

花鲈消化道粘液细胞的类型及分布

谢湘筠, 林淑慧, 林树根

(福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 采用阿利新蓝与过碘酸雪夫氏染色方法 (AB-PAS) (pH 2.6) 和不同 pH (1.0, 2.5, 3.1) 的阿利新蓝染色法观察花鲈消化道 (舌、食道、胃、肠) 粘液细胞的类型与分布。根据 AB-PAS 染色结果将花鲈粘液细胞分成 I ~ IV4 种类型: I 型为红色, AB 阴性, PAS 阳性, 含中性粘多糖; II 型为蓝色, AB 阳性, PAS 阴性, 含酸性粘多糖; III 型为紫红色, AB 与 PAS 均为阳性, 主要含有 PAS 阳性的中性粘多糖, 同时含有少量 AB 阳性的酸性粘多糖; IV 型为蓝紫色, AB 与 PAS 均为阳性, 主要含有 AB 阳性的酸性粘多糖, 同时含有少量 PAS 阳性的中性粘多糖。不同 pH 的阿利新蓝染色结果为 pH 2.5 和 pH 3.1 溶液显示酸性粘液蓝色, pH 1.0 溶液仅显示弱的和强的硫酸化酸性粘液蓝色。花鲈舌粘液细胞较少, 以 II 型为主; 食道含有大量粘液细胞, 以 III 型和 IV 型为主; 胃中只含大量 I 型粘液细胞; 肠中也有大量粘液细胞, 以 III 型和 IV 型为主。通过对各部位粘液细胞的分类和比较, 可以看出粘液细胞的分布和类型与其所在部位执行的功能有密切的关系。

关键词: 花鲈; 消化道; 粘液细胞

中图分类号: S 965.1

文献标识码: A

Types and distribution of mucous cells in the digestive tracts of *Lateolabrax japonicus*

XIE Xiang-yun, LIN Shu-hui, LIN Shu-gen

(College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: Types and distribution of mucous cells in the digestive tracts (i.e., tongue, esophagus, stomach, and intestines) of *Lateolabrax japonicus* were observed and analyzed by using AB-PAS (alcian blue and periodic acid schiffs reaction) and Alcine Blue staining at different pH (pH 1.0, 2.5, and 3.1). According to AB-PAS, 4 types of the mucous cells in the digestive tracts of *L. japonicus* were observed: Type I, II, III and IV. Type I was pure red, AB negative and PAS positive containing neutral mucitin. Type II was pure blue, AB positive and PAS negative containing acidic mucitin. Type III was purple reddish, both AB and PAS positive, PAS positive more than AB containing mainly neutral mucitin and a few acidic mucitin. Type IV was blue purple, both AB and PAS positive, AB positive more than PAS containing mainly acidic mucitin and a few neutral mucitin. The Alcine Blue staining at pH 2.5 and pH 3.1 showed blue from the acidic mucous, and at pH 1.0, either weak or strong blue from the vitriolic acidity mucous. The statistical results showed that in different parts there were different types and densities of mucous cells. Only a small quantity of mucous cells existed in tongue, mostly type II. On the other hand, large quantities of mucous cells were found in esophagus, stomach, and intestines. Most of them in esophagus and intestines were of Type III and Type IV, and all of the mucous cells in the stomach belonged to Type I. The types and distribution of mucous cells closely related to the functions of the organs where they were found.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; digestive tract; mucous cell

花鲈 (*Lateolabrax japonicas*), 属鲈形目 (Perciformes)、鮨科 (Serranidae)、花鲈属 (*Lateolabrax*), 在我国的南北沿海及淡水水域均有分布。其肉质细腻, 味道鲜美, 经济价值很高, 自古以来就是人们喜爱的美食。由于其生长速度快, 抗病力强, 产量高, 见效快, 已成为我国沿海重要的养殖品种之一。

