

银鲳脾脏和头肾的形态与组织学特征

季益平¹, 匡思雯¹, 袁子¹, 王亚军¹, 徐善良^{1,2}, 唐道军^{1,2*}

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315832; 2. 宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315832)

摘要: 为了解银鲳(*Pampus argenteus*)免疫器官的特点, 采用解剖及组织切片显微技术, 对银鲳脾脏和头肾的形态与组织学结构特征进行观察。结果显示: 银鲳的脾脏位于胃后方, 前肠背侧, 外被薄层结缔组织, 内部实质由红髓和白髓组成; 脾小梁结构不明显, 内含大量淋巴细胞、红细胞及丰富的动脉、静脉和椭圆体结构; 有黑色素巨噬细胞及其聚集形成的黑色素巨噬细胞中心, 无神经束结构; 头肾位于食道背侧, 口腔内咽退缩肌上方, 表面有胶原纤维构成的薄层被膜, 内部为淋巴样实质组织, 无肾单位结构; 头肾含有丰富的淋巴细胞和少量红细胞, 分布有动脉、静脉和毛细血管, 在毛细血管旁存在肾上组织, 实质中可见黑色素巨噬细胞中心。研究结果表明, 银鲳的脾脏和头肾是体内重要的免疫和造血器官。

关键词: 银鲳; 脾脏; 头肾; 形态特征; 组织结构

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2020) 04-0001-05

鱼类的免疫系统主要由免疫器官及组织、免疫细胞和免疫因子构成^[1], 其中脾脏和头肾是鱼类重要的免疫器官, 也是血细胞发生、抗体生成和粒细胞生成的重要场所, 兼有免疫和造血功能。目前, 关于鱼类头肾和脾脏的形态与组织学研究已经有不少成果, 主要涉及花尾胡椒鲷(*Plectorhinchus cinctus*)^[2]、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)^[3]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[4]、红笛鲷(*Lutjanus sanguineus*)^[5]、鲮(*Mugil cephalus*)^[6]、四指马鲛(*Eleutheronema tetradactylum*)^[7]、驼背鲈(*Chromileptes altivelis*)^[8]等鱼类。

银鲳(*Pampus argenteus*)属鲈形目(Perciformes)、鲳亚目(Stromateoidei)、鲳科(Stromateidae)、鲳属(*Pampus*), 广泛分布于我国近海, 是一种重要的经济鱼类。目前有关银鲳的研究主要涉及生长与生态、繁殖特性^[9]、营养成分和体成分分析^[10]、分子生物学^[11]等诸多方面。有关银鲳头肾和脾脏组织学方面的研究, 尚未见报道。

本文对人工养殖银鲳的头肾、脾脏的组织显微结构进行了观察, 并分析了银鲳免疫器官的结构

与功能, 以期为研究银鲳适应性免疫应答提供基础资料, 进而为银鲳人工养殖技术的提高提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验鱼获得

实验所用的银鲳取自宁波大学象山港银鲳养殖示范基地, 采用工厂化养殖模式。养殖水温 12.0~31.5 °C, 盐度 20~26, 溶氧量 $\geq 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.8~8.1。取雌雄成鱼各 10 尾, 体质量在 50~150 g 之间。

1.2 实验方法

取样前一天将养殖池中的银鲳暂养在 300 L 黑桶中, 避免惊扰。取样前用 MS-222 对银鲳进行麻醉后测定其体质量和体长, 然后将银鲳放置在冰盘上解剖。取出头肾和脾脏, 适当修剪后将组织样放入 Bouin's 液中固定 24 h, 流水冲洗后用梯度酒精脱水、二甲苯透明和石蜡包埋。以 6~8 μm 厚度进行横向和纵向的连续切片, 经 HE 染色后, 利用中性树脂封片, 在 Nikon E200 显微镜下进行观察, 并拍照。

收稿日期: 2019-12-17.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(31872586); 浙江省重大科技专项(2019C02059); 浙江省自然科学基金(LY18C190008)。

第一作者: 季益平(1995-), 男, 安徽芜湖人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 鱼类健康养殖。E-mail: 1643421349@qq.com

