

鸭淋巴器官中肥大细胞异质性的研究^{*}

李玉谷¹ 黄行许² 李楚宣¹ 陈元音¹

(1 华南农业大学动物医学系, 广州 510642; 2 第一军医大学电镜室)

摘要 应用 5 种组化染色法和透射电镜观察表明, 鸭淋巴器官中含有大量的肥大细胞, 它们在形态大小、异染性、颗粒的粘多糖成分、染色特性和超微结构等方面存在异质性。胸腺、淋巴结和腔上囊中的肥大细胞大小不一、形态多样; 而脾脏中的肥大细胞较小, 呈圆形或椭圆形。粘多糖组化染色显示, 这些器官中含有中性粘多糖型和酸性粘多糖型肥大细胞, 后者又可分为硫酸化粘多糖型和羧基化粘多糖型。此外, 肥大细胞颗粒中还含有生物胺, 但可能不含肝素。电镜下, 肥大细胞表面突起稀少或无, 胞核圆形或椭圆形, 胞质内有一些细胞器和大量的分泌颗粒, 颗粒内部呈细粒状, 不见涡卷或板层状结构。

关键词 肥大细胞; 异质性; 组织化学; 超微结构; 淋巴器官; 鸭

中图分类号 S 834.1

肥大细胞(MC)在机体免疫中起重要作用。近年来, 通过对人(Craig et al, 1988; 张兰芬等, 1993)、大鼠(董增军, 1990; 王新亭等, 1994)、小鼠(阎书凤等, 1991; 贾雪梅等, 1996)、鸡(李玉谷等, 1997)等的研究表明, MC 在形态大小、解剖定位、异染性、颗粒化学成分、染色特性、超微结构和功能等方面, 存在种属、个体、器官甚至组织异质性。作者取鸭淋巴器官进行了观察, 对鸭的 MC 在上述方面的异质性作进一步研究。

1 材料与方法

8 周龄健康番鸭 10 只, 雌雄各半, 体重 1.3~1.8 kg, 颈动脉放血处死, 立即取出胸腺、脾脏、腔上囊、颈胸及腰淋巴结。一部分材料切成 1 mm³ 大小的小块, 经 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.2)配制的 2.5%戊二醛和 1%锇酸双固定, 丙酮逐级脱水, 环氧树脂包埋, LKB 型超薄切片机切片, 厚 50 nm, 醋酸铀和柠檬酸铅双染色, JEM1200-EX 型透射电镜观察、摄片。

另一部分材料经 Carnoy 液固定 12 h, 正丁醇脱水, 石蜡包埋, 6 μ m 连续切片, 取邻片进行如下染色: ①常规甲苯胺蓝(RTB)染色: 70%乙醇配制的 0.25%甲苯胺蓝, 染 5~10 min, 以显示 MC 的异染性颗粒。②长时间甲苯胺蓝(LTB)染色(张兰芬等, 1993): 0.5 mol/L 盐酸配制的 0.5%甲苯胺蓝, pH0.5, 染 5 d, 以充分显示 MC。③阿利新蓝-藏花红(AB-S)染色(张兰芬等, 1993): pH1.42 醋酸钠-盐酸缓冲液配制的 0.36%阿利新蓝 8GX、0.018%藏花红 O 混合液染 30 min, 以显示颗粒中的生物胺、肝素。④阿利新蓝-高碘酸雪夫氏反应(AB-PAS): 以显示颗粒中的酸性、中性粘多糖。⑤醛品红-阿利新蓝(AF-AB)染色: 以显示颗粒中的硫酸化、羧基化粘多糖。

1997-01-14 收稿 李玉谷, 男, 33 岁, 讲师, 硕士

^{*} 华南农业大学校长基金课题

2 结果

2.1 MC 的形态及分布

用上述方法可在鸭淋巴器官中显示出大量的 MC。其中, 胸腺中的 MC 大小不一, 形态多样, 呈圆形、椭圆形、梭形、锥体形、不规则形, 有的可见长突起(图版—1)。它们主要分布于髓质, 常沿血管壁密集分布或散在于淋巴细胞之间。胸腺皮质、被膜和小隔中 MC 较少。

脾脏中的 MC 个体均较小, 形态较一致呈圆形或椭圆形。除脾小结中心外, 其他部位都可见到 MC。其中在脾小结周围、血管周围、被膜下的浅层实质中 MC 较多(图版—2)。

腔上囊中的 MC 主要分布于上皮及淋巴滤泡周围的结缔组织中; 淋巴滤泡中 MC 较少, 且主要分布于滤泡皮质, 滤泡髓质一般无 MC 分布, 或偶尔见到一、二个(图版—3)。位于淋巴滤泡中的 MC 呈圆形或椭圆形, 个体较小; 而结缔组织中的 MC 大小不一, 形态多样。