收稿日期: 2007-03-20 初稿; 2007-07-25 修改稿

作者简介: 谢湘筠 (1965-), 女, 硕士, 讲师, 从事鱼类学教学及鱼类繁殖生物学研究 (E-mail: xxy036@tom.com)。

鱼类的消化道是鱼类与外界进行物质交换的重要场所, 分布着大量的粘液细胞^[1], 粘液细胞能分泌大量粘液。鱼类粘液中除了含有非特异性免疫因子外, 还含有特异性的免疫球蛋白, 对鱼类体内的主要免疫系统是一个很好的补充^[2-3]。此外, 鱼类粘液中还含有多种活性物质, 如粘多糖、糖蛋白、水解性酶类等^[4], 对鱼类的许多生理功能有着重要

的影响^[5]。因此对鱼类粘液细胞的深入研究不仅有助于了解鱼类粘液性免疫机制, 同时有助于对鱼类生长发育过程的了解, 在鱼类的养殖和病害防治方面具有重要的理论和实践意义。国外曾有人对非洲肺鱼、鳟鱼、河鲈等鱼的粘液细胞的形态和成分进行研究^[1], 国内对胡子鲶、鲤鱼等粘液细胞的类型也进行了研究^[6-7], 但花鲈粘液细胞类型的研究尚未见报道。本试验采用阿利新蓝与过碘酸雪夫氏反应 (AB-PAS) 染色方法和不同 pH 阿利新蓝染色法对花鲈消化道粘液细胞进行了显微观察, 对其类型和分布进行了分析, 以期对花鲈的基础研究和养殖生产积累资料。

1 材料与方法

花鲈 4 尾购自福州市台江水产批发市场, 体长 30~40 cm, 体重 400~500 g, 正常无损伤。将其处死, 取舌、食道、贲门、胃体、幽门以及肠前部、中部、后部等部位组织块, Carnoy's 液固定 24 h, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片厚度 6 μm , 阿利新蓝 (AB, pH 2.6)、过碘酸雪夫氏 (PAS) 反应染色和不同 pH 值 (1.0、2.5、3.1) 阿利新蓝染色, 显微观察不同部位粘液细胞的形态和分布规律, 并拍照。

2 结果与分析

花鲈消化道舌、食道、胃和肠上均有粘液细胞的存在。经 AB-PAS 染色后可呈现 4 种不同的颜色: 红色、蓝色、紫红色、蓝紫色。根据 AB-PAS 染色结果的不同将花鲈的粘液细胞分为 4 型: I 型为红色, AB 阴性, PAS 阳性, 含中性粘多糖; II 型为蓝色, AB 阳性, PAS 阴性, 含酸性粘多糖; III 型为紫红色, AB 与 PAS 均为阳性, 主要含有 PAS 阳性的中性粘多糖, 同时含有少量 AB 阳性的酸性粘多糖; IV 型为蓝紫色, AB 与 PAS 均为阳性, 主要含有 AB 阳性的酸性粘多糖, 同时含有少量 PAS 阳性的中性粘多糖。花鲈粘液细胞在 pH 2.5 阿利新蓝和 pH 3.1 阿利新蓝溶液染色时显示酸性粘液蓝色, pH 1.0 阿利新蓝溶液染色仅显示弱的和强的硫酸化酸性粘液蓝色。不同部位粘液细胞的类型与分布有差异。

2.1 舌粘液细胞

花鲈舌黏膜上皮为复层扁平上皮, 其中含有少量杯状细胞, AB-PAS 染色粘液细胞呈蓝色 (II)、紫红色 (III)、蓝紫色 (IV) 3 种颜色, 蓝

色居多 (图 1-1); pH 1.0 阿利新蓝染色粘液细胞呈阴性反应, pH 2.5 和 pH 3.1 阿利新蓝染色粘液细胞呈蓝色 (图 1-2), 弱阳性。可知花鲈舌粘液细胞以 II 型为主, 含酸性粘多糖, 在 pH 2.5 阿利新蓝染色时效果明显, pH 3.1 阿利新蓝染色效果不及 pH 2.5 明显。这可能是由于舌粘液细胞不多, 分泌的酸性粘液较少, pH 2.5 的阿利新蓝显示酸性粘液物质的效果较好。

