

文章编号: 1001-411X(2002)02-0074-03

恒河猴免疫器官中肥大细胞的组织化学与电镜研究

李玉谷¹, 张媛¹, 黄韧², 程树军²

(1 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642; 2 广东省实验动物监测所, 广东 广州 510260)

摘要: 应用甲苯胺蓝、阿尔辛蓝-藏红组化染色法和透射电镜观察表明, 恒河猴胸腺、淋巴结和脾脏中的肥大细胞在形态、大小、染色特性和超微结构等方面存在异质性。胸腺实质和间质中的肥大细胞均为大小不一, 形态多样。淋巴结和脾脏间质中的肥大细胞也为大小不一, 形态多样; 但其实质中的肥大细胞多呈小圆形。这些器官中的肥大细胞, 甲苯胺蓝染色均表现出异染性; 但阿尔辛蓝-藏红染色绝大多数呈蓝色(阿尔辛蓝阳性), 偶见呈红色(藏红阳性)或红蓝混合色的(双阳性)。电镜下, 细胞表面光滑或有少许突起, 胞质内含较丰富的细胞器, 以及均质状高电子密度和中等电子密度的分泌颗粒。

关键词: 肥大细胞; 组织化学; 超微结构; 免疫器官; 恒河猴
中图分类号: Q954.6 **文献标识码:** A

肥大细胞广泛分布于人和动物体内, 是一种重要的免疫细胞, 能分泌多种生物活性物质, 在速发型变态反应中起着至关重要的作用, 并参与多种慢性炎症反应。此外, 肥大细胞还与抗寄生虫感染、抗肿瘤等有关, 在机体的免疫调节中也发挥着重要的作用^[1]。

关于肥大细胞的异质性(heterogeneity), 在人类、家畜、家禽和啮齿动物等已有许多报道, 它已成为肥大细胞生物学研究的焦点。本试验对常用试验动物恒河猴免疫器官中的肥大细胞的解剖定位、形态大小、显微与超微结构、组化染色特性等进行了探讨。

1 材料与方法

2~10岁健康恒河猴 10 只, 雌雄均有, 麻醉后颈动脉放血致死, 立即取出胸腺、淋巴结和脾脏, 一部分材料切成 1 mm³ 的小块, 经 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.2)配制的 $\varphi=4\%$ 戊二醛、 $\rho=10$ g/L 锇酸双重固定, 乙醇逐级脱水, 环氧丙烷过渡, Epon812 环氧树脂包埋, 超薄切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色, Philips-400 型透射电子显微镜观察和摄影。

另一部分材料经 Camoy 氏液固定 12 h, 常规石蜡包埋, 5 μ m 厚连续切片, 取邻片进行如下染色: (1) 常规苏木精-伊红染色, 显示各种器官的一般组织结构; (2) 常规甲苯胺蓝染色, 即用 $\rho=2.5$ g/L 甲苯胺蓝水溶液染色 30 min, 以显示肥大细胞的异染性颗粒; (3) 长时间甲苯胺蓝染色, 即用 0.5 mol/L 盐酸配制的 $\rho=5$ g/L 甲苯胺蓝(pH 0.5)染色 5 d, 以充分显

示肥大细胞; (4) 阿尔辛蓝-藏红染色, 即用醋酸钠-盐酸缓冲液(pH 1.42)配制的 $\rho=3.6$ g/L 阿尔辛蓝 8GX、 $\rho=0.18$ g/L 藏红 O 混合液染色 2 h, 以显示肥大细胞分泌颗粒中的生物胺和肝素。

2 结果

胸腺中含有较多的肥大细胞, 主要分布于被膜、小叶间隔和髓质中, 皮质中含量较少。淋巴结和脾脏中肥大细胞较少, 分布于各处。胸腺的淋巴组织实质和结缔组织间质中的肥大细胞均为大小不一, 形态多样, 呈圆形、椭圆形、卵圆形、三角形、锥体形、梭形和不规则形等, 有的可见 1 个至数个长短不一的突起; 被膜下皮质表面、小叶间隔旁和血管壁旁的肥大细胞多呈长梭形(图 1-1、2)。淋巴结和脾脏的结缔组织间质中的肥大细胞大小不一, 形态多样, 但其淋巴组织实质中的肥大细胞多呈圆形, 个体较小, 而且比较均匀(图 1-3、4)。

