

尼罗非鲫腺垂体中外侧部的超微结构

方展强,何艾文

(华南师范大学 生物系,广东 广州 510631)

摘要:取越冬前期、越冬期、初春期及夏季高温期3龄雌性尼罗非鲫(*Oreochromis nilotica*),对其腺垂体中外侧部的超微结构进行观察分析。其中外侧部主要由生长激素(GH)分泌细胞、促甲状腺激素(TSH)分泌细胞和促性腺激素(GTH)分泌细胞所组成。对脑垂体结构的年周期观察结果表明,在卵黄发生期和成熟期阶段,GH细胞处于活跃状态;产卵期间,TSH细胞与GTH细胞显示了同步的高度活跃,TSH分泌可直接促进排卵活动。并讨论各类腺细胞的超微结构特征及分泌颗粒释放方式的特点。

关键词:尼罗非鲫(尼罗罗非鱼);腺垂体;中外侧部;超微结构

中图分类号:Q959.499

文献标识码:A

文章编号:1005-8737(2002)03-0207-04

对硬骨鱼类脑垂体超微结构的研究已有数十年的历史,对欧洲鳗(*Anguilla anguilla*)及其他鱼类性腺及脑垂体的结构与生理功能已有较细致和系统的研究^[1-2]。对不同种类罗非鱼脑垂体的一般组织和超微结构的研究前人曾作过报道,主要研究原产地罗非鱼生殖季节脑垂体的结构和变化特点^[3]。但罗非鱼非生殖季节脑垂体尤其中外侧部各类激素分泌细胞的结构和变化特点则尚未见报。本文对尼罗非鲫(*Oreochromis nilotica*)腺垂体中外侧部(Proximal pars distalis, PPD)周年的超微结构变化进行了观察,为丰富罗非鱼繁殖生物学资料以及引种和繁殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验于1994年11月至1995年7月期间进行,分别在越冬前期(11月份)、越冬期(2月份)、初春期(4月份)及夏季高温期(7月份),采集3龄的尼罗非鲫雌鱼,体长17~20 cm,体重250~300 g,取自华南师大生物系鱼类研究室实验鱼塘和乳源县南水水

库车干水的温泉鱼塘。

1.2 组织学样品制备

剖开颅骨摘取垂体样品。组织学样品用Zenker氏液固定,石蜡包埋,连续纵切,厚5 μm,用Heidenhain-Azen三色法染色观察、拍照。

1.3 电镜样品制备

垂体样品经0.2 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.4)漂洗,投入4%戊二醛低温固定5 h,再置1%锇酸固定3 h,逐级乙醇脱水,环氧丙烷透明,Epon 812包埋,先用LKB超薄切片机制备1 μm厚切片,以1%甲苯胺蓝染色,再切成400~600 Å超薄切片,醋酸双氧铀及Reynolds柠檬酸铅液复染,置H-300型透射电镜观察及拍照。

2 结果 (图版见附页1~3)

2.1 腺垂体中外侧部组织结构

性成熟的尼罗非鲫腺垂体(Adenohypophysis)中外侧部(PPD)占据腺垂体中间和腹面宽扁部分,其体积大小随季节和性成熟程度而变化。Azen法染色显示,PPD与前外侧部(Rostralis pars distalis, RPD)、中间部(pars intermedia, PI)界限分明(图版-1)。PPD由嗜酸性和嗜碱性2大类细胞构成,被染为红色的嗜酸性细胞为GH细胞(Growth hormone cells),形成滤泡串群,占据与神经垂体相邻部分;呈蓝色的嗜碱性细胞类群占据PPD大部分,并

收稿日期:2001-09-04.

基金项目:广东省农委科技攻关项目.

作者简介:方展强(1953-),男,副教授,从事动物学教学和研究. E-mail:fangzhang@sclu.edu.cn

与PI相邻,在形态上分为大型和小型2类细胞,大型细胞染为浅蓝色,胞质内都含有数团呈棒状体分泌物,通常成群分布在近血窦处,为TSH细胞(Thyrotrophs cells);小型细胞染为深蓝色,产卵期间这类细胞胞质都有1至数个巨大空泡,为GTH细胞(Gonadotrophic hormone cells)(图版 - 1)。