*通信作者: 唐道军(1984-), 男, 湖南永州人, 实验师, 主要研究方向: 水产养殖。E-mail: tangdaojun@nbu.edu.cn

2 结果与分析

2.1 银鲳脾脏的解剖学形态

银鲳脾脏位于胃的后方,前肠的背侧,单个。肉眼观察发现其表面光滑,呈暗红色,长圆形,两端略尖,腹面平,背面略有凸起(图 1)。



图 1 银鲳脾脏的形态结构

2.2 银鲳脾脏的组织学结构

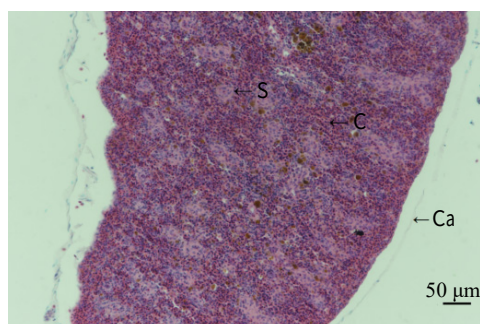
银鲳脾脏被膜由薄层结缔组织构成,被膜下为实质,被膜中的结缔组织延伸到脾脏实质中形成粗大的无规则支架结构,脾脏实质中无粗大的纤维,有小梁结构,但不明显(图 2(a))。脾脏实质中可见大量的血管,动脉血管一般附着在静脉血管附近;静脉血管的管腔大、管壁薄;动脉血管的管腔较小、管壁较厚,主要由平滑肌和扁平上皮细胞构成。在动脉血管附近可见椭圆体结构,管壁薄,

主要由红髓和白髓构成,两者之间没有明显的界限;白髓主要由密集的淋巴细胞构成,其中含有少量粒细胞和黑色素巨噬细胞;红髓主要是由红细胞和未成熟的红细胞构成,成熟的红细胞呈椭圆形,细胞核较大,未成熟的红细胞大小和前者相当(图 2(b))。在红髓中可见红细胞和未成熟的红细胞排列为索状结构,称为脾索。在脾索之间会形成形态不规则的脾窦结构,由网状结缔组织构成,其间存有一定的间隙,多存于相邻的血窦之间,其中具有血细胞(图 2(c))。脾索之间有长杆状内皮细胞,细胞核大;脾脏实质还可见黑色素巨噬细胞中心,细胞核特别大,几乎占据整个细胞;少部分黑色素巨噬细胞在脾脏实质中呈分散排列,大部分聚集在一起形成黑色素巨噬细胞中心;黑色素巨噬细胞的分布没有规律,在脾脏实质的红髓、白髓以及血管附近均有发现(图 2(d))。

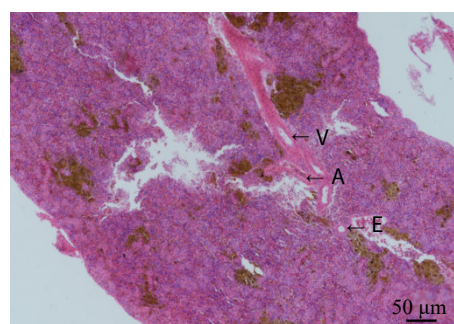
2.3 银鲳头肾的形态及组织学结构

2.3.1 头肾的解剖形态

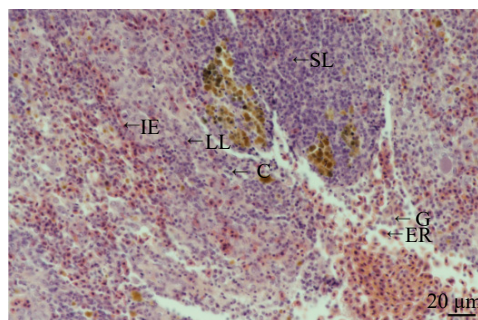
银鲳的肾脏位于体腔背侧,消化道背上方,其外部为长条形,紧贴脊椎腹面,肾脏的前端部分为头肾。头肾在心腹隔膜前的食道背侧,胸腔内咽退