甲苯胺蓝染色, 这些肥大细胞均表现出异染性, 其分泌颗粒呈紫红色。常规甲苯胺蓝染色, 肥大细胞数量较少; 长时间甲苯胺蓝染色, 其数量明显增多。阿尔辛蓝-藏红染色, 它们绝大多数呈蓝色(阿尔辛蓝阳性), 偶见呈红色(藏红阳性)或红蓝混合色的(双阳性)。电镜下, 这些肥大细胞表面光滑或有少许细小突起, 并与淋巴细胞、网状细胞等密切接触; 胞体和胞核呈圆形、椭圆形或略微不规则形, 核仁明显, 异染色质贴附于核膜下, 核中央有时可见块状异染色质, 核一质比不等; 胞质内含较丰富的细胞器,

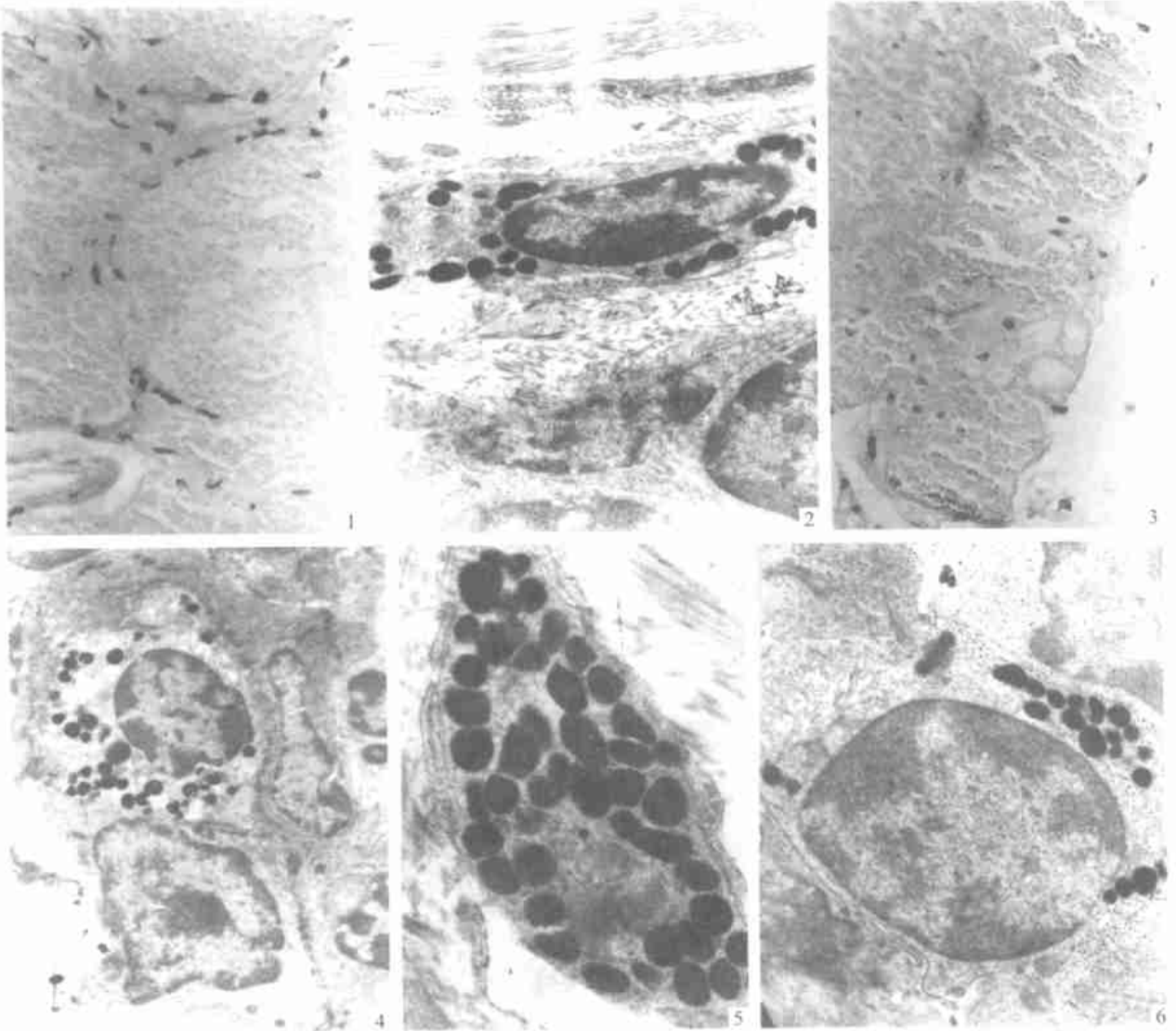
收稿日期: 2001-08-24

作者简介: 李玉谷(1963-), 男, 副教授, 硕士。

基金项目: 国家“九五”科技攻关项目(96-A-23-06-06); 广东省重点科技项目(1998)

如线粒体、游离核糖体、高尔基复合体等, 并有大量的分泌颗粒; 分泌颗粒多呈圆形或椭圆形, 少数为不

规则形, 大小不一, 表面有膜包裹, 内部结构呈均质状高电子密度或中等电子密度(图 1-5,6)。



1 胸腺小叶间隔内的肥大细胞(阿尔辛蓝-藏红染色), 5×20; 2 胸腺被膜内的肥大细胞, ×8 350; 3 淋巴结肥大细胞(阿尔辛蓝-藏红染色), 5×20; 4 淋巴结肥大细胞, ×5 000; 5 胸腺被膜内的肥大细胞, 胞质内可见高电子密度和中等电子密度的分泌颗粒, ×14 000; 6 胸腺髓质内的肥大细胞, 胞质内可见高电子密度和中等电子密度的分泌颗粒, ×8 350

1 Mast cells in interlobular septum of thymus(alcian blue-safranin staining), 5×20; 2 Mast cell in capsule of thymus ×8 350; 3 Mast cells in lymph node(alcian