

# 草鱼胸腺组织学的研究\*

卢全章

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

## 提 要

草鱼胸腺位于鳃腔背上角, 紧贴于鳃腔膜之下, 突起部分伸入到下颞凹, 整个胸腺形态似菱角。其组织结构可分为外区、中区和内区。中区和内区主要由淋巴细胞和网状上皮细胞构成, 在组织结构上分别类似于高等脊椎动物胸腺的皮质和髓质区。胸腺淋巴细胞可分大、中、小三型, 小淋巴细胞约占 78%, 中淋巴细胞约占 18%, 大淋巴细胞约占 4%。在 I 龄草鱼, 每毫克胸腺约有  $3.6 \times 10^6$  个胸腺淋巴细胞, II 龄草鱼约为  $2 \times 10^6$ 。I 至 II 龄草鱼胸腺重量明显地随鱼龄增加, II 龄以上草鱼胸腺重量变化无规律, 成鱼胸腺表现出明显的退化。草鱼胸腺除年龄性退化外, 还存在环境因素引起的非年龄性退化。

**关键词** 草鱼, 胸腺, 淋巴细胞, 网状上皮细胞

胸腺不仅是高等脊椎动物, 也是低等脊椎动物——鱼类等, 参与机体免疫的中枢淋巴器官, 它在细胞免疫和体液免疫中都起着极重要的作用<sup>[2,5,10,11]</sup>。胸腺是鱼类淋巴细胞增殖和分化的主要场所, 并向血液和外周淋巴器官输送淋巴细胞。Lane 和 Unanue 报道<sup>[8]</sup>, 胸腺淋巴细胞是抗李士德菌病 (Listeriosis) 不可缺少的成分。Ellis 和 Parkouse (1975)<sup>[6]</sup> 认为鱼类有类似哺乳动物的 T 细胞和 B 细胞两型淋巴细胞, 它们都来源于胸腺器官。而 Blaxhall 等 (1985)<sup>[3]</sup> 认为鱼类是由单一类型的淋巴细胞担负机体的免疫功能, 而淋巴细胞的异质性反映在同一类淋巴细胞系 (来源于胸腺淋巴细胞) 的不同发育阶段。Wrathmell 和 Parish (1980)<sup>[4]</sup> 在研究了鱼类在免疫反应中的细胞表面受体, 发现淋巴细胞和巨噬细胞都缺乏  $F_c$  和  $C_3$  受体, 提示鱼类的淋巴细胞无 B 细胞亚群。说明胸腺在鱼类免疫和免疫系统的发育过程中起着关键作用。

关于鱼类胸腺组织结构的研究, 在国外已有不少报道<sup>[7,9,12,15]</sup>, 但在鱼类胸腺细胞及胸腺基质细胞的形态和功能方面仍有许多值得研究的问题。国内仅秉志 (1983)<sup>[1]</sup> 报道过鲤鱼胸腺的研究。而在草鱼胸腺组织方面的研究, 国内外还未见有报道。草鱼是我国养殖的主要优质鱼类, 肉质鲜美、生长快、饵料易于解决, 缺点是鱼种阶段多病。林义浩等 (1986)<sup>[9]</sup> 对草、鲢、鳙鱼鱼种和成鱼淋巴细胞的非特异性酯酶 (ANAE) 活性作了比较, 结果表明草鱼成鱼淋巴细胞 ANAE 活性比鱼种明显地高, 提示草鱼鱼种阶段多病与其基础免疫功能低下有密切关系。因此, 深入研究草鱼胸腺免疫器官的结构及其功能, 无论在

1) 林义浩等, 1986. 草、鲢、鳙鱼淋巴细胞酸性酯酶活性比较. 鱼病简讯, 3: 40—42.