2.2 食道粘液细胞

食道黏膜上皮为复层扁平上皮, 表层为一层扁平细胞, 其下为一层大而高的粘液细胞和杯状细胞, 在食道黏膜褶皱的顶端和侧面, 常有单层柱状上皮区域 (图 1-3)。AB-PAS 染色粘液细胞呈红色 (I)、蓝色 (II)、紫红色 (III)、蓝紫色 (IV) 4 种颜色, 紫红色、蓝紫色居多 (图 1-4); pH 1.0 阿利新蓝染色粘液细胞呈阴性反应; pH 2.5 和 pH 3.1 阿利新蓝染色粘液细胞呈蓝色, 强阳性 (图版 1-5、1-6)。可知花鲈食道中粘液细胞有 I、II、III、IV 型, 含中性粘多糖和酸性粘多糖。

2.3 胃 (贲门、胃体、幽门) 粘液细胞

贲门、胃体、幽门黏膜上皮含有单层柱状粘液细胞, AB-PAS 染色粘液细胞呈红色 (I), 强阳性 (图 1-7); pH 1.0、pH 2.5 和 pH 3.1 阿利新蓝染色粘液细胞呈阴性反应。可知花鲈胃粘液细胞只有 I 型, 含中性粘多糖。

2.4 肠 (肠前部、中部和后部) 粘液细胞

肠前部、肠中部和肠后部黏膜上皮均为单层柱状上皮, 其中有许多杯状细胞, AB-PAS 染色粘液细胞呈红色 (I)、蓝色 (II)、紫红色 (III)、蓝紫色 (IV) 4 种颜色 (图 1-8、1-9、1-10)。肠前部的粘液细胞以 II 型为主, I 型粘液细胞也比肠中、后部多些, 肠中部的粘液细胞以 III 型和 IV 型粘液细胞为主, 肠后部的粘液细胞数目较多, 并以 IV 型粘液细胞为主。pH 1.0 阿利新蓝染色粘液细胞呈阴性反应; pH 2.5 和 pH 3.1 阿利新蓝染色时粘液细胞呈蓝色, 强阳性 (图 1-11、1-12)。可知花鲈肠中粘液细胞有 I、II、III、IV 型, 含中性粘多糖和酸性粘多糖。