2.2 腺垂体中外侧部的超微结构

2.2.1 腺细胞类型

GH细胞 广州地区11月后期,尼罗非鲫进入越冬前期。GH细胞胞体呈立方形或圆形,胞径8~12 μm,具球状核,核径为4~5 μm,外层核膜可见一圈核糖体颗粒;胞质内密集充满被膜分泌颗粒,直径为230~350 nm,电子密度大,颗粒大小较一致;高尔基体中等发育;粗面内质网呈小片段分散分布,形成众多小池状;线粒体卵圆形状(图版 - 4)。越冬期间(2月份),GH细胞超微结构与越冬前期没有明显区别;至初春期(4月份),尼罗非鲫开始活动,此期GH细胞超微结构开始有明显变化,分泌颗粒更加密集,均匀占据整个胞体,高尔基体开始活跃,核孔清晰可见,显示细胞进入活跃状态(图版 - 2)。进入夏季高温繁殖季节(7月份),尼罗非鲫处于高度活动状态,与冬季保持在恒温的温泉水(±26℃)实验组的雌性尼罗非鲫亲鱼一样,其GH细胞呈现高度活动状态(图版 - 3),细胞超微结构变化为:细胞核变形,核仁明显,在核附近可见一呈弯曲状巨型线粒体,其体积常大于细胞核,膨大呈囊泡状;内质网形成众多网片状小段分布,不形成小池状结构;胞质内分泌颗粒稀疏,而邻近血窦内充满分泌物。

TSH细胞 TSH细胞呈卵形或多角形,胞径6~7 μm,多数细胞的一极毗邻血腔,核呈球状或肾形,核径5 μm左右;粗面内质网扩张成众多小池状分布,高尔基体不发达,线粒体呈哑铃状,胞质内含众多小型被膜分泌颗粒,直径为80~120 nm,还典型地分布一类被膜大型棒状体(图版 - 4),电镜图显示,棒状体是由小分泌颗粒积聚形成小棒状体,而后再进一步凝聚成更大的棒状体(图版 - 7)。TSH细胞胞质内存在的这种棒状物是独特的,在其他鱼类尚未发现。在越冬期(2月份),TSH细胞的超微结构未见明显变化。进入初春期(4月份),雌性尼罗非鲫正处于卵母细胞的卵黄积累阶段,TSH细胞胞质内的分泌颗粒明显减少,出现众多扩张的内质网小池。在夏季繁殖季节(7月份),TSH细胞活动

活跃,胞质内分布众多小内质网池,分泌颗粒迅速减少,分泌颗粒和棒状体内的物质被释放到包围着血腔的基膜结构;排空的棒状体与胞质内空泡接触,进一步形成胞质内单一的大空泡(图版 - 6)。发现TSH细胞存在的双核现象(图版 - 5)。

GTH细胞 形状不规则,胞径15~20 μm,核球状,核径5~6 μm,胞质内被膜分泌颗粒直径为90~300 nm,含有数个大型球状体,直径最大可达3 μm(图版 - 8);胞质内粗面内质网不形成板层状,通常扩张成为大小不一的内质网小池,分散分布;线粒体数量多,高尔基体中等发育。越冬前(11月份)雌尼罗非鲫GTH细胞胞质内几乎都含有一大空泡(图版 - 4)。越冬期间(2月份),胞质内空泡逐步缩小,出现小分泌颗粒和大型球状体(图 - 8)。进入初春期(4月份),胞质内空泡进一步缩小或消失,高尔基囊泡出现大量新合成分泌颗粒;胞质内密集分布分泌颗粒和数量较多的大型球状体颗粒(图 - 13)。进入夏季繁殖季节(7月份),尼罗非鲫正处于卵母细胞到成熟阶段过渡,GTH细胞出现活跃的激素释放活动。GTH释放时,胞质内大量的分泌颗粒转移到胞膜一端,与胞质膜接触(图版 - 9),尔后,分泌颗粒被膜与胞质膜连接形成典型的“ ”轮廓(图版 - 10),分泌颗粒内的激素物质被释放到胞质间隙内,GTH细胞胞间隙扩张(图版 - 11)。大量分泌颗粒迅速排空后,GTH细胞胞质膜扩张,胞体呈不规则形状,胞质内出现众多小空泡,逐步互相串通最终形成单个巨大空泡(图版 - 14)。排卵后期,胞质内空泡含有无被膜的分泌颗粒(图版 - 12)。此时GTH细胞胞质内均含有1至数个大空泡结构,细胞核变形,但未发现衰老细胞。