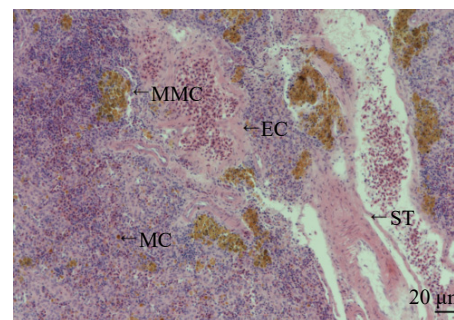
(a) 被膜、脾索和脾窦(×200 倍)



(b) 动脉、静脉和椭圆体(×200 倍)



(c) 红髓和白髓(×400 倍)



(d) 黑色素巨噬细胞中心和内皮细胞(×400 倍)

C 为脾索; Ca 为被膜; S 为脾窦; V 为静脉; A 为动脉; E 为椭圆体; LL 为大淋巴细胞; SL 为小淋巴细胞; IE 为未成熟红细胞; ER 为成熟红细胞; G 为粒细胞; MC 为黑色素巨噬细胞; MMC 为黑色素巨噬细胞中心; EC 为内皮细胞; ST 为脾小梁。下图同。

图 2 银鲳脾脏的组织学结构

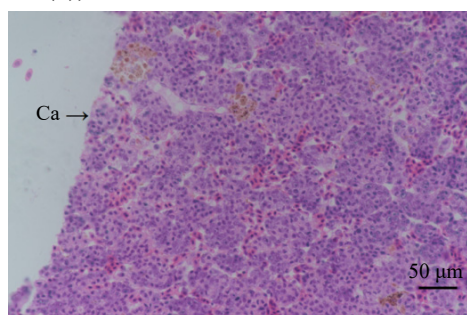
缩肌的上方, 颜色为红褐色, 略呈扁平状, 质地柔软, 表面不光滑, 头肾和体肾之间有明显的界限, 被心腹隔膜隔开(图 3)。



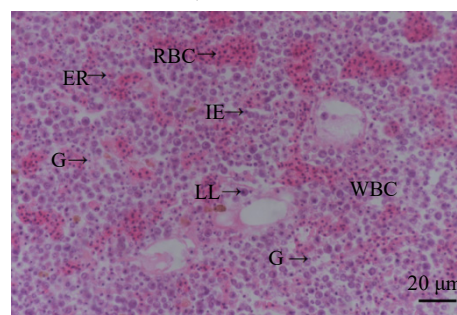
图3 银鲳头肾的形态结构

2.3.2 头肾的组织学结构

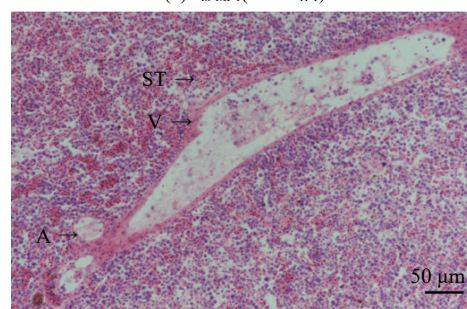
银鲳头肾被膜由一层薄薄的肌原纤维构成(图 4(a)). 头肾实质中无肾单位结构, 而是由大量的淋巴细胞、少量的红细胞和粒细胞填充; 头肾实质中无小梁, 也没有明显的血窦组织, 淋巴细胞聚集区面积较大, 红细胞聚集区面积较小; 红细胞聚集区主要为成熟和未成熟的红细胞, 淋巴细胞聚集区主要由大、小淋巴细胞和粒细胞构成(图 4(b)). 在头肾组织中可看到静脉血管、动脉血管和毛细血管; 头肾中还分布有肾上组织(由肾上组织细胞聚集所形成的小团状结构), 其细胞较小, 排列紧密(图 4(c)). 银鲳头肾实质中可见聚集在一起的黑色素巨噬细胞中心, 同时也有分散在实质中的黑色素巨噬细胞(图 4(d)).