3 讨 论

3.1 鱼类粘液细胞是普遍存在于鱼类上皮中的一种腺体细胞, 有关粘液细胞的形态、类型、分布和生理功能等方面的研究, 国内外均有报道^[1]。

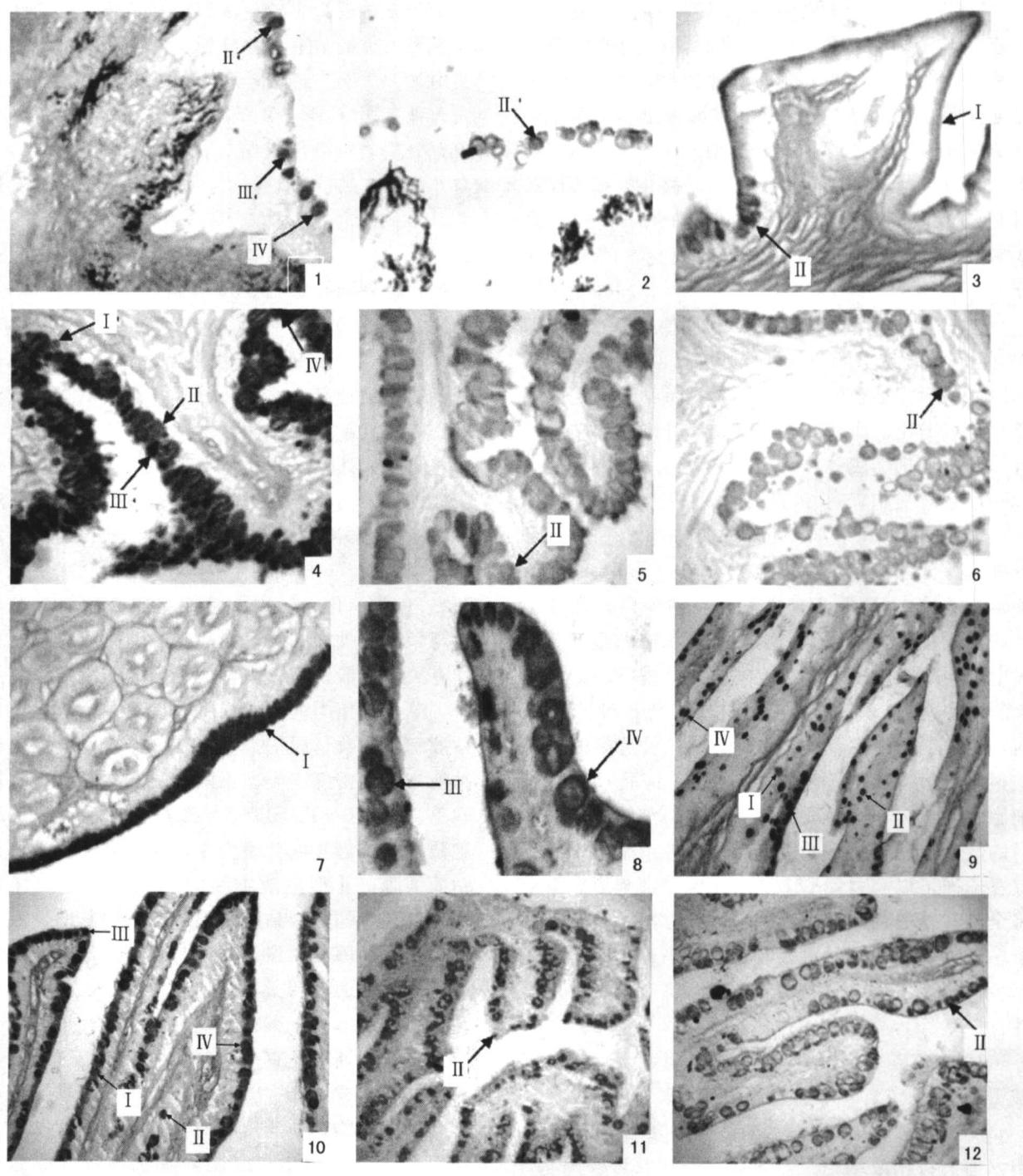


图1 花鲈消化道粘液细胞的类型与分布

Fig 1 Types and distribution of mucous cells in the digestive tracts of *Lateolabrax japonicus*

1-1 舌 AB-PAS 染色示 II型蓝色粘液细胞 $\times 400$, II型紫红色粘液细胞 $\times 400$, IV型蓝紫色粘液细胞 $\times 400$; 1-2 舌 pH 2.5 阿利新蓝染色示 II型蓝色粘液细胞 $\times 400$; 1-3 食道 AB-PAS 染色示 I型红色单层柱状粘液细胞 $\times 400$, II型蓝色复层扁平粘液细胞 $\times 400$; 1-4 食道 AB-PAS 染色示 I型红色粘液细胞 $\times 400$, II型蓝色粘液细胞 $\times 400$, III型紫红色粘液细胞 $\times 400$, IV型蓝紫色粘液细胞 $\times 400$; 1-5 食道 pH 2.5 阿利新蓝染色示 II型蓝色粘液细胞 $\times 400$; 1-6 食道 pH 3.1 阿利新蓝染色示 II型蓝色粘液细胞 $\times 400$; 1-7 胃 AB-PAS 染色示 I型红色单层柱状粘液细胞 $\times 400$; 1-8 肠前部 AB-PAS 染色 示 II型紫红色粘液细胞 $\times 400$, IV型蓝紫色粘液细胞 $\times 400$; 1-9 肠中部 AB-PAS 染色 示 I型红色粘液细胞 $\times 400$, II型蓝色粘液细胞 $\times 400$, III型紫红色粘液细胞 $\times 400$, IV型蓝紫色粘液细胞 $\times 400$; 1-10 肠后部 AB-PAS 染色 示 I型红色粘液细胞 $\times 400$, II型蓝色粘液细胞 $\times 400$, III型紫红色粘液细胞 $\times 400$, IV型蓝紫色粘液细胞 $\times 400$; 1-11 肠 pH 2.5 阿利新蓝染色示 II型蓝色粘液细胞 $\times 400$; 1-12 肠 pH 3.1 阿利新蓝染色示 II型蓝色粘液细胞 $\times 400$ 。