2.2.2 血管网系统和神经分泌纤维 腺细胞群之间不存在非分泌细胞类型,光镜下发现一些嫌色细胞为尚未分化完全的腺细胞。分布在腺细胞群之间的毛细血管致密,构成了毛细血管网和血窦(图版 - 4)。腺细胞群间存在A和B型神经分泌纤维的轴突(图版 - 16),A型纤维的轴突终端与GH、TSH和GTH细胞有直接接触,并发现A型纤维轴突的终端与TSH和GTH细胞之间形成突触联系(图版 - 15)。

3 讨论

硬骨鱼GH细胞胞质内分布密集的、电子密度较高的分泌颗粒,其大小介于GTH细胞和TSH细

胞之间。GH 细胞在腺垂体分布的位置一致,呈索状,形成与神经垂体(Neurohypophysis)相连续的边界带。尼罗非鲫处于卵黄发生和成熟期,GH 细胞处于活跃的合成和分泌状态。GH 细胞的分泌颗粒以“胞吐”方式释放到胞间隙的现象已有报道^[3],尽管本实验未找到明显轮廓,但发现 GH 细胞胞核变形,胞质内出现数个巨型线粒体,分泌颗粒数量迅速减少,显示 GH 的分泌与卵黄发生有关。已经证明提纯的罗非鱼 GH 对硬骨鱼类肝脏微粒具独特粘合作用^[4]。

TSH 细胞在腺垂体分布位置比其他细胞类型的变动较大,日本鳗(*Anguilla japonica*) TSH 细胞分布在 RPD^[5];而日本海马(*Hippocampus japonicus*)和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的 TSH 细胞分布在 PPD^[6-7],尼罗非鲫 TSH 细胞的分布也仅限于 PPD。这类细胞胞质内存在大型棒状体结构,其他硬骨鱼类未见报道。棒状体内含物的功能意义未明,但其形成是小分泌颗粒的积聚,在电镜图可观察到其过程,其电子密度、染色特征与小分泌颗粒也相同,推断它们代表 TSH 所贮存的激素。卵生硬骨鱼类 TSH 细胞和甲状腺超微结构的周期性变化与性腺发育周期相一致,TSH 加强了甲状腺激素的分泌,甲状腺激素则加强 GTH 对卵巢作用。尼罗非鲫卵黄发生期间 TSH 细胞一直处于活跃状态也证明这一点。在排卵期间 TSH 细胞分泌活动活跃,胞质内分泌颗粒排空,棒状体电子密度降低,出现大空泡,细胞核变形等说明 TSH 直接参与鱼类的排卵活动。此外,脑垂体腺细胞的双核现象较罕见。

已证明硬骨鱼类腺垂体分泌 2 种 GTH,即 GTH- (相当促卵泡素 FSH)和 GTH-^[8-9] (相当促黄体素 LH),它们都由 和 2 个亚基组成,GTH- 和 GTH- 的 和 亚基的基因已经克隆和测序^[8]。GTH- 和 GTH- 分别由不同的 GTH 细胞分泌产生,分布在腺垂体中外侧部不同位置,在性腺成熟期腺垂体虽然同时存在 GTH- 和 GTH- 的生成细胞,但主要是 GTH- 细胞^[9]。尼罗非鲫仅观察到 1 种 GTH 细胞类型,可能代表 GTH- 细胞。GTH 细胞超微结构 3 个特征是:胞质内周期性出现空泡结构。产卵前胞质充满小分泌颗粒和大型球状体,无空泡结构;产卵期间尤其在排卵过程,大量小分泌颗粒以“胞吐”形式排入胞间隙,可观察到“ ”的轮廓,胞质内出现众多小空泡,小分泌颗粒稀疏,球状体没有变化;排卵后