\* 本文承倪达书教授审阅和热情指导。图 1 由刘建雄同志绘制, 电镜照片在本所电镜室帮助下完成, 谨此致谢。  
1989 年 1 月 13 日收到。

防病实际应用上,还是在基础理论上都具有一定的意义。本文主要研究不同年龄正常草鱼胸腺器官的形态和组织结构,为进一步研究鱼类免疫机能、免疫防治技术和胸腺组织病理学提供资料和参考。

## 材 料 和 方 法

实验用鱼取自本所试验渔场和武汉市东西湖水产养殖场的正常草鱼,其中当年草鱼 63 尾, I—II 龄草鱼 27 尾, II—III 龄草鱼 6 尾, IV 龄草鱼 2 尾。

光镜组织标本用 Bouin 液或 10% 中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,4—5 $\mu$ m 连续切片,用 HE、Dominicis trchromic stain、Giemsa、苏丹 III 染色。

电镜组织标本,用 5% 戊二醛作前固定、1% 锇酸作后固定、酒精系列脱水、树脂包埋。超薄切片、电子染色后进行电镜观察。

胸腺淋巴细胞计数<sup>[12]</sup>:用分析天平称取胸腺组织、用磷酸缓冲液轻轻清洗后再放入定量的磷酸缓冲液 (pH7.2) 中,匀浆制成细胞悬液,立即用血球计数器在显微镜下计数。

大、中、小淋巴细胞计数:在 Giemsa 染色的胸腺印迹片中,按自然分布数 200 个淋巴细胞,再求出大、中、小淋巴细胞所占百分比。

## 结 果

### (一) 草鱼胸腺解剖学观察

草鱼胸腺位于鳃腔背上角深处 (图版 I:1),紧贴在鳃腔膜下,左右侧各一个,对称分布。胸腺呈白色半透明状,质地松软、表面平滑,是典型的淋巴组织器官。观察夏花草鱼头部纵切面(与鳃片平行方向切片)时,可见胸腺呈三角形,前角接近假鳃,后角沿上耳咽锁肌向后伸展,顶角(即胸腺突起部分)深入到下颞窝接近头部顶骨(图版 I:2)。整个胸腺夹在咽鳃骨上方、上耳咽锁肌内侧和前耳骨之间的间隙内,形状似菱角。

### (二) 草鱼胸腺重量和胸腺淋巴细胞数量

两侧胸腺左右对称,但是左右胸腺的大小和重量不一定相同。有的个体,甚至差异较大。草鱼两侧胸腺平均总重量如下:1 月龄草鱼为 2.81mg,2 月龄为 5.84mg,4 月龄为 7.81mg,5 月龄为 10.66mg,6 月龄为 16.9mg,12 月龄为 38.66mg。II 龄以上的草鱼胸腺重量个体差异很大,其中重的达 143mg,轻的为 23mg (表 1)。

表 1 II 龄草鱼胸腺重量

Tab. 1 Total weight of thymus of two years-old grass carp

月龄 Age (month)	体重(克) Body wt. (g)	体长(厘米) Body length (cm)	肥满度 Condition factor	胸腺重(毫克) Thymus wt. (mg)
28	350	26	1.99	138.5
28	356	32	1.09	43
28	252	24.5	1.71	49
28	253	26	1.44	23
29	450	28.5	1.94	143

从鱼苗到 II 龄鱼种,胸腺重量逐渐增加。I 龄草鱼的胸腺淋巴细胞较丰富,每 mg 胸腺平均约为  $3.6 \times 10^6$  个淋巴细胞。II 龄草鱼胸腺重量虽有增加,但每 mg 胸腺的淋巴细胞数量下降,即为  $2 \times 10^6$ 。

### (三) 草鱼胸腺组织学观察

草鱼胸腺为典型的淋巴组织结构。切片观察,草鱼胸腺可分为外区、中区、内区等三个部分,内区下为结缔组织(图版 I:4)。外区由淋巴细胞、网状上皮细胞、粘液细胞等组成,最外层覆盖有扁平上皮细胞(图版 I:5)。

中区类似高等脊椎动物胸腺的皮质(图版 I:6),主要由淋巴细胞和网状上皮细胞构成,以含有大量的淋巴细胞为特征,并有许多微血管分布。

内区类似高等脊椎动物胸腺的髓质(图版 I:7),比中区的淋巴细胞数量较少,分布也较稀疏,而网状上皮细胞相对地较多。网状上皮细胞呈星形,胞核卵圆形,染色较浅,胞质伸出的突起彼此连成网,在网状支架上分布有淋巴细胞、粒细胞、巨噬细胞、囊细胞及成纤维细胞等(图版 I—II: 7、9、10、12)。在草鱼胸腺内区未观察到类似胸腺小体的结构。