1968 年 Kitzan 和 Sweeny 最早对鱼类粘液细胞进行研究^[8]，利用 PAS 可显示不同糖类的染色技术，通过光镜及电镜观察，对非洲肺鱼的粘液细胞进行形态学研究，根据着色差异及细胞形态将粘液细胞分为 I、II、III3 种类型，I 型为亮红色，II 型为淡红色，II 型为深红色。这种分类方法仅根据 PAS 反映颜色的深浅不同来划分类型，标准很难掌握，也无法准确地反映粘液细胞中的复杂成分。

1985 年 Sibbing 和 Uribe 利用高铁酸铵 (HID) 染色、酸性条件下的阿利新蓝 (AB) 染色及 AB 和 PAS 相结合的方法^[9]，对鲤鱼粘液细胞进行形态及组织化学研究同样观察到 3 种形态的粘液细胞，并对其化学成分作了分析：(1) 囊状 (sacciform) 粘液细胞，可被 HID 强烈着色，内含硫粘蛋白；(2) 梨状 (pyriform) 粘液细胞，不被 HID 着色，内含唾液粘蛋白；(3) 杯状 (goblet) 粘液细胞，不被 HID 着色，内含唾液粘蛋白。许多学者认为，粘液细胞这 3 种类型是由粘液细胞发育过程中不同阶段表现形态及不同阶段合成不同物质造成的，即囊状细胞是发育的早期，梨状细胞为中期，杯状细胞为发育的成熟期^[1]。这种分类方法缺陷很大，第一，仅凭细胞形态分类，不能反映粘液细胞中的成分，而粘液细胞的功能与细胞内的粘多糖的成分是密切相关的；第二，粘液细胞由于分布位置不同可以有多种形态，因而仅凭细胞形态很难将全身各处的粘液细胞统一为一个标准；第三，由于粘液细胞是立体的，因而在切片平面上出现的形态不一定能代表细胞的整体形态，具有很大的片面性。

1997 年袁金铎等利用阿利新蓝 (AB) 与过碘酸雪夫氏 (PAS) 联合染色法对淡水白鲳 (*Colosoma sp.*) 粘液细胞类型进行了研究^[10]，根据形态，他们将粘液细胞分为球状、囊状及长椭圆状 3 种类型，再依据着色情况，每种类型又分为不同的亚型，分型更为详细。利用不同酸度下的阿新蓝 (AB) 染色与 PAS 反应相结合可以区分粘液中酸性和中性粘液物质，研究结果显示，粘液的主要成分是中性和酸性粘多糖，在酸性粘多糖中主要是含羧基 (-COOH)、硫酸基 (-SO₃H) 和磷酸基 (-OPO₃H₂) 的粘多糖，另外粘液中还含有多种蛋白质^[11]，特别是在皮肤、肠及胆汁粘液中发现含有免疫球蛋白 IgM，这些免疫球蛋白可能在鱼类免疫中起着重要作用^[11]。