淋巴结中的 MC 分布于除淋巴小结中心外的所有区域, 尤其是浅层实质中 MC 较多(图版—4), 这些 MC 大小不一, 形态多样(图版—5)。

2.2 MC 的异染性

RTB 染色只能显示少量的 MC, 胞质颗粒着紫红色, 呈异染性。LTB 染色则可显示大量的 MC, 核几乎不着色, 胞质颗粒着蓝色, 但不同的细胞其染色性不尽相同, 有的细胞颗粒粗大、密集、呈深蓝色; 有的细胞颗粒细小、稀疏、呈灰蓝色(图版—1)。

2.3 MC 的粘多糖组化

AB—S 染色, 鸭 4 种淋巴器官中的 MC 均呈蓝色(图版—4、5)。AB—PAS 染色, 胸腺和腔上囊中的 MC 呈蓝色(91%、81%)、红色(6%、16%)和红蓝混合色(3%、3%)(图版—6); 脾脏和淋巴结中的 MC 呈蓝色(96%、95%)和红色(4%、5%), 未见红蓝混合色的(图版—2)。AF—AB 染色, 胸腺、脾脏、淋巴结和腔上囊中的 MC 均呈深紫色(66%、64%、47%、56%)、蓝色(15%、21%、25%、19%)和混合色(19%、15%、28%、25%)(图版—7)。

2.4 MC 的超微结构

电镜下, MC 表面较光滑或有少许突起; 核圆形或椭圆形, 位于中央或稍偏位, 异染色质贴附于核膜下, 中央有时可见块状异染色质, 不见核仁; 胞质内可见一些细胞器, 如高尔基复合体、内质网、线粒体等, 并有大量的分泌颗粒, 颗粒形态多样, 大小不一, 表面有膜包裹, 内部呈细粒状, 电子密度不尽一致, 不见涡卷或板层状结构(图版—8、9); 有的 MC 可见脱粒现象(图版—9)。

3 讨论

(1) 自从 1879 年 Ehrlich 在疏松结缔组织中发现 MC 以来, 一直把它作为结缔组织的成分(成令忠等, 1993)。但近年来在人类(张兰芬等, 1993)、大鼠(王新亭等, 1994)、绵羊(江萍等, 1996)、胸腺、水牛血结(曾文宗等, 1995)、鸡胸腺、脾脏、腔上囊(李玉谷等, 1997)等淋巴器官实质中见到大量的 MC。本研究又在鸭淋巴器官中见到同样情况。由此看来, MC 不仅是结缔组织的成分, 而且也是淋巴组织的成分。

MC 在淋巴器官中有其分布特点。据报道, 胸腺中的 MC, 在大鼠主要分布于皮、髓交界区(王新亭等, 1994), 在绵羊(江萍等, 1996)和鸡(李玉谷等, 1997)主要分布于髓质。本实验观察到鸭胸腺中的 MC 也主要分布于髓质。众所周知, 胸腺是产生 T 细胞的场所。近年来

发现, T 细胞对 MC 的发生和分化有调节作用(刘彦威等, 1994)。按照 T 细胞的发生, 胸腺皮质外周的淋巴细胞属幼稚 T 细胞, 而髓质和靠近髓质的淋巴细胞属成熟 T 细胞。因此, 胸腺中的 MC 与成熟 T 细胞之间可能存在位置上的密切关系。

关于 MC 的来源, 目前认为起源于骨髓的造血干细胞, 但也有实验表明, 有些 MC 可直接来源于 T 细胞(吴翰桂, 1992)。据报道, 大鼠的 MMC(粘膜 MC)是 T 细胞依赖性的, 而 CTMC(结缔组织 MC)的生长不依赖于胸腺或 T 细胞(王新亭等, 1994)。本实验亦表明, 胸腺和其他淋巴器官的胸腺依赖区含有较多的 MC, 而属于非胸腺依赖区的淋巴小结中心无 MC 分布。

(2)本实验表明, 在鸭淋巴结和脾脏的浅层实质、腔上囊上皮和淋巴滤泡周围, MC 密集分布。笔者亦在鸡淋巴器官中见到类似情况。据报道, 小鼠呼吸道的 MC 也主要分布于浅表的粘膜层(阎书凤等, 1991); 而小鼠下颌下腺中的 MC 则包绕于腺实质的表面, 认为这一分布特点起着防御作用(贾雪梅等, 1996)。近年来, MC 已被认为是免疫系统的重要细胞之一, MC 通过释放组胺可调节免疫功能。T 细胞膜上存在组胺受体(HR), 其中, 效应 T 细胞为 H_1R , 抑制性 T 细胞为 H_2R , 组胺通过这两种受体既可激活效应 T 细胞, 又可激活抑制性 T 细胞, 进而产生免疫增强或免疫抑制作用, 使效应 T 细胞与抑制性 T 细胞之比处于相对平衡, 从而维持正常的免疫功能(刘彦威等, 1994)。上述部位是外界抗原物质进入这些淋巴器官的必经之路, 是首先接触抗原和发生免疫反应的部位, 因而分布有大量的 MC。