内区下为结缔组织区(图版 I:8)。该区与内区有由结缔组织构成的被膜相隔,但在夏花草鱼(幼鱼)被膜不完整。随着鱼龄的增长,结缔组织被膜逐渐完善和增厚,并深入到胸腺实质,将胸腺分成若干小叶(图版 I:3)。该区主要由成纤维细胞、纤维、淋巴细胞、巨噬细胞、脂肪细胞、黑素细胞等组成。该区血管分布较多,较粗的静脉,直径达  $150 \mu\text{m}$ ,管壁薄、由单层内皮细胞和外周细胞构成,管壁外层有黑色素细胞。还可观察到控制血细胞流向的静脉瓣。粗血管位于结缔组织最外侧,血管分枝,通过被膜进入胸腺内,再分成许多微血管。结缔组织也随血管伸入到胸腺内部。

夏花草鱼胸腺中区(皮质)所占的范围较大,而内区(髓质)相当狭小。随鱼龄增大,内区逐渐扩大。内区和中区之间未观察到明显的分界线。胸腺内淋巴细胞可分大、中、小三型。小淋巴细胞直径  $3-4 \mu\text{m}$ (印迹片、吉姆萨染色),约占淋巴细胞总数的 78%;中淋巴细胞直径  $5-6 \mu\text{m}$ ,约占 18%;大淋巴细胞直径  $7$  和  $7 \mu\text{m}$  以上,约占 4%。大淋巴细胞的核染色较小淋巴细胞的淡,而外周细胞质呈深兰色。

III、IV 龄以上的草鱼胸腺可见脂肪细胞增生(图版 I:3)。

电镜观察,胸腺淋巴细胞胞核大而胞质狭小,核质团块状分布、核膜清楚为二层结构,核有凹陷,胞质中有核糖颗粒,少量线粒体和高尔基体,细胞质膜与邻近细胞的质膜紧密相贴(图版 II:11)。

在结缔组织间隙,作者观察到有一种卵球形的偏核细胞,其大小约为  $8 \times 10 \mu\text{m}$ ,核位于细胞的一端呈长卵球形,  $2 \times 5 \mu\text{m}$  左右,HE 染色胞核呈紫色、胞质呈淡红色、胞质均匀无颗粒,也有的可见极细颗粒均匀分布;吉姆萨染色胞核呈兰紫色、胞质呈淡兰色或淡黄色。它们成群地分布在靠近胸腺内区的结缔组织间隙(图版 I:8),在附近的静脉中也能找到。这类细胞主要出现在 I—II 龄草鱼,而在夏花草鱼和成鱼中未观察到。

## 讨 论

草鱼胸腺位于鳃腔背上角, 靠近咽喉的位置, 同外界水流环境仅隔一层上皮组织膜(鳃腔膜)。从胸腺所处的特殊位置和表面化的特点来看, 表明胸腺位置有利于在抗口腔感染和抗鳃感染中发挥防御作用, 同时也表明胸腺本身容易受外界环境的影响。据报道, 目前鱼病防治中使用的高渗免疫技术, 可使胸腺外膜的渗透性发生改变, 抗原直接进入胸腺区影响鱼类免疫系统<sup>[1,13]</sup>。Baba 等(1988)<sup>[2]</sup>研究证实, 浸泡免疫鲤鱼所表现的防御能力依赖于胸腺细胞——巨噬系统调节的细胞免疫。说明浸泡免疫与胸腺关系较密切。

草鱼从鱼苗到 I 龄或 II 龄, 其胸腺内淋巴细胞增殖较快, 可以说是草鱼免疫系统发育成熟的重要时期。II 龄以上的草鱼开始出现年龄性胸腺退化现象, 例如胸腺淋巴细胞数量相对减少、结缔组织增生、脂肪细胞增生。作者在试验中观察到, 正常 I 龄草鱼当在室内半饥饿状态下饲养时, 胸腺明显萎缩、胸腺重量迅速减少(15 天减少 65%)。说明养殖不良也会导致胸腺器官萎缩退化(即非年龄性胸腺退化)。这种现象可以解释, 为什么草鱼胸腺重量和大小的个体差异较大, 特别是 II 龄以上的草鱼(表 1)。同时也说明, 良好的养殖可促进胸腺细胞的增殖和分化, 增强鱼体免疫能力。