blue-safranin staining), 5×20; 4 Mast cell in lymph node, ×5 000; 5 Mast cell in capsule of thymus, the cytoplasm containing secretory granules of high and moderate electron density, ×14 000; 6 Mast cell in medulla of thymus, the cytoplasm containing granules of high and moderate electron density, ×8 350

图 1 不同器官内的肥大细胞

Fig. 1 Mast cells in different organs

3 讨论

恒河猴不同免疫器官之间或同一器官不同部位之间, 其肥大细胞在形态、大小方面存在明显的差异, 与人类及其他动物相应器官中的肥大细胞也不尽相同. 具体表现为: 胸腺实质和间质, 以及淋巴结和脾脏间质中的肥大细胞, 均呈现为大小不等, 形态多样; 但淋巴结和脾脏实质中的肥大细胞一般呈圆形, 个体较小, 而且比较均匀. 据报道, 鸡和鸭的胸腺

以及鸭淋巴结中的肥大细胞形态多样, 而脾脏中的肥大细胞多呈圆形; 但人胎胸腺肥大细胞呈圆形或椭圆形^[2-3]. 笔者认为, 肥大细胞的表型可能与局部微环境有关.

恒河猴免疫器官中的肥大细胞, 在组化染色特性方面也存在异质性. 阿尔辛蓝-藏红染色, 胸腺、淋巴结和脾脏中的肥大细胞除绝大多数呈蓝色外, 还偶见红色和红蓝混合色的. 据报道, 人胎胸腺肥大细胞也呈 3 种颜色, 但多种家畜和家禽的胸腺肥大

细胞均呈蓝色^[2-4]。Spicer认为,藏红阳性细胞分泌肝素,阿尔辛蓝阳性细胞分泌生物胺^[3];按Combs的观点,藏红阳性者是以含肝素为主的成熟肥大细胞,而阿尔辛蓝阳性者是以含组胺为主的幼稚肥大细胞^[5]。

