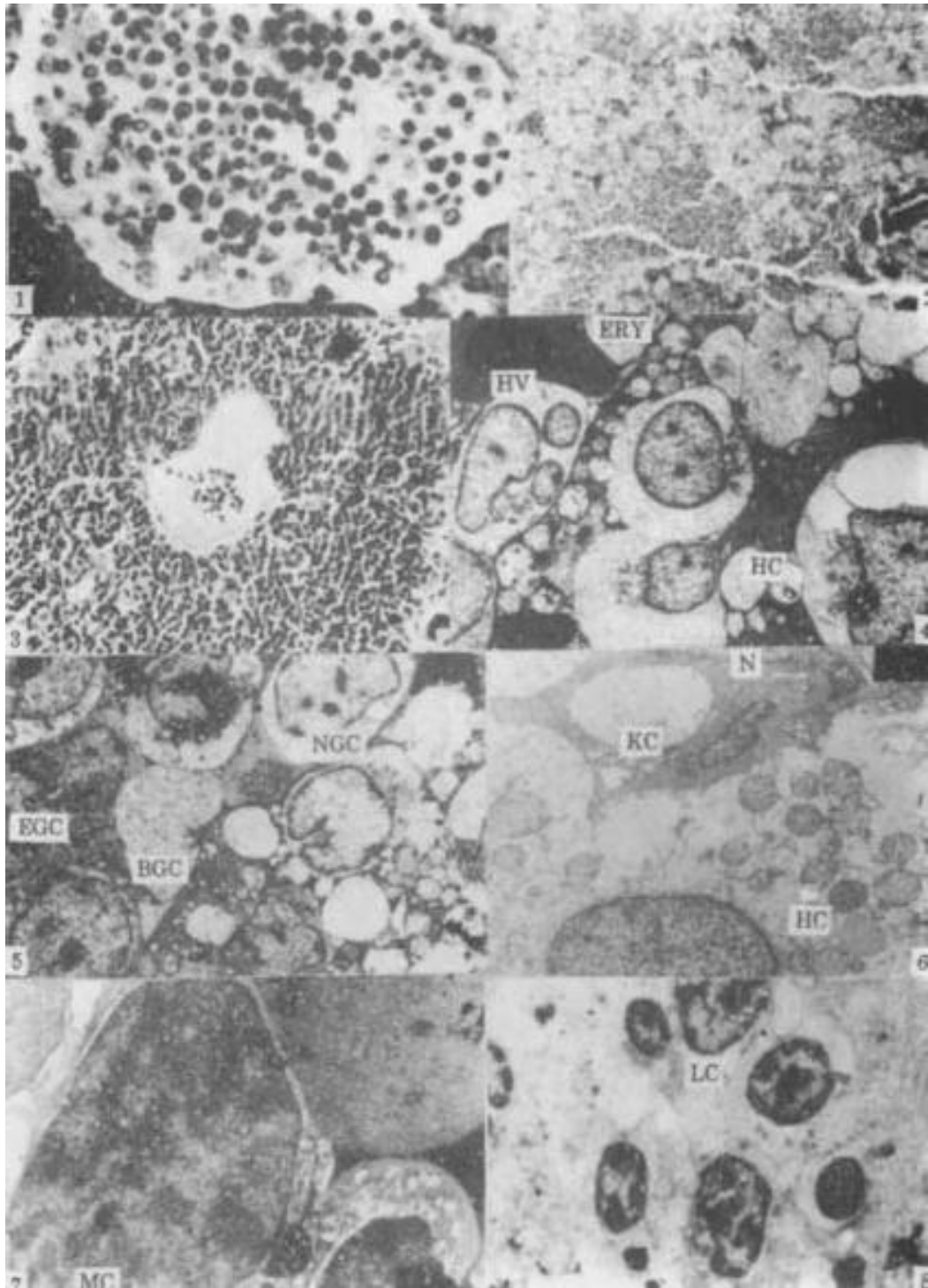
Infiltration and structure of inflammatory cell in the hepatic tissue of *Trionyx sinensis*

