

研究简报

鲇鱼淋巴样器官的发育

ONTOGENY OF LYMPHOMYELOID ORGANS IN CATFISH (*SILURUS ASOTUS* L.)

钟明超

(中山大学生物系, 广州 510275)

Zhong Mingchao

(Department of Biology, Zhongshan University,
Guangzhou 510275)

黄浙

(山东大学生物系, 济南 250100)

Huang Zhe

(Department of Biology, Shandong University,
Jinan 250100)

关键词 淋巴样器官, 发育, 鲇

KEYWORDS lymphomyeloid organs, ontogeny, *Silurus asotus*

硬骨鱼类的淋巴样组织(lymphomyeloid tissue, LT)主要分布在胸腺、头肾、肾和脾。对一些代表性鱼类的LT已有描述[Fänge, 1982; 1984],尤其是对胸腺的研究更多。然而,对于鱼类淋巴样器官发育的研究则较少,主要有Ellis[1977]、Grace和Manning[1980]、Botham和Manning[1981]、Tohjo[1988]和O'Neill[1989]的工作。这些研究表明,LT的发育存在着较大的种间差异。

鲇(*Silurus asotus* L.)广泛分布于我国江河湖泊中,但关于其LT和LT的发育均未见报道。本文描述LT的个体发育,以期丰富鱼类免疫生物学的知识。

1 材料与方法

实验所用鲇鱼胚胎、前期仔鱼、仔鱼和幼鱼系在实验室人工繁殖、饲养而得。人工繁殖的具体方法见钟明超和黄浙[1993]。取原肠胚晚期、神经胚(胚孔封闭)期、尾芽分离期、肌肉效应期和心博期各期胚胎,以及出膜当天、第2、3、4、5、6、8、10、12、16、20、28、36、50天的各期仔鱼或幼鱼, Bouin氏液固定24小时。胚胎和较小的仔鱼采用整体固定;较大的幼鱼只固定躯干部;对出膜第20天后的幼鱼则解剖取出胸腺、头肾、肾和脾,分别固定。常规石蜡包埋、连续切片(5—7 μ m), H. E. 染色, Olympus显微镜观察并照相。

2 结果

胚胎期和出膜当天,胸腺、脾均未见原基。出膜当天,在脊索腹面可见一索状生肾组织,从第三肌节起直达躯干后部;卵黄囊仍很大。

出膜第2天,胸腺原基和脾原基均未形成。生肾组织的前部已形成一对前肾小球并发出一对直的前肾小

管直抵躯干后部。在“头肾”、“肾”的区域有发达的血管,其内有许多红细胞。

出膜第3天,胸腺原基已形成,由3—4层细胞组成,横切面上大小可达 $100 \times 23 \mu\text{m}$ 。原基位于第5对鳃弓之背侧,腹面为一层扁平上皮与鳃腔分隔(图版—1)。原基内的细胞较大,直径达 $8 \mu\text{m}$,胞质微嗜碱性;核大,可达 $6 \mu\text{m}$,有一大而明显的核仁,核染色较浅。“头肾”、“肾”与出膜第2天相似,但前肾小管进一步生长并产生许多弯曲。鳔原基已形成,但尚未将“头肾”“肾”分隔开。脾原基已形成,大小可达 $110 \times 58 \mu\text{m}$ (图版—4),由成纤维细胞和大而圆的微嗜碱性细胞组成,其内亦可见血管。

出膜第4天,胸腺已相当明显,横切面上略呈长卵圆形,达 $90 \times 50 \mu\text{m}$,由密集的细胞组成,细胞嗜碱性不强,与出膜第3天相似。“头肾”和“肾”区域内已出现大而微嗜碱性的细胞,直径达 $8 \mu\text{m}$,胞质微嗜碱性。核较大,可达 $5 \mu\text{m}$,有一大型核仁。鳔进一步发育,将“头肾”和“肾”两区明显分开。脾原基与出膜第3天相似,但体积进一步增大,血管内有许多红细胞。