胞质内小分泌颗粒几乎排尽,但球状体形状和数量依然不变,并形成数个或单个巨大空泡占据细胞大部分,胞核被挤压在一角。GTH 细胞在下次繁殖周期进入了恢复期,胞质内空泡逐步缩小,重新大量出现新合成的小分泌颗粒。胞质内存在的球状体,到目前为止对其功能意义仍不明确。在鲤科或鲂科鱼类,球状体会融合为不规则团块状体。有人认为球状体具溶酶体功能^[10],一些观察则发现球状体由小分泌颗粒愈合形成,因而与小分泌颗粒一样含有相同的激素物质^[11]。对长吻鮠(*Leiocassis longirostris*) GTH 细胞的超微结构观察发现,GTH 细胞中球状体的释放与卵母细胞发育成熟有关可能代表 FSH;小分泌颗粒的释放则与排卵有关可能代表 LH^[12]。对尼罗非鲫的观察结果赞同以上看法。胞质内出现巨大空泡的功能意义。空泡的出现作为 GTH 排出标志,空泡还包含分泌颗粒的退化产物,形成“池内残体”(vacuolar residual bodies)结构。有人认为池内存在的絮状物可能是 1 种粘蛋白,是小分泌颗粒的最后产物^[13]。但用 LRH-A 对团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)催产 8h,GTH 细胞空泡内出现许多成束的纤丝状结构,证实这一结构是 1 种与排卵有关的糖蛋白分泌物^[14],因此空泡的出现和其内含物是否还有其他特殊意义,值得进一步探讨。

参考文献:

- [1] Olivereau M, Ball J N. Pituitary influences on osmoregulation in teleosts. Mem[J]. Soc Endocr, 1970, 18:57-85.
- [2] 鲁双庆,刘筠,陈淑群,等.草鱼垂体 STH 细胞组织化学和超微结构研究[J].动物学研究,1997,17(1):75-78.
- [3] Leathland J F, Ball J N, Hyder M. Structure and fine structure of the hypophyseal pars distalis in indigenous African species of the genus *Tilapia*[J]. Cell Tissue Res, 1974, 149:245-266.
- [4] Fryer J N. A radioreceptor assay for purified teleost growth hormone[J]. Gen Comp Endocrinol, 1979, 39:123-130.
- [5] Bage G, Ekengren B, Fernhol B, et al. The pituitary gland of the roach, *Leuciscus rutilus*. The proximal pars distalis and its innervation[J]. Acta Zool Stockholm, 1974, 55:191-204.
- [6] 张峰.日本海马(*Hippocampus japonicus*)仔鱼期脑垂体发育的组织学研究[J].大连水产学院学报,1994,9(1,2):41-45.
- [7] 鲁双庆,刘少军.草鱼性成熟前后垂体组织学和超微结构[J].湖南师范大学学报(自然科学版),1996,19(3):76-83.
- [8] Jackson K A, Goldberg D, Ofir M, et al. Cloning, sequencing of GTH-, GTH- and GH cDNAs of the blue gourami and their expression during the different stage of oogenesis[A]. Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive

- Physiology of Fish[C]. Norway:Bergen,1999.489.
- [9] Schulz R W,Bogerd J,Bosma P T,et al. Physiological, morphological and molecular aspects of gonadotropins in fish with special reference to the African catfish, *Clarias gariepinus*[A]. Proceedings of the 5th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish[C]. Texas:Austin,1995.2-6.
- [10] Olivereau M,Nagahama Y. Immunocytochemistry of gonadotropic cells in the pituitary of some teleost species[J]. Gen Comp Endocrinol,1983,50:252-260.
- [11] Peute J,de Leeuw R,Goos H J Th, et al. Ultrastructure and immunolabeling of gonadotrops and thyrotrops in the pituitary of the African catfish, *Clarias lazera*[J]. Cell Tissue Res,1984,238:95-103.
- [12] 吴嘉敏,姜仁良,张继平. 长吻鲇人工催产及脑垂体促性腺激素细胞的超微结构的变化[J]. 水产学报,1999,23(3):248-253.
- [13] 方永强,汪敏. 丘脑下部促黄体素释放激素类似物(LRH-A)的作用机制:对罗非鱼脑垂体促性腺激素分泌细胞超微结构的影响[J]. 动物学报,1983,29(2):124-128.
- [14] 王文,王韞明,杜开河. 团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)脑垂体促性腺激素分泌细胞的超微结构及其人工催产过程中的变化[J]. 电子显微镜学报,1988,(3):19.