Pan Liande

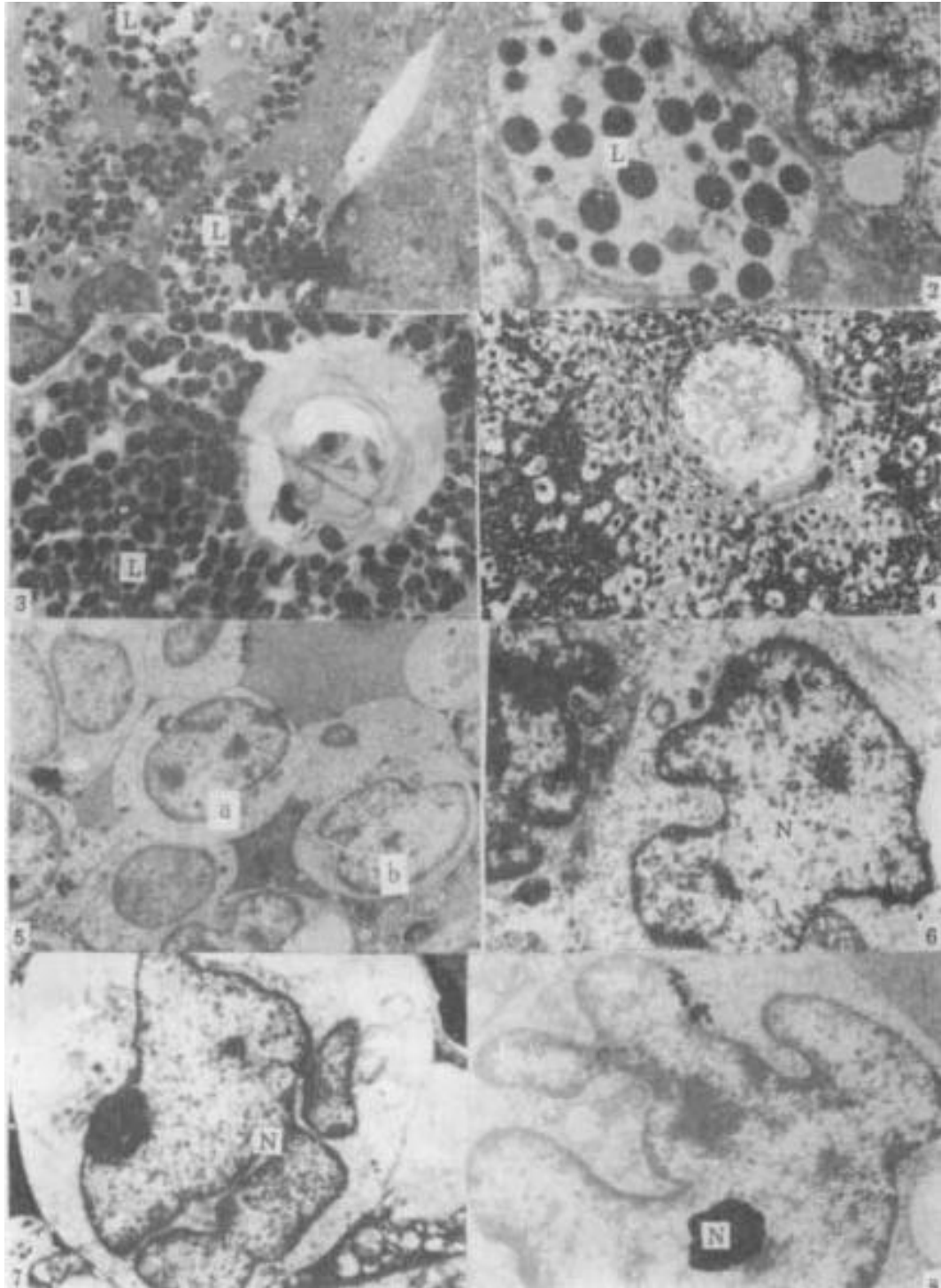
(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, 200090)

Abstract With histochemical method, microscopy and ultrastructure biotechnology, the hemogram changes of peripheral blood and hepatic vein blood in shelled turtle with nonparasitital hepatitis were studied. Meanwhile, the ultrastructure of the infiltrated inflammatory cells in hepatic tissue and their cellular immunopathological reaction were observed. The result shows that inflammatory cells can be aroused fast, their chemotaxis are strong and their infiltration scope are wide. All these reflect that the cytoimmunity level of shelled turtle is much higher. Among the cells neutrophilie grainy cells are in a large quantity, and their cell structure changes greatly. They play a more important role than lymphocyte and Kuffer cells do in nonspecific immunoreaction. Aroused granulocyte in hepatic tissue and those nonaroused in blood changes obviously in quantity and structure. The cytoimmunological reaction is strong, such as being aroused, emigrating, infiltrating, gathering, englobing, digesting. Red - cell has immunopathologic reaction.

Key words *Trionyx sinensis*, hepatic tissue, inflammatory cell, ultrastructure, immunopathology



图版 I Plate I



图版 II Plate II