出膜第5天,胸腺进一步发育,切面上可达 $150 \times 80 \mu\text{m}$ 。“头肾”区域内已有明显的LT。鳔已将“头肾”和“肾”完全分开,但前肾管仍联系着“头肾”和“肾”两区。“肾”内出现许多强嗜碱性的细胞团,为中肾单位原基,与Hentschel[1991]在角鲨幼体的描述相同。脾可达 $220 \times 70 \mu\text{m}$,可见到发育中的红系细胞作同心圆状排列而形成的红细胞生成集落。

出膜第6天,胸腺在切面上达 $220 \times 130 \mu\text{m}$ (图版—2)。除有少数类肌细胞外,多数为典型的淋巴细胞,圆而较小,直径 $6-7 \mu\text{m}$,核大($4-5 \mu\text{m}$),有1至数个核仁。细胞嗜碱性较强,胞质相对很少。“头肾”区域内嗜碱性也增加。前肾小体仍存在,可达 $110 \times 80 \mu\text{m}$,但毛细血管球已趋退化。前肾小管上皮细胞也开始退化:核已模糊不清,有的细胞轮廓和界限也不清晰,整个细胞嗜酸性大为增加,为伊红深染(图版—5)。“肾”区域内LT与“头肾”相似,但有许多发育中的中肾单位散布于LT间,中肾小体也已形成(图版—8)。脾内血管和红细胞生成集落均明显增加(图版—7)。

出膜第8天,胸腺进一步扩大,切面上可达 $340 \times 150 \mu\text{m}$,除强嗜碱性的胸腺细胞外,还可见到类肌细胞和成纤维细胞。“头肾”和“肾”区域内的LT和司排泄的肾单位均与出膜第6天相似。脾亦与出膜第6天相似,但已形成椭圆体。此外,“头肾”、“肾”和脾外被的浆膜可见色素细胞迁入。

出膜第10天,胸腺已相当发达并向鳃腔突出,可达 $350 \times 200 \mu\text{m}$ 。头肾与出膜第8天相似,但前肾小球已相当萎缩。肾内仍有许多发育中的中肾单位,在肾的前部还可见退化中的前肾(小)管。脾在切面上可达 $360 \times 120 \mu\text{m}$,椭圆体更明显。

出膜第12天,胸腺可达 $460 \times 250 \mu\text{m}$,背方类肌细胞较多、淋巴细胞稀少;而腹方区域类肌细胞少、淋巴细胞多而密集。这样胸腺开始出现分区现象。胸腺内可见管壁较薄的血管,没有结缔组织小梁。头肾、肾内LT嗜碱性明显增加。脾体积进一步增大。

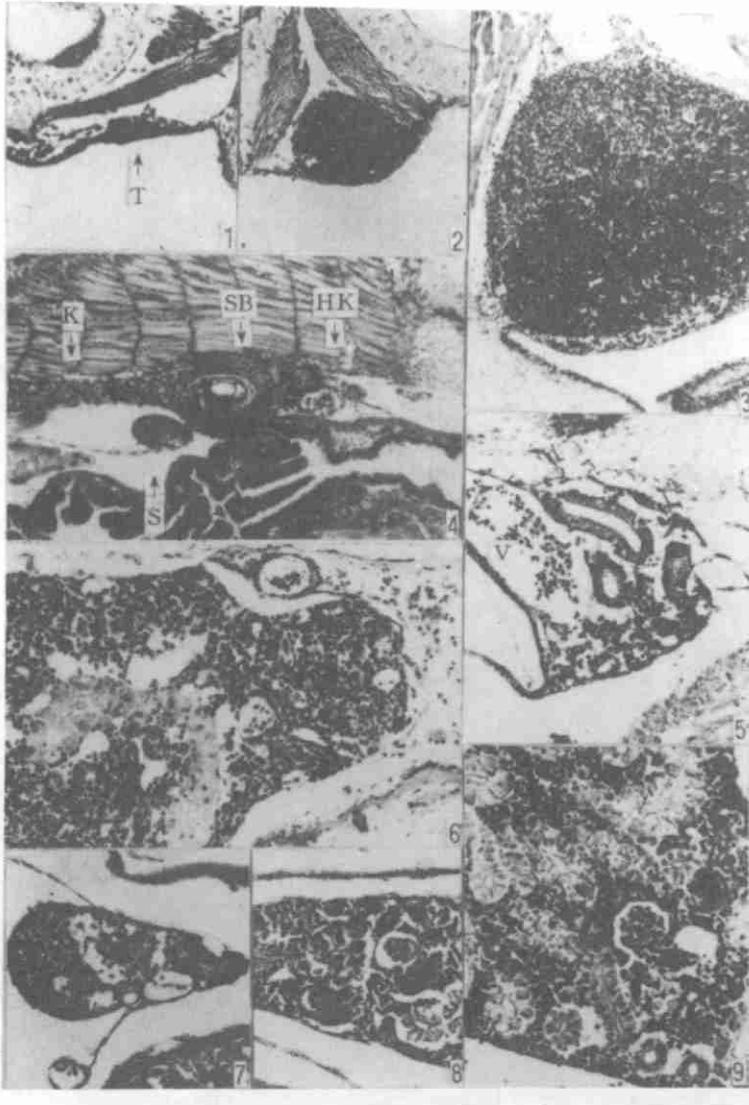
出膜第16天,胸腺切面达 $520 \times 390 \mu\text{m}$,分区现象更明显。头肾内仍可见残存的前肾小球和前肾小管,LT中许多细胞呈强嗜碱性,为典型的淋巴细胞。肾内也有残存的前肾小管。头肾和肾内均未见明显的红细胞生成集落。脾内已大量产生红细胞。