Ultrastructure of proximal pars distalis of adenohipophysis in *Oreochromis nilotica*

FANG Zhan-qiang, HE Ai-wen

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

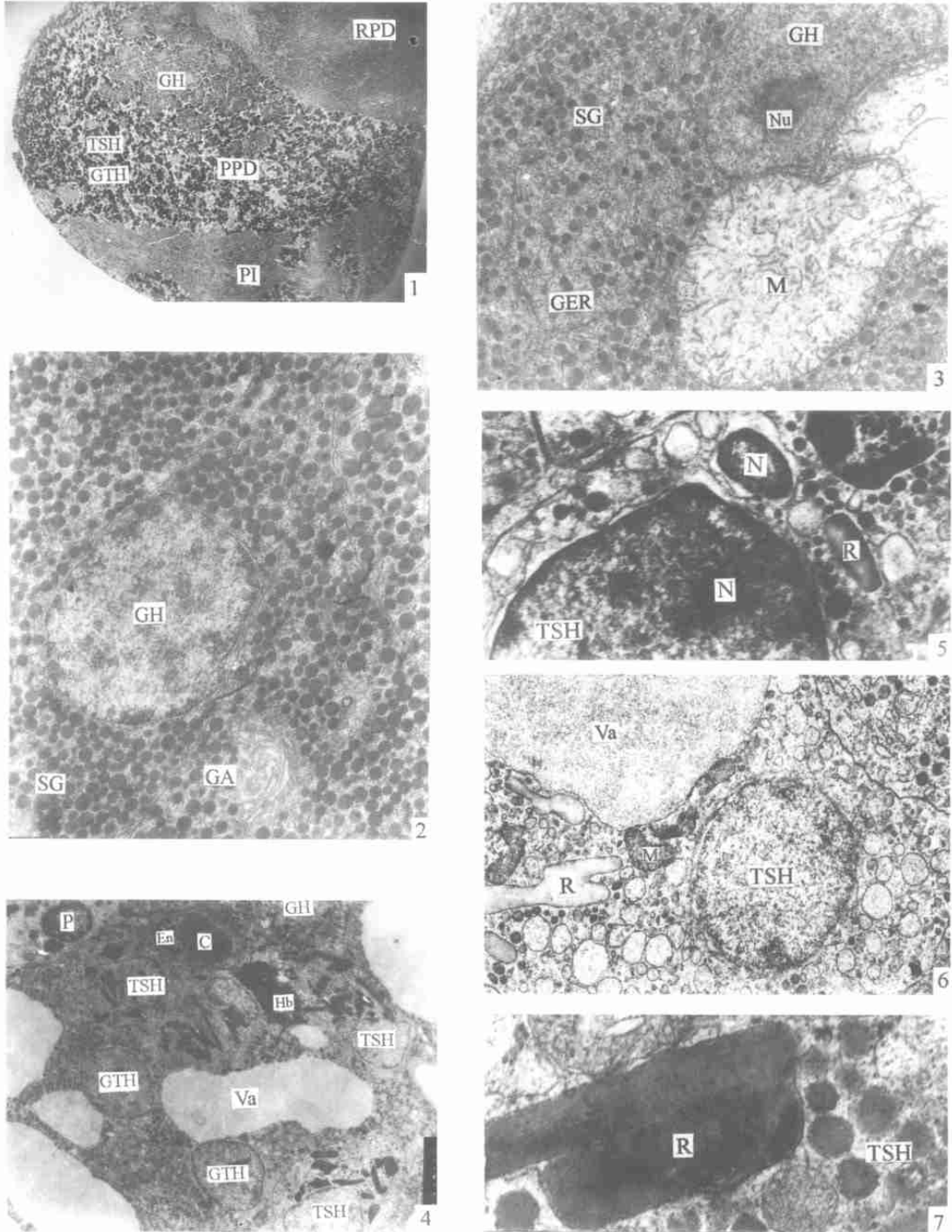
Abstract: The 3-year-old female individual *Oreochromis nilotica* were collected in Nov., Feb., Apr. and July, body length 17 - 20 cm and body weight 250 - 300 g. Transmission electron microscope (H-300) was used to do the observation. The proximal pars distalis (PPD) is mainly composed of growth hormone (GH) cells, thyrotrophs (TSH) cells and gonadotrophic hormone (GTH) cells. The observations on the annual cycle of the structure of PPD show that the GH cells have high activities during the oogenesis; the TSH cells show hyperactivity synchronous with the gonadotrophs, indicating that TSH may play an important role in teleost ovulation control. The ultrastructural features of the GTH, TSH and GH cells are discussed herein, including the released way the secretory granules take from the secreting cells.