许多研究人员在多年反复试验的基础上，对多

种染色方法进行比较，认为根据 AB-PAS 反应的颜色将鱼类的粘液细胞分为 4 种类型是比较科学和实用的^[6-7, 12-15]。本试验运用阿利新蓝—过碘酸雪夫氏染色法 (AB-PAS) 将花鲈消化道粘液细胞进行分型，所得结果与该法对胡子鲶^[6]、鲤鱼^[7]、南方鲇^[13]、皱纹盘鲍^[14]、海湾扇贝^[15]、栉孔扇贝^[16]、文蛤^[17]和短蛸^[18]粘液细胞进行分型所得结果相同，也分为 4 种类型。根据 AB-PAS 反应的颜色将花鲈消化道的粘液细胞分型效果较好，AB 染液 pH 2.6 时，AB 主要对酸性粘多糖着色，PAS 反应主要显示中性粘多糖，将 AB 和 PAS 的染色结果结合起来便能根据所显颜色不同，比较好地反映粘液细胞中酸性粘多糖和中性粘多糖的含量变化，从而达到区别不同类型的粘液细胞的目的。粘液细胞中粘多糖性质的不同、直接反映了粘液细胞功能的差异，比根据细胞形态划分类型意义更大。

3.2 鱼类消化系统中粘液细胞的类型与分布，不仅与鱼类的种类有关，也与鱼类的生活环境及其食性有关。一般说来，肉食性鱼类的粘液细胞数量最少，草食性鱼类的粘液细胞数量最大，杂食性鱼类粘液细胞的数量居中^[1]。同种鱼类消化道不同部位粘液细胞的密度、类型不同，与其功能有着密切的联系。从 AB-PAS 染色结果可知花鲈舌中粘液细胞数目较少，并以 II 型为主，同时含少量 III、IV 型粘液细胞，II 型粘液细胞的主要成分是酸性粘多糖，存在舌的 II 型粘液细胞可以利用其酸性成分有效地防止病原菌的侵入，同时还可以通过分泌粘液来促进食物的吞咽。花鲈食道中含有大量的粘液细胞，并以 II 型和 IV 型粘液细胞为主，食道上皮除复层扁平上皮外，还有一些单层柱状细胞区域，与胃单层柱状上皮相似^[10-11]，食道中的粘液细胞可以起到润滑食物，防止食物对消化道造成机械损伤的作用^[13]，且花鲈摄食时会随着食物带进病原微生物，粘液细胞所分泌粘液中的水解酶等溶菌抗菌物质可能在防止病原生物从消化道进入体内方面发挥重要作用。花鲈胃上皮含有单层柱状粘液细胞，属 I 型粘液细胞，含中性粘多糖，具有调节胃中 pH 值的功能，而且中性粘液细胞常与碱性磷酸酶共存，故又有消化功能。这与以前人们所观察到的鲶鱼胃中不具有粘液细胞的结果不同，原因可能是由于采用的染色方法不同所引起的^[6]。AB-PAS 是一种粘液细胞特异的染色方法，可以对粘液细胞特异着色，而以前人们对于鲶鱼胃进行研究时采用的是 HE 染色方法，它无法特异地显示粘液细胞。

由于粘液细胞最初被称为杯状细胞, 人们常以它的形态来确定粘液细胞。而花鲈胃部(贲门、胃体、幽门)的粘液细胞不是典型的杯状, 因此, 从HE的染色结果来看, 花鲈胃部不具有杯状细胞, 而从AB-PAS染色结果看, 花鲈胃部含有粘液细胞。粘液细胞在花鲈肠中不同部位的数目和种类也不相同, 肠前部的粘液细胞以II型为主, I型粘液细胞也比肠中、后部多些, 可能是由于肠前部与胃相连, 担负着部分胃的功能; 肠中部的粘液细胞以III型和IV型粘液细胞为主; 肠后部的粘液细胞数目较多, 并以IV型粘液细胞为主。这可能与肠后部的生理功能有密切关系, 肠后部与肛门相连, 细菌等病原体易侵入, 粘液中所含有的免疫性物质可有效除去病原体, 同时, 肠后部中存在大量粘液, 有利于粪便的形成和排出。花鲈舌、食道、肠在pH 1.0阿利新蓝染色时呈阴性反应, pH 2.5、pH 3.1阿利新蓝染色时呈阳性反应, 说明其粘液细胞含酸性粘多糖。胃在pH 1.0、pH 2.5、pH 3.1阿利新蓝染色时均呈阴性反应, 也说明其粘液细胞无酸性粘多糖。