从种系发生来看, 到了低等鱼类(七鳃鳗科)才出现淋巴细胞、淋巴组织和原始的上皮性胸腺。发展到软骨鱼类如猫鲨类, 胸腺已有皮质和髓质之分。草鱼胸腺从外往内依次可分为外区、中区和内区, 在组织结构上中区和内区分别类似高等脊椎动物胸腺的皮质和髓质。但是内区(髓质)不像高等脊椎动物那样被中区(皮质)所完全包围, 内区和中区之间也没有明显的分界。在内区未观察到胸腺小体。此外, 草鱼胸腺被膜不完整, 仅在成鱼胸腺中能观察到被膜将胸腺分成若干小叶。以上事实说明, 草鱼胸腺虽比低等鱼类有进化, 但同高等脊椎动物胸腺相比仍处于低级发展阶段。

硬骨鱼类胸腺普遍存在囊细胞, 据报道它有分泌胸腺素的功能<sup>[6,12]</sup>。草鱼胸腺中也有囊细胞。此外, 在靠近内区的结缔组织间隙发现有一种成群分布的卵球形偏核细胞(图版 I: 8), 这种现象还未见报道, 属什么细胞尚不清。它们的形态、功能和发生还有待进一步的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 秉 志, 1983. 鲤鱼组织. 34—35 页, 科学出版社。
- [2] Baba, T., Imamura, J. and Izawa, K., 1988. Cell-mediated protection in carp (*Cyprinus carpio* L.) against *Aeromonas hydrophila*. *J. Fish Disease*, 11(2): 171—178.
- [3] Blaxhall, P. C. and Sheard, P. R. 1985. Preliminary investigation of the characteristics of fish lymphocytes separated on a percoll discontinuous gradient. *J. Fish. Biol.*, 26: 209—216.
- [4] Bowers, A. and Alexander, J. B., 1981. Hyperosmotic infiltration: immunological demonstration of infiltrating bacteria in brown trout, *Salmo trutta* L.. *J. Fish Biol.*, 18: 9—15.
- [5] Desvaux F. X. and Charlemagne J., 1983. The goldfish immune response. II. Thymic influence on allograft rejection. *Developmental and Comparative Immunology*, 7: 563—567.
- [6] Ellis, A. E. and Parkhouse, R. M. E., 1975. Surface immunoglobulins on the lymphocytes of the skate, *Raja naevus*. *Eur. J. Immunol.*, 5: 726—728.
- [7] Gorgollon, P., 1983. Fine structure of the thymus in the adult cling fish *Sicyases sanguineus* (Pisces, Gobiocidae). *J. Morphology*, 177: 25—40.

- [8] Lance, FC and Unanue ER, 1972. Requirement of thymus lymphocytes for resistance to listeriosis. *J. Exp. Med.*, **135**: 1104.
- [9] Manning, M. J., 1981. A comparative view of the thymus in vertebrates. *J. Anat.*, **132**: 439—440.
- [10] Miller, J. F. A. P., 1961. Immunological function of the thymus. *Lancet*, **2**: 738—749.
- [11] Ortiz-Muniz, G. and Sigil, M., 1971. Antibody synthesis in lymphoid organs of two marine teleosts. *J. Reticuloendoth. soc.*, **9**: 42—52.
- [12] Sailendri, K. and Muthukkaruppan, VR. 1975. Morphology of lymphoid organs in a cichlid teleost, *Tilapia mossambica* (Peters). *J. Morph.*, **147**: 109—114.
- [13] Tatner, M. F. and Manning, M. J., 1982. The morphology of the trout, *Salmo gairdneri* Richardson, thymus: some practical and theoretical considerations. *J. Fish Biol.* **21**: 27—32.
- [14] Wrathmell, A. B. and Parish, N. M., 1980. Cell surface receptors in the immune response in fish. 1. Phylogeny of immunological memory, (M. T. Manning, Ed.) pp. 143—151. Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- [15] Zapata, A., 1980. Lymphoid organs of teleost fish. I. Ultrastructure of the thymus of *Rutilus rutilus*. *Dev. Comp. Immunology*, **5**: 427—436.

## STUDIES ON THE HISTOLOGY OF THYMUS OF THE GRASS CARP

Lu Quanzhang

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

### Abstract

The thymus of grass carp is situated on either side of the upper corner of the opercular cavity. It lies closely under the membrane of the opercular cavity. The projecting part of the thymus is protracted into the subtemporal hollow. The shape of the total thymus is similar to that of water chestnut.