(3)鸭不同淋巴器官或同一器官中的不同 MC, 在形态上具有异质性。胸腺、淋巴结, 和腔上囊结缔组织中的 MC, 大小不一、形态多样; 但腔上囊滤泡和脾脏中的 MC, 个体较小, 形态较一致呈圆形或椭圆形。据报道, 大鼠胸腺中的 MC 形态多样(王新亭等, 1994); 但人胎胸腺中的 MC 呈圆形或椭圆形(张兰芬等, 1993)。大鼠的 MMC 形态多样, 而 CTMC 呈圆形或卵圆形(江萍等, 1996)。小鼠耳廓、背部皮肤和舌结缔组织中的 MC, 形态、大小亦不一致, 它们可能是不同的亚型(陈晓军等, 1990)。

(4)鸭淋巴器官中的 MC 在胞质颗粒的化学成分和染色特性方面, 亦存在异质性。AB-S 染色, 4 种淋巴器官中的 MC 均呈蓝色, 与豚鼠肺(董增军, 1990)中的 MC 的染色性一致; 而人胸腺(张兰芬等, 1993)、小鼠下颌下腺(贾雪梅等, 1996)、大鼠肺及大支气管(董增军, 1990)中的 MC, 呈蓝色、红色和红蓝混合色 3 种颜色; 人肺中的 MC, 正常人的呈蓝色, 而肺癌患者的除蓝色外, 还有呈红色或紫色的, 提示肥大细胞的表型与微环境有关(王周南等, 1994)。Sonoda 等(1986)和 Kobayashi 等(1986)亦证实, MMC 和 CTMC 是由同一前体细胞, 在不同部位受组织微环境中某些因素的诱导, 分化为两型不同的 MC; 不同部位的 CTMC 和 MMC 也可能受当地某些因素的诱导, 进一步分化为不同的亚型。Spicer 认为, 红染(S 阳性)颗粒分泌肝素, 蓝染(AB 阳性)颗粒分泌生物胺(张兰芬等, 1993)。按 Combs 的观点, S 阳性者是以含肝素为主的成熟 MC, 而 AB 阳性者是以含组胺为主的幼稚 MC(杨美林等, 1992)。由此看来, 鸭淋巴器官中的 MC 为不含肝素, 而含以组胺为主的生物胺的幼稚 MC。

AB-PAS 染色, 鸭 4 种淋巴器官中的 MC 大多数呈 AB 阳性, 少数呈 PAS 阳性。说明在这些器官中均含有较多的含酸性粘多糖的 MC, 而含中性粘多糖的 MC 较少。据报道, 大鼠胸腺中的 MC 呈 PAS 阴性(王新亭等, 1994); 而鸡脾脏中的 MC 大多数呈 PAS 阳性(李玉谷等, 1997)。

AF—AB 染色, 鸭 4 种淋巴器官中的 MC 均染成深紫色、蓝色和混合色 3 种颜色, 其中深紫色的较多, 蓝色和混合色的较少。说明在含酸性粘多糖的 MC 中, 含硫酸化粘多糖的 MC 较多, 含羧基化粘多糖或混合粘多糖的 MC 较少。这与大鼠的情况相似(王新亭等, 1994)。

(5)电镜下, 鸭淋巴器官中的 MC, 其分泌颗粒的内部构造呈细粒状, 未见涡卷或板层状结构。这与大鼠的 MC(成令忠等, 1993)相似, 而与人的 MC(Craig et al, 1988)有差异。人的 TMC(含类胰蛋白酶 Trypsin 的 MC)颗粒内部构造多为细粒状, 有的可见相互分离的小涡卷结构, 涡卷中心有电子密度不等的芯; 而 TCMC(含类胰蛋白酶 Trypsin 和类糜蛋白酶 Chymase 的 MC)颗粒的电子密度均匀一致的占多数, 有的可出现网格和栅栏状结构。