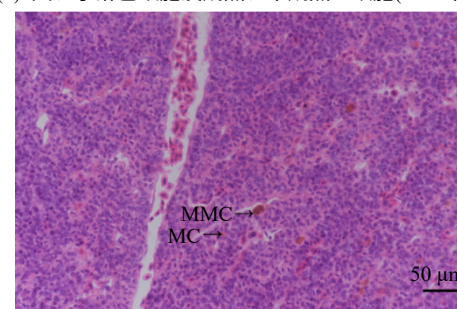
(a) 被膜(×200 倍)



(b) 大、小淋巴细胞及成熟、未成熟红细胞(×400 倍)



(c) 肾上组织、动脉和淋巴细胞聚集中心(×200 倍)



(d) 黑色素巨噬细胞中心和黑色素巨噬细胞(×400 倍)

图4 银鲳头肾的组织学结构

3 讨论

3.1 银鲳脾脏的组织学特征及其生理学功能

脾脏是鱼体最主要的造血器官和免疫器官, 真正的脾脏结构在有颌鱼类才开始出现. 脾脏是鱼类胚胎发育过程中最晚开始发育的免疫器官, 是鱼类红细胞、中性细胞和粒细胞发生、贮存和成熟的主要场所. 鱼类的脾脏和哺乳动物的脾脏在形态学与组织学结构上存在巨大差异, 如鱼类脾脏的被膜薄, 脾小梁结构不明显; 而哺乳动物的被膜较厚, 在实质中含有丰富的结缔组织和粗大的肌纤维, 脾小梁结构发达. 不同鱼类脾脏的形态和大小存有差异, 如软骨鱼的脾脏大, 主要发挥造血功能, 红髓和白髓的界线明显; 硬骨鱼脾脏中红髓和白髓区域的界限不明显, 具有造血功能和免疫功能. 本研究发现, 银鲳脾脏红髓与白髓之间界限不明显, 椭圆体分布在动脉血管旁, 与大多数硬骨鱼类脾脏的组织学特征具有相似性.

不同鱼类脾脏的被膜也存有差异, 大部分鱼脾脏的被膜由单层扁平上皮和薄层结缔组织构成, 如红笛鲷^[5]、驼背鲈^[8]、鲮^[6]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[12]; 少部分鱼脾脏的被膜仅由薄层结缔组织构成, 如条石鲷^[3]、四指马鲛^[7]. 银鲳脾脏的被膜与条石鲷相同, 仅由薄层结缔组织构成.

与黄颡鱼相比, 银鲴脾脏中的血管较为发达, 有中央大动脉、小静脉以及丰富的毛细血管^[12-13]. 银鲴脾脏中含有丰富的血管网, 且在血管腔中存在大量红细胞, 所以银鲴脾脏具有强大的储血功能. 但是在脾脏的动脉血管附近未见有较为粗大的与动脉血管并行的神经束结构, 这与条石鲷^[3]和鲮鱼^[6]的脾脏显微结构存有差别, 但与红笛鲷^[5]的脾脏显微结构相似.

银鲴脾脏实质中的红髓与白髓区域界限不明显, 红髓区域主要为红细胞和未成熟红细胞, 其间可观察到脾索、脾窦和内皮细胞; 白髓区域主要是淋巴细胞、粒细胞和黑色素巨噬细胞. 有研究发现, 软骨鱼脾脏的红髓区域和白髓区域分界明显, 而硬骨鱼的分界不明显, 但也有少数硬骨鱼类特殊, 如黄鳢(*Monopterus albus*)^[14]与哺乳动物相同, 有白髓、脾小结和发生中心; 狼鲈(*Morone saxatilis*)的白髓形成淋巴小结等. 银鲴和大多数硬骨鱼类相同, 其实质中无淋巴小结, 无发生中心, 脾脏实质中红髓与白髓之间无明显界限, 椭圆体分布在血管旁, 这与鲤^[4]、条石鲷^[3]、驼背鲈^[8]一致.

实质中可观察到许多染色较深的黑色素巨噬细胞, 该细胞主要由黑色素、血铁蛋白和脂褐素组成, 且许多黑色素巨噬细胞聚集形成黑色素巨噬细胞中心, 面积大, 这与花尾胡椒鲷^[2]、条石鲷^[3]的观察结果一致. 但有些鱼类的脾脏中没有明显的黑色素巨噬细胞中心, 如红笛鲷^[5]. 黑色素巨噬细胞可吞噬体内的异物和消亡的红细胞, 同时黑色素巨噬细胞中的血铁蛋白和铁血红素可促进血细胞的生成, 从而为血细胞的及时更新提供保障. Santos 等^[15]认为淋巴细胞、单核细胞和粒细胞分布在血管和黑色素巨噬细胞周围, 会在抗原呈递、免疫记忆和抗体产生等方面发挥重要作用, 且黑色素巨噬细胞的吞噬能力会随环境变化而改变, 以适应应激条件.