Key words: *Oreochromis nilotica*; adenohipophysis; proximal pars distalis(PPD); ultrastructure

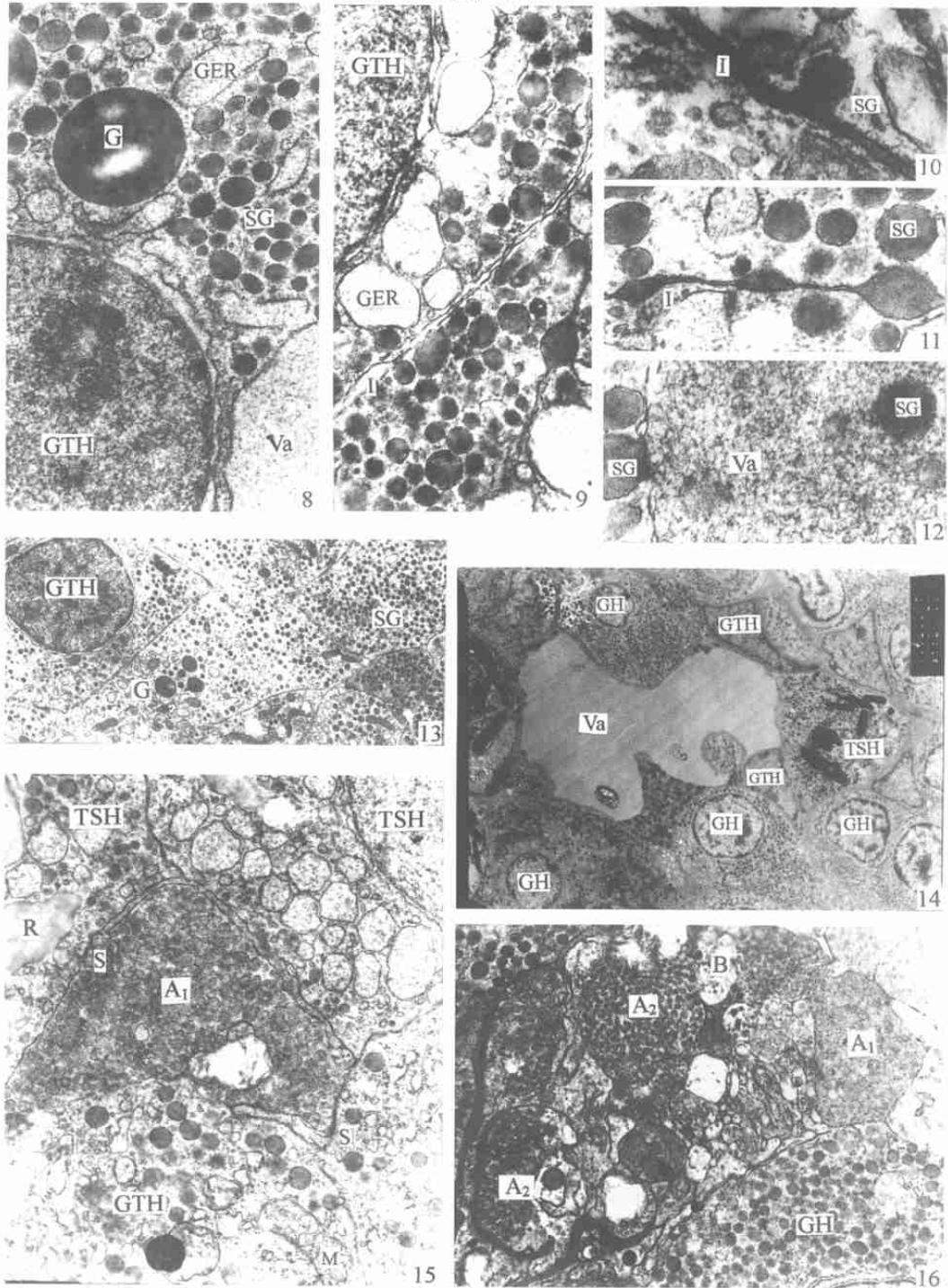
(For Plates and see attached PPI - 3)

《中国水产科学》获得全国农业科技期刊评比一等奖

为响应国家新闻出版总署关于建设强劲“中国期刊方阵”的号召,促进我国农业期刊业从数量规模型向质量效益型的转变,在中国期刊协会、中国林学会、中国水产学会、中国农业高等院校学报研究会、中国农学会农业科技期刊分会的共同支持下,中国农学会和中国期刊协会农业期刊分会组织的“第三届全国优秀农业期刊暨优秀期刊工作者评选活动”结果已经揭晓。共有100种期刊获得了“全国优秀农业期刊奖”,86位期刊工作者获得了“全国优秀农业期刊工作者”荣誉称号。《中国水产科学》在本次评比中荣获“第三届全国优秀农业期刊奖”学术类一等奖;一名同志获得“全国优秀农业期刊工作者”荣誉称号。