The thymus of grass carp consists of the outer, middle, and inner regions. The middle and inner regions consist chiefly of lymphocytes and reticuloepithelial cells, whose structural features are similar to those of the cortex and medullary region of the higher vertebrates respectively. There is no obvious demarcation between middle and inner regions. There are three types of lymphocytes in thymus: large (4%), medium (18%) and small lymphocytes (78%). The number of thymus lymphocytes is approximately  $3.6 \times 10^6$  cells per milligram in one-year-old fish, and  $2 \times 10^6$  cells per mg in two-year-old grass carp. In one and two year old grass carp total weight of the thymus increased with age, but in bigger fish thymus weight does not change in a regular way. Adult fish show apparent degeneration in thymus. The thymus of grass carp also shows age-independent degeneration caused by nutritional and environmental factors.

### Key words

Grass carp, Thymus, Lymphocyte, Reticular cell

## 图 版 说 明

## 图 版 I

1. 草鱼胸腺的位置。\* 表示胸腺 1. Schematic drawing showing location of the grass carp thymus (\*).

2. 夏花草鱼头部纵切面。T——胸腺, E——上耳咽锁肌, G——鳃, Pa——顶骨, Ps——假鳃。HE, ×29。 2. Vertical section of head region in summer fingerling showing thymus (T), epioticopharyngoclavicularis (E), gill (G), parietal (Pa) and pseudobranch (Ps). HE, ×29.

3. 四龄草鱼胸腺。T——胸腺, Ca——胸腺被膜, Ac——脂肪细胞。HE, ×36 3. Thymus of four-year-old grass carp, showing capsule (Ca), adipose cells (Ac), and thymus (T). HE, ×36.

4. 一龄草鱼胸腺。O——外区, M——中区, I——内区, C——结缔组织区。HE, ×132。 4. Thymus of one-year-old grass carp, showing outer (O), middle (M), inner (I) regions and connective tissue (C) region. HE, ×132.

5. 胸腺外区和中区。O——外区, M——中区, MC——粘液细胞, SqC——扁平细胞, L——淋巴细胞, Cap——微血管。HE, ×550。 5. The outer (O) and middle (M) regions, showing mucous cells (MC), squamous cells (SqC), lymphocytes (L) and capillary (Cap). HE, ×550.

6. 中区放大。Cap——微血管, L——淋巴细胞, RC——网状上皮细胞, EC——内皮细胞。6. Enlarged view of thymic middle region, showing capillaries (Cap), lymphocytes (L), reticular cells (RC) and endothelial cells (EC). HE, ×1000.

7. 胸腺内区放大。L——淋巴细胞, RC——网状上皮细胞, HE, ×925。 7. Enlarged view of thymic inner region, showing loosely distributed lymphocytes (L) and reticular cells (RC). HE, ×925.

8. 结缔组织区。L——淋巴细胞, SC——卵球形偏核细胞, Ca——胸腺被膜, 箭头所指为血管, I——胸腺内区, C——结缔组织区。HE, ×220。 8. Connective tissue region showing lymphocytes (L), spheroidal cells (SC) with nucleus located at the side, capsule (Ca) and blood vessel (arrow). HE, ×220.

## 图 版 II

9. 胸腺细胞电镜照片。L——淋巴细胞, CY——囊细胞, F——成纤维细胞, RC——网状上皮细胞。×10800。 9. Thymic cells of electron micrograph showing lymphocytes (L), cystic epithelial cells (CY), fibroblast (F), and reticular cells (RC). ×10800.

10. 胸腺细胞电镜照片。L——淋巴细胞, RC——网状上皮细胞, Ma——巨噬细胞。×10800。 10. Thymic cells of electron micrograph showing macrophage (Ma), reticular cells (RC) and lymphocytes (L) ×10800.

11. 胸腺淋巴细胞电镜照片。N——细胞核, CP——细胞质, PM——细胞质膜, NP——核凹陷, M——线粒体。×18600。 11. A thymic lymphocyte of electron micrograph showing nucleus (N), cytoplasm (CP), plasma membrane (PM), nuclear pit (NP) and mitochondria (M), ×18600.

12. 胸腺粒细胞 (GC) 电镜照片。×7000。 12. Thymic granulocyte (GC) of electron micrograph. ×7000.