3.2 银鲴头肾的组织学特征及其生理学功能

硬骨鱼的肾脏由头肾、中肾和后肾 3 部分构成. 鱼类的头肾是一个重要的免疫器官和造血器官, 其功能相当于人体中的骨髓, 是鱼体 B 淋巴细胞增殖分化中心^[16]. 鱼类的头肾由前肾发育而来, 在鱼类发育早期具有泌尿功能, 随着鱼类发育的演进, 头肾中肾组织的面积不断缩小, 红髓区域面

积扩大. 同时白髓区域的面积也不断扩大, 且免疫细胞数量增多, 从而发挥免疫作用. 除弹涂鱼(*Periophthalmus koelreuteri*)^[17]等少数鱼类的头肾中分布有肾单位之外, 银鲴与花尾胡椒鲷^[2]、条石鲷^[3]的显微结构具有相似之处, 即无肾单位结构, 仅有肾上组织、红髓区域、白髓区域以及动脉血管和静脉血管, 这表明银鲴的头肾主要具有免疫和造血功能, 而且不具有泌尿功能. 银鲴头肾和体肾被心腹隔膜隔开, 通过头肾的小圆孔与体肾连接, 这与条石鲷^[3]、鲮鱼^[6]相同, 但是与尺沼公鱼(*Hypomus olidu*)^[18]不同, 尺沼公鱼的头肾和体肾之间无心腹隔膜相间隔.

银鲴的头肾仅由一层薄薄的胶原纤维包被, 这和花尾胡椒鲷^[2]、驼背鲈^[8]一致, 但与黄颡鱼的显微结构不同, 黄颡鱼的头肾由较厚的胶原纤维膜所包裹. 银鲴的头肾中没有明显的小梁结构, 主要是由红髓和白髓两部分构成, 为网状淋巴样实质组织, 与条石鲷^[3]和驼背鲈^[8]相同. 头肾实质可分为红细胞聚集区和淋巴细胞聚集区, 与条石鲷^[3]相似. 在银鲴的头肾中含有丰富的静脉和动脉血管, 静脉血管中具有数量较多的红细胞和未成熟的红细胞. 银鲴头肾中有分散的黑色素巨噬细胞和集中在一起的黑色素巨噬细胞中心, 这种结构在驼背鲈^[8]和黄颡鱼^[13]头肾中也有发现.

4 结论

银鲴脾脏组织学结构与其他鱼类存在种间差异, 外被薄层结缔组织和脾小梁结构不明显, 内部实质由红髓和白髓组成, 内含大量淋巴细胞和红细胞以及丰富的动脉、静脉和椭圆体结构, 有黑色素巨噬细胞中心, 且面积较大. 银鲴头肾表面为一薄层胶原纤维结构, 内部为淋巴样实质组织, 无肾单位结构, 含有丰富的黑色素巨噬细胞、粒细胞、大淋巴细胞、小淋巴细胞等不同功能的免疫细胞, 是银鲴重要的免疫器官.

参考文献:

- [1] Dalmo R A, Ingebrigtsen K, Bogwald J. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES)[J]. *Journal of Fish Diseases*, 1997, 20(4):241-273.
- [2] 李长玲, 曹伏君, 刘楚吾, 等. 花尾胡椒鲷脾脏和头肾