参考文献:

- [1] 杨桂文, 安利国. 鱼类粘液细胞研究进展 [J]. 水产学报, 1999, 23 (4): 403- 408.
- [2] 杨桂文, 安利国, 温长法, 等. 鲤肠粘液与血清中免疫球蛋白的比较研究 [J]. 中国水产科学, 1999, 6 (4): 109- 110.
- [3] LOBB C J. Secretory immunity induced in catfish, *Ictalurus punctatus*, following bath immunization [J]. *Dev Comp Immunol*, 1987, 11: 727- 738.
- [4] HARRIS J E, WATSON A, HUNT S. Histochemical analysis of mucous cells in the epidermis of brown trout *Salmo trutta* [J]. *J Fish Biol*, 1973, 5: 345- 351.
- [5] SHAN K K, AGARWAL S K. Histochemistry of adhesive discidermis of a hill stream fish, *Garra gotyla* [J]. *J Anim Morphol*, 1991, 38 (12): 9- 12.
- [6] 尹苗, 安利国, 杨桂文, 等. 胡子鲶粘液细胞类型及其在消化道中的分布 [J]. 动物学报, 2001, 47 (专刊): 116- 119.
- [7] 尹苗, 安利国, 杨桂文, 等. 鲤鱼粘液细胞类型的研究 [J]. 动物学杂志, 2000, 35 (1): 8- 9.
- [8] KITZAN S M, SWEENEY P R. A light and electron microscope study of the structure of *Protopterus Annecten* epidermis. I. Mucus production [J]. *Can J Zool*, 1968, 46: 767- 772.
- [9] SIBBING F A, URIBE R. Regional specializations in the epipharyngeal wall and food processing in the Carp [J]. *Netherlands J Zool*, 1985, 35 (3): 377- 422.
- [10] 袁金铎, 张明, 王新东, 等. 淡水白鲳粘液细胞类型和分布的研究 [J]. 细胞生物学杂志, 1997 (增刊): 70- 72.
- [11] 杨桂文, 安利国, 王长法, 等. 鲤鱼皮肤粘液与血清中免疫球蛋白的比较研究 [J]. 动物学研究, 1998, 19 (6): 489- 492.
- [12] 安利国, 杨桂文, 王欣东, 等. 鲤稚幼体早期发育过程中粘液细胞的发生和变化 [J]. 水生生物学报, 2001, 25 (2): 191- 194.
- [13] 刘怀如, 张耀光. 南方鮰消化道杯状细胞分布与类型探讨 [J]. 四川动物, 2002, 21 (1): 6- 8.
- [14] 王宜艳, 孙虎山, 郑美玉. 皱纹盘鲍消化道粘液细胞的类型与分布 [J]. 水产科学, 2004, 23 (5): 1- 4.
- [15] 王宜艳, 孙虎山, 孙修勤, 等. 海湾扇贝消化系统粘液细胞的类型与分布 [J]. 中国水产科学, 2003, 10 (3): 254- 256.
- [16] 孙虎山, 王宜艳, 李光友, 等. 椎孔扇贝外套膜和鳃粘液细胞的类型与分布 [J]. 中国水产科学, 2002, 9 (4): 315- 317.
- [17] 杨宁, 任素莲, 宋微波, 等. 文蛤消化道粘液细胞研究 [J]. 水产学报, 2005, 29 (4): 461- 466.
- [18] 王宜艳, 韩强, 孙虎山, 等. 短蛸外套膜和足粘液细胞的类型及分布 [J]. 动物学杂志, 2005, 40 (4): 96- 99.

(责任编辑: 周 琼)