参 考 文 献

- 王周南, 景雅, 刘育艳, 等. 1994. 正常人肺与肺鳞癌间质中肥大细胞的比较研究. 解剖学杂志, 17(6): 487~491
- 王新亭, 徐以明. 1994. 大鼠胸腺实质中的肥大细胞——异染性、嗜银性、粘多糖和酶组织化学的研究. 解剖学杂志, 17(1): 48~51
- 江萍, 许乐仁. 1996. 绵羊肥大细胞中类胰蛋白酶的证实. 解剖学报, 27(1): 92~95
- 成令忠主编. 1993. 组织学, 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 234~242
- 刘彦威, 刘娜. 1994. 肥大细胞与 T 淋巴细胞. 上海畜牧兽医通讯, 1: 26~27
- 李玉谷, 曾文宗. 1997. 鸡淋巴器官中肥大细胞异质性的研究. 广西农业大学学报, 16(1): 25~30
- 陈晓军, 何泽涌. 1990. 不同固定液、染色法显示结缔组织肥大细胞效果的比较. 解剖学杂志, 13(4): 287~290
- 吴翰桂. 1992. 肥大细胞发育的研究进展. 免疫学杂志, 8(3): 202~205
- 张兰芬, 吴江声, 孙品伟, 等. 1993. 足月人胎胸腺实质中的肥大细胞. 解剖学报, 24(1): 105~108
- 杨美林, 高崇, 乔从进, 等. 1992. 肥大细胞与成纤维细胞功能关系的光镜与电镜研究. 解剖学杂志, 15(3): 195~198
- 贾雪梅, 贾友芬, 齐威琴, 等. 1996. 小鼠下颌腺中肥大细胞异质性研究. 解剖学报, 19(4): 344~346
- 阎书凤, 何泽涌. 1991. 小鼠呼吸道肥大细胞分布的研究. 解剖学杂志, 14(3): 241~243
- 曾文宗, 韩金珠, 张英, 等. 1995. 水牛的血结. 广西农业大学学报, 14(2): 144~150
- 董增军. 1990. 肥大细胞亚群. 国外医学: 免疫学分册, 13: 185~187
- Craig S S, Schechter N M, Schwartz L B. 1988. Ultrastructural analysis of human T and TC mast cells identified immunoelectron microscopy. Lab Invest, 58(6): 682~686
- Kobayashi T, Nakano T, Nakahata T, et al. 1986. Formation of mast cell colonies in methylcellulose by mouse peritoneal cells and differentiation of these cloned cells in both the skin and the gastric mucosa of W/W^v mice: evidence that a common precursor can give rise to both “connective tissue type” and “mucosal” mast cells. J Immunol, 136: 1378~1382
- Sonoda S, Sonoda T, Nakano T, et al. 1986. Development of mucosal mast cells after injection of a single connective tissue type mast cell in the stomach mucosa of genetically mast cell deficient W/W^v mice. J Immunol, 137: 1319~1322

HISTOCHEMICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDIES ON HETEROGENEITY OF MAST CELLS IN THE DUCK LYMPHATIC ORGANS

Li Yugu¹ Huang Xingxu² Li Chuxuan¹ Cheng Yuanyin¹

(1 Dept. of Veterinary Medicine, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642;

2 Dept. of Electron Microscopy, First Military Medical Univ.)

Abstract

In the present study, it was demonstrated that large numbers of mast cells occurred in the duck lymphatic organs. The results obtained with transmission electron microscopy (TEM) and five sorts of histochemical staining methods showed that these mast cells exhibited heterogeneity in shape, size, metachromasia, mucopolysaccharide content of the cytoplasmic granules, staining property and ultrastructure. Histochemical staining revealed that neutral mucopolysaccharide type and acidic mucopolysaccharide type mast cells were present in these organs, and the latter could be classified further into sulfate mucopolysaccharide type and carboxyl mucopolysaccharide type. In addition, their granules contain bioamines, but probably not heparin. They were varied in shapes and sizes in the thymus, lymphatic node and cloacal bursa, but were smaller, round or ellipse in spleen. Under TEM, these mast cells had a round or elliptic nucleus, and were nearly devoid of processes on the surface, but had a few organelles and numerous secretory granules in the cytoplasm; the granules contain particles, but no scroll or lamellar structures.

Key words mast cell; heterogeneity; histochemistry; ultrastructure; lymphatic organs; duck



图版 1 示胸腺髓质中形态不一的 MC, LTB 染色, 10× 40; 2 示脾脏被膜下浅层实质中密集的 MC, AB-PAS 染色, 多为 AB 阳性, 10× 20; 3 示腔上囊淋巴滤泡中的 MC, LTB 染色, 10× 20; 4 示淋巴结被膜下浅层实质中密集的 MC, AB-S 染色, 呈 AB 阳性, 10× 20; 5 示淋巴结中形态不一的 MC, AB-S 染色, 呈 AB 阳性 10× 40; 6 胸腺髓质 AB-PAS 染色, 示蓝色(B)、红色(R)、混合色(Mi) MC, 10× 40; 7 胸腺髓质, AF-AB 染色, 示深紫色(dP)、蓝色(B)、混合色(Mi) MC, 10× 40; 8 示胸腺 MC 的超微结构, 细胞表面有少许突起, 分泌颗粒(G)内部呈细粒状 × 11 600; 9 示脾脏 MC 的超微结构, 细胞表面较光滑, 分泌颗粒(G)内部呈细粒状 × 16 000