出膜第20天,胸腺可分为明显的三区:内区在背方,淋巴细胞稀疏而类肌细胞多;中区淋巴细胞多而密集,类肌细胞很少;外区在最腹方,含较多的纤维性结缔组织和类肌细胞,淋巴细胞稀少,外区仅以极薄的基膜与鳃腔分隔(图版—3)。头肾内前肾小体已消失,但尚可见残存的前肾小管(图版—6),球状的肾上腺滤泡已形成。肾内同样可见发育中的中肾单位和残存的前肾小管(图版—9)。头肾和肾内均可见到红系细胞生成集落。脾与出膜第16天相似。此外,在头肾、肾和脾内的大血管壁的结缔组织层均可见到色素细胞。LT中偶而可见到含色素的巨噬细胞,但极稀少,未形成“含色素的巨噬细胞集结”(钟明超,1993)。

出膜第28天,头肾内的肾上腺滤泡扩大、破裂后贴于后主静脉壁旁,前肾小管已完全退化、消失。至此头肾的组织结构与成鱼完全相同。出膜第28、36、50天,胸腺、头肾、肾和脾的组织学变化很少,主要是进一步生

(1)钟明超,1993。鲑鱼含色素的巨噬细胞集结的诱导发生和水污染对鲫鱼淋巴髓样组织的细胞学影响。

长、扩大。在头肾、肾和脾内,均可见到含色素的巨噬细胞,但数量极少,不形成“含色素的巨噬细胞集结”,胸腺内则未见含色素的巨噬细胞。



图版 鲇鱼淋巴样器官的发育

Plate Ontogenesis of lymphomyeloid organs in *Silurus asotus* L.

1. 出膜第3天,横切,胸腺原基(T)已形成,×36;
2. 出膜第6天,纵切,胸腺原基显著增大,×36;
3. 出膜第20天的胸腺(纵切),可分为内、中、外三区,×18;
4. 出膜第3天(纵切),脾原基(S)已形成。HK:“头肾”,K:“肾”,SB:鳃原基,×36;
5. 出膜第6天(纵切),示头肾区域内出现稀疏的LT,前肾小管开始退化。V:后主静脉,×36;
6. 出膜第20天的头肾,在发达的LT间尚可见残存的前肾小管,×72;
7. 出膜第6天(纵切),示脾,×36;
8. 出膜第6天(纵切),肾,示嗜碱性的间充质细胞团分化形成中肾单位,×36;
9. 出膜第20天,肾,示肾小管和退化的前肾小管间散布的LT,×36。