图版 I Plate I



图版 II Plate II

方展强等: 尼罗非鲫腺垂体中外侧部的超微结构 (207-210) 附页 3
FANG Zhan-qiang et al: Ultrastructure of proximal pars distalis of adenohypophysis
in *Oreochromis nilotica*

图版 I 说明

1. 尼罗非鲫腺垂体中外侧部光镜图(海登汉氏偶氮洋红苯胺蓝法染色), ×51.2。
2. 越冬期间的 GH 细胞, ×10 000。
3. 夏季繁殖期间的 GH 细胞, ×7 000。
4. 越冬前的 GH、TSH 和 GTH 细胞, ×4 500。
5. 夏季繁殖期间的 TSH 细胞, 注意双核结构, ×10 000。
6. 夏季繁殖期间的 TSH 细胞, ×10 000。
7. TSH 细胞胞质内含棒状结晶物质, ×16 500。

Caption for Plate I

1. Light micrographs of sections of adenohypophyseal proximal pars distalis of *Oreochromis nilotica* (treated with Heidenhain-Azen). ×51.2
2. Growth hormone cells during wintering. ×10 000
3. Growth hormone cells during reproduction in summer. ×7 000
4. Growth hormone cells, thyrotrophs cells and gonadotrophic hormone cells before wintering. ×4 500
5. Some thyrotrophs cell appeared two nuclei during reproduction in summer. ×10 000
6. Thyrotrophs cells during reproduction in summer. ×10 000
7. Thyrotrophs cell, the cytoplasmic granules are frequently aggregated into rod-shaped, crystalline-like bodies. ×16 500

C—毛细血管 Capillary; En—内皮细胞 Endothelium cell; GA—高尔基囊泡 Golgi apparatus; GER—粗面内质网 Granular endoplasmic reticulum; GH—生长激素分泌细胞 Growth hormone cell; GTH—促性腺激素分泌细胞 Gonadotrophic hormone cell; Hb—赫令氏体 Herring body; M—线粒体 Mitochondria; N—细胞核 Nucleus; Nu—核仁 Nucleolus; P—脑垂体细胞 Pituitary; PI—中间部 Pars intermedia; PPD—中外侧部 Proximal pars distalis; R—棒状体 Rod-shaped body; RPD—前外侧部 Rostralis pars distalis; SG—分泌颗粒 Secretory granules; TSH—促甲状腺激素分泌细胞 Thyrotrophs cell; Va—空泡 Vacuoles.

图版 II 说明

8. 产卵前的 GTH 细胞, ×20 000。
9. 夏季繁殖期间的 GTH 细胞, ×20 000。
- 10-11. 显示 GTH 细胞通过“胞吐”形式将分泌颗粒释放到胞间隙中, ×40 000。
12. 注意 GTH 细胞胞质内空泡含有无被膜的分泌颗粒, ×40 000。
13. 越冬后的 GTH 细胞, ×4 500。
14. 排卵后的 GTH 细胞, ×4 500。
15. 示 A₂ 型神经分泌纤维与 TSH 细胞和 GTH 细胞直接接触, ×15 000。
16. 分布在腺垂体中外侧部的 A₁、A₂ 和 B 型神经分泌纤维, ×10 000。

Caption for Plate II

8. Gonadotrophic hormone cells before spawning. ×20 000
9. Gonadotrophic hormone cells during reproduction in summer. ×20 000
- 10-11. Gonadotrophic hormone cells, showing the secretory granule release by exocytosis into the dilated intercellular space. ×40 000
12. Gonadotrophic hormone cells, note some vacuole contains numerous un-coated secretory granule. ×40 000
13. Gonadotrophic hormone cells after wintering. ×4 500
14. Gonadotrophic hormone cells after spawning. ×4 500
15. Direct contact of type A₂ with TSH cells and GTH cells. ×15 000
16. Showing neurosecretory terminals of types A₁, A₂ and B in adenohypophyseal proximal pars distalis. ×10 000

A₁—A₁ 型神经分泌纤维 Type A₁ neurosecretory fibre; A₂—A₂ 型神经分泌纤维 Type A₂ neurosecretory fibre; B—B 型神经分泌纤维 Type B neurosecretory fibre; G—球状体 Globule; I—细胞间隙 Intercellular space; S—突触联系 Synaptic contact.