- 显微结构的观察[J]. 海洋通报, 2002, 21(2):30-35.
- [3] 胡玲玲, 李加儿, 区又君, 等. 条石鲷头肾和脾脏的显微结构观察[J]. 南方水产, 2010, 6(3):41-45.
- [4] 秦国强, 王浩, 黄金生, 等. 鲤鱼和鲫鱼脾脏显微结构和亚显微结构的研究[J]. 水生生物学集刊, 1983, 7(1): 63-70.
- [5] 王鸿鹄, 李长玲, 曹伏君, 等. 红笛鲷头肾和脾脏显微结构的观察[J]. 台湾海峡, 2006, 25(3):360-367.
- [6] 曹守花, 李加儿, 区又君, 等. 鲳脾脏和头肾的形态学与组织学研究[J]. 海洋渔业, 2013, 35(3):249-256.
- [7] 罗俊标, 谢木娇, 区又君, 等. 四指马鲛头肾和脾脏组织学研究[J]. 生物学杂志, 2016, 33(4):43-47.
- [8] 区又君, 刘江华, 李加儿, 等. 驼背鲈头肾和脾脏的形态组织学观察[J]. 南方农业学报, 2015, 46(11):2034-2039.
- [9] 王腾飞, 张鼎元, 郭春阳, 等. 养殖银鲳性腺发育规律和性类固醇激素变化[J]. 水产学报, 2017, 41(2):198-211.
- [10] 徐善良, 王丹丽, 徐继林, 等. 东海银鲳(*Pampus argenteus*)、灰鲳(*P. cinereus*)和中国鲳(*P. sinensis*)肌肉主要营养成分分析与评价[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(4): 775-782.
- [11] 朱晓芳, 郭晓鸽, 张鼎元, 等. 银鲳(*Pampus argenteus*)胰岛素样生长因子-I基因的克隆和表达分析[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(6):1221-1232.
- [12] 谢碧文, 张未丽, 张耀光. 瓦氏黄颡鱼和岩原鲤脾脏的组织学观察[J]. 四川动物, 2010, 29(2):212-214; 333.
- [13] 祁保霞. 黄颡鱼脾脏和头肾的显微结构观察[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2010, 25(3):304-306.
- [14] 张训蒲, 熊传喜, 黎会平. 黄鳝造血器官的组织学观察[J]. 华中农业大学学报, 1993, 12(3):285-288; 306.
- [15] Santos A A, Gutierre R C, Antoniazzi M M, et al. Morphocytochemical, immunohistochemical and ultrastructural characterization of the head kidney of fat snook *Centropomus parallelus*[J]. Journal of Fish Biology, 2011, 79(7):1685-1707.
- [16] 田敬云, 谢海侠, 姚卫建, 等. 鳊鱼头肾的组织发生及成鱼头肾B淋巴细胞的分布[J]. 动物学报, 2005, 51(3): 440-446.
- [17] 张孟闻. 脊椎动物的比较解剖学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998:104.
- [18] 苏锦祥. 鱼类学与海水鱼类养殖[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2005:88.

Morphological and histological characteristics of spleen and head-kidney of *Pampus argenteus*

Ji Yiping¹, KUANG Siwen¹, YUAN Zi¹, WANG Yajun¹, XU Shanliang^{1,2}, TANG Daojun^{1,2*}

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China;

2. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315832, China)

Abstract: In order to understand the characteristics of the immune organs of *Pampus argenteus*, the current study used the dissect and tissue slice microtechnic, and observed the microstructure of the spleen and head kidney of *Pampus argenteus*. The results showed that the spleen lied behind the stomach and the back of the foregut. It was covered with a thin layer of connective tissue. Spleen parenchyma was formed by alternating arrangement of red and white pulp. The spleen trabecular structure was not evident. There were a large number of lymphocytes and blood cells in the tissue. The cells were rich in artery, vein and ellipsoid structure. The cells were present with melanin macrophages without nerve bundle structure. The head-kidney of *Pampus argenteus* was located at the back of esophagus and above the constrictor naris in oral cavity. They were surrounded by collagen fiber structure which belonged to lymphoid parenchyma without nephron structure. The head-kidney was rich in lymphocytes, with a small amount of blood cells. The distribution of arteries, veins and capillaries was also observed. The adrenal tissue existed by the capillaries side. Melano-macrophage center was visible in the parenchyma. In conclusion, the spleen and head-kidney are the important immune organs and hematopoietic organs of *Pampus argenteus*.

Key words: *Pampus argenteus*; spleen; head-kidney; morphological characteristics; tissue structure

(责任编辑 史小丽)