3 讨论

在个体发育上, 鱼类胸腺原基一般是最先出现的淋巴样器官原基, 故一般认为胸腺是鱼类的中枢淋巴样器官。但在一种南极目鱼类 *Harpagifer antarcticus*, 胸腺原基在出膜 4 周后才出现; 而在头肾区域, 出膜 1 小时即可见到淋巴样细胞 [O'Neill, 1989]。鲑鱼和鲤鱼均是亚热带和温带水域的淡水鱼类, 其胚胎孵化时间相差不大, 胸腺原基均在出膜 2 天后 (即第 3 天) 出现, 但与鲑科鱼类、南极目鱼类等冷水性鱼类有很大差别 (表 1)。表 1 还表明, 在不同的鱼类间胸腺发育的差异除了与物种差异有关外, 可能还与胚胎和胚后发育的环境条件尤其是水温有关。

表 1 几种硬骨鱼类的淋巴样器官发育的比较

Table 1 Comparison on histogenesis of lymphomyeloid organs among several species of teleosts

种名和作者	孵化 时间 (天)	孵化 水温 (°C)	出现胸 腺原基	出现 脾原基	“头肾”区域 出现原始 造血细胞	“肾”区域 出现原始 造血细胞
<i>Salmo salar</i> Ellis, 1977	111	4—7	出膜前 22 天	出膜 42 天后	*	出膜前 22 天
<i>Salmo gairdneri</i> Grace 和 Manning, 1980	15	14	出膜前 5 天	出膜 3 天后	*	出膜前 5 天
<i>Cyprinus carpio</i> Botham 和 Manning, 1981	1—2	22±1	出膜 2 天后	出膜 5 天后	*	出膜 2 天后
<i>Cyprinus carpio</i> Tohjo, 1988	1—2	23—25	出膜 2 天后	出膜 4 天后	出膜 2 天后	出膜 4 天后
<i>Harpagifer antarcticus</i> O'Neill, 1989	*	*	出膜 4 周后	出膜 4 周后	出膜 1 小时后	**
<i>Silurus asotus</i> 本文作者	34 小时	22—25	出膜 2 天后	出膜 2 天后	出膜 3 天后	出膜 3 天后

注: 标 * 号者为未描述; 标 ** 者为未指出最早出现原始造血细胞时间, 但后来又描述肾区域内有 LT 发生。

头肾是硬骨鱼类重要的淋巴样器官。在个体发育上, 头肾 (和肾) 一般是继胸腺之后第二个发育的淋巴样器官 [Ellis, 1977; Grace 和 Manning, 1980; Botham 和 Manning, 1981; Tohjo, 1988]。加上在个体发育上 IgM 阳性细胞最先出现在头肾和肾中 [Tohjo, 1988; Razquin 等, 1990], 有作者认为头肾是法氏囊的等同器官 [Tohjo, 1988; Razquin 等, 1990], 而把脾作为是外周淋巴器官。

鸟类体液免疫系统已有中枢淋巴器官和外周淋巴器官的分化。作为中枢淋巴器官, 法氏囊在个体发育上的出现先于外周淋巴器官, 是 B 细胞克隆增殖的场所, 没有浆细胞, 且在性成熟后逐渐退化。但在本研究中, 作者观察到鲑鱼出膜 2 天后 (即第 3 天) 即已出现脾原基, 而“头肾”和“肾”区域在出膜第 4 天才出现原始造血细胞。如果头肾是鱼类的法氏囊等同器官的话, 根据生物重演律, 它不仅在个体发育上, 而且在系统发育上的出现均应先于脾。然而, 脾在系统发育上先于头肾和肾, 在圆口类即已出现脾, 并且是一个完全的淋巴样器官 [Finstad 等, 1964; Fänge 和 Nilsson, 1985]。此外, 硬骨鱼类的头肾一般不随性成熟而退化, 而是一个重要的淋巴样器官, 并且有典型的浆细胞 [Smith 等, 1970; Cenini, 1984]。这些实验事实均不支持“头肾是鱼类法氏囊等同器官”的观点。作者认为, 硬骨鱼类免疫系统分化程度低, 其体液免疫系统尚未出现中枢淋巴器官和外周淋巴器官的分化, 在个体发育早期, 头肾、肾和脾的发育可能均不依赖抗原刺激, 与高等动物的法氏囊相似; 但