恒河猴肥大细胞的分泌颗粒呈均质状高电子密度或中等电子密度,与人类和其他动物的不同。据报道,人肥大细胞的分泌颗粒内部常见结晶状、涡卷状或板层状等结构;山羊肥大细胞的分泌颗粒内部呈现蜂窝状、空泡状、旋涡状、指纹状和杆状等特殊结构;绵羊肥大细胞的分泌颗粒内可见杆状、环状、旋涡状和指纹状等特殊结构;牛肥大细胞的分泌颗粒含电子密度比较一致的颗粒状基质;猪肥大细胞的分泌颗粒内充满电子密度不一的颗粒状基质;鸡胸腺肥大细胞的分泌颗粒内含细颗粒状、羊绒状物质或呈均质状高电子密度;鹅胸腺肥大细胞的分泌颗粒内含细颗粒状、粗颗粒状、同心性念珠链状致密物或呈均质状高电子密度^[3-10]。有人认为,肥大细胞分泌颗粒的超微结构与其所含物质的性质密切相关。如人的含类胰蛋白酶(Tryptase)的T肥大细胞,其颗粒含有互相分离的小涡卷结构,涡卷中心可见电子密度不等的芯;而含类胰蛋白酶和类糜蛋白酶(Chymase)的TC肥大细胞,其颗粒含有网格和栅栏状结构^[11]。

参考文献:

[1] 朱永红. 肥大细胞在感染和免疫中的作用研究进展

[J]. 国外医学——免疫学分册, 1999, 22(2): 96-98.

[2] 李玉谷, 黄行许, 李楚宣, 等. 鸭淋巴器官中肥大细胞异质性的研究[J]. 华南农业大学学报, 1997, 18(3): 115-120.

[3] 张兰芬, 吴江声, 孙品伟, 等. 足月人胎胸腺实质中的肥大细胞[J]. 解剖学报, 1993, 24(1): 105-108.

[4] 高登慧, 许乐仁, 姚红艳. 山羊肥大细胞组织化学及形态学研究[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(1): 88-93.

[5] 杨美林, 高崇, 乔从进, 等. 肥大细胞与成纤维细胞功能关系的光镜与电镜研究[J]. 解剖学杂志, 1992, 17(3): 195-198.

[6] 李玉谷, 李楚宣, 陈元音, 等. 鹅胸腺肥大细胞的超微结构特征[J]. 华南农业大学学报, 1999, 20(1): 41-44.

[7] 李玉谷, 李楚宣, 辛朝安. 鸡胸腺肥大细胞的超微结构观察[J]. 中国兽医科技, 1999, 29(6): 33-35.

[8] 许乐仁, 高登慧, 姚红艳, 等. 牛肥大细胞的电镜观察[J]. 贵州农学院学报, 1995, 14(4): 19-22.

[9] 许乐仁, 江萍. 猪肥大细胞的超微结构研究[J]. 动物学研究, 1996, 17(2): 103-107.

[10] 高登慧, 许乐仁, 王开功. 绵羊肥大细胞的电镜观察[J]. 贵州农学院学报, 1995, 14(1): 1-6.

[11] CRAIG S S, SCHECHTER N M, SCHWARTZ L B. Ultrastructural analysis of human T and TC mast cells identified by immunoelectron microscopy[J]. Lab Invest, 1988, 58(6): 682-691.

Histochemical and Ultrastructural Studies of Mast Cells in the Immune Organs of Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*)

LI Yu-gu¹, ZHANG Yuan¹, HUANG Ren², CHENG Shu-jun²

(1 College of Veterinary Medicine, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Guangdong Province Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510260, China)

Abstract: The mast cells in the thymus, lymph nodes and spleen of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) were observed by transmission electron microscopy and histochemical staining method using toluidine blue and alcian blue-safranin. The results showed that they exhibited heterogeneity in shape, size, staining property and ultrastructure. These mast cells varied in shape and size in the parenchyma and stroma of the thymus, in the stroma of lymph nodes and spleen, but were small and round in the parenchyma of the lymph nodes and spleen. All the mast cells exhibited metachromasia with toluidine blue staining, but were almost all blue (alcian blue positive), rarely showed red (safranin positive) or mixed red-blue (double positive) with alcian-safranin staining. Under transmission electron microscope, they were smooth or possessed a few processes on the surface, containing abundant organelles, also homogeneous secretory granules of high and moderate electron density in the cytoplasm.

Key words: mast cells; histochemistry; ultrastructure; immune organs; rhesus monkey (*Macaca mulatta*)