它们不随性成熟而退化、在抗原刺激后有大量浆细胞出现,与高等脊椎动物的外周淋巴器官相似。综上所述,作者认为不宜把头肾认为是法氏囊的等同器官。

硬骨鱼类成鱼的头肾是否由“前肾”(Pronephros)衍变而来,目前尚无结论[Fänge, 1984]。Sharma [1972]曾注意到成鱼头肾和肾间有一对残存的索状肾组织,并提出成鱼的头肾是由中肾(mesonephros)衍变而形成的。在鲑鱼成鱼头肾和肾间也存在一对索状肾组织。本研究清楚地表明,鲑鱼头肾是原始生血干细胞迁入头肾区域并逐渐发育成LT,前肾单位逐渐退化、消失,最终衍变成成鱼的头肾。因此,鲑鱼成鱼的头肾不是由“中肾”衍变形成的;严格地讲,也不是由前肾衍变形成的。

本文承林浩然教授审阅,谨此致谢。

参 考 文 献

- [1] 钟明超,黄 浙,1993.关于鲑的卵色.水产学报, 17(3): 262—263.
- [2] Botham, J. W. & M. J. Manning, 1981. The histogenesis of the lymphoid organs in the carp *Cyprinus carpio* L. and the ontogenetic development of allografty reactivity. *J. Fish Biol.*, 19: 403—414.
- [3] Conini, P., 1984. The ultrastructure of leucocytes in carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Zool. (Lond.)*, 204: 509—520.
- [4] Ellis, A. E., 1977. Ontogeny of the immune response in *Salmo salar*: Histogenesis of lymphoid organs and appearance of membrane immunoglobulin and mixed leucocyte reactivity. In: J. B. Solomon & J. D. Horton (eds), *Developmental Immunobiology*, 225—231. Elsevier, North—Holland, Amsterdam.
- [5] Fänge, R., 1982. A comparative study of lymphomyeloid tissue in fish. *Dev. Comp. Immunol.*, 6(suppl.2): 22—33.
- [6] ——, 1984. Lymphomyeloid tissue in fishes. *Vidensk. Meddr. Dansk Naturh. Foren.* 145: 143—162.
- [7] Fänge, R. & S. Nilsson, 1985. The fish spleen: structure and function. *Experimentia*, 41: 152—158.
- [8] Finstad, J. et al., 1964. Evolution of the immune response. II. Morphologic studies on the origin of the thymus and organized lymphoid tissue. *Lab. Invest.*, 13: 490—512.
- [9] Grace, M. F. & M. J. Manning, 1980. Histogenesis of the lymphoid organs in rainbow trout *Salmo gairdneri* Rich. 1836. *Dev. Comp. Immunol.*, 4: 255—264.
- [10] Hentschel, H., 1991. Developing nephrons in adolescent dogfish, *Scyliorhinus caniculus*(L.), with reference to ultrastructure of early stages, histogenesis of the renal countercurrent system, and nephron segmentation in marine elasmobranchs. *Am. J. Anat.*, 190: 309—333.
- [11] O'Neill, J. G., 1989. Ontogeny of the lymphoid organs in an antarctic teleost, *Harpagifer antarcticus*(Notothenioidei, Perciformes). *Dev. Comp. Immunol.*, 13: 25—33.
- [12] Razquin, B. E. et al., 1990. Ontogeny of IgM—producing cells in the lymphoid organs of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson; an immuno— and enzyme— histochemical study. *J. Fish Biol.*, 36: 159—173.
- [13] Sharma, S., 1972. Homology of the so—called head kidney in certain indian teleosts. *Ann. Zool. (Acra)*, 7: 20—40.
- [14] Smith, A. M. et al., 1970. Plasmocytopenia in the pronephros of the carp(*Cyprinus carpio*). *Anat. Rec.*, 167: 351—370.
- [15] Tohjo, M., 1988. Histogenesis of hemopoietic tissue and immunoglobulin—forming cells in the carp, *Cyprinus carpio*. *Bull. Yamaguchi Med. Sch.*, 35(3—4): 43—52.