

光 毒腺的显微和超微结构*

刘晓萍 张克凌 于业军 方丽华 王海青 孙衍增

(青岛大学医学院, 山东青岛 266021)

摘要 为探讨 类螫伤机理, 用光镜和电镜观察了光 的毒棘腹外侧纵沟内的毒腺的组织结构。结果表明: 光的毒腺为复层上皮。从基底面到游离面依次为基底层、棘细胞层和嗜酸性细胞层。基底层细胞和棘层的细胞嗜碱性, 棘细胞间有少量、散在分布的嗜酸性细胞; 棘细胞的外层至腺上皮的游离面的嗜酸性细胞密集排列。电镜下可见基底细胞有丰富的核糖体。棘细胞内粗面内质网、高尔基复合体等较丰富。嗜酸性细胞内有电子密度低的膜包分泌颗粒; 接近表面的细胞内颗粒部分融合; 表层细胞核消失, 胞质充满融合的颗粒, 游离面侧的胞膜呈角质样增厚。腺上皮内还可见到黑色素细胞、郎格罕细胞和梅克尔细胞。提示毒腺组织内有两种类型的细胞, 一类为毒液形成细胞, 另一类为非毒液形成细胞。嗜酸性细胞内的电子密度低的膜包分泌颗粒成分可能是造成螫伤剧痛及全身症状的关键因素。

关键词 光 毒腺结构

被棘毒鱼螫伤可造成螫伤局部剧烈疼痛, 疼痛可迅速扩散于整个肢体, 同时可伴有恶心呕吐、血压下降、心律不齐等全身症状, 甚至死亡。是发生在渔业工作者, 尤其是渔民中的一种常见的职业病。目前尚无好的治疗方法。国外有关棘毒鱼的研究主要涉及本国沿海常见的类型, 尤其对毒 科棘毒鱼的毒腺结构及其毒液成分的研究报道较多(刘晓萍等, 2000 Gopalakrishnakone *et al.*, 1993; Yew *et al.*, 2000)。Smith 等(1974)对 科棘毒鱼之一——大西洋 毒腺的研究时认为毒腺细胞内的致毒成分是有膜包的微管。我们对我国黄海、渤海、东海和南海四大海域常见的棘毒鱼的螫人情况进行系统的调查研究(张克凌等, 1999。), 发现常见的、螫伤重的棘毒鱼主要是毒 科、 科、蓝子鱼科和鳗鲡科的棘毒鱼, 并对毒 科中最常见的种类——日本鬼 的毒腺结构进行了观察(刘晓萍等, 1999)。而我国沿海常见的 科棘毒鱼有光 (*Dasyatis laevigatus* Chu) 赤 (*Dasyatis akajei*) 花点 (*Dasyatis uarnak*) 等, 但是目前尚未见有关该棘毒鱼的毒腺结构的报道。本研究对我国沿海常见的 类棘毒鱼——光的毒腺结构进行了观察, 旨在为 类螫伤的机理及治疗的研究提供理论依据。

1 材料和方法

收集活光 , 海水养一天。削下尾上的毒棘, 迅速置于含 4% 多聚甲醛和 0.5% 戊二醛的磷酸缓冲液中 (pH 7.2~7.4) 固定。取毒腺及周围的少量毒棘的骨组织, 一部分置稀硝酸液中脱钙后, 常规石蜡包埋, 行纵、横方向连续切片 (厚 6 μm), 光镜观察并摄片。另一部分小心剥离出毒腺组织, 置 1% 锇酸后固定, 丙酮系列脱水 (Epon 812), 半薄切片定位后, 制备超薄切片, 醋酸铀-枸橼酸铅染色, JEM-1200X 透射电镜观察、摄片。

2 结果

2.1 毒腺的显微结构

毒腺位于光 尾上的毒棘的腹外侧纵沟内及其毒棘两侧的小棘突之间 (图版 I : 1)。毒腺纵切面上, 可见毒腺组织为复层上皮。上皮的基部细胞胞质嗜弱碱性, 顶部区域的上皮细胞胞质嗜酸性, 上皮有较明显的基膜。腺上皮借结缔组织与周围棘刺的骨组织相连。靠近腺上皮基膜处的结缔组织中含有较多的黑色素细胞, 但未见毒腺细胞。毒腺基底层细胞为立方形或矮柱状; 其上方为多边形的棘层细胞。基底层和棘层细胞胞质嗜弱碱性。棘层细胞外侧充满嗜酸性细胞。在棘层细胞之间也夹有散在

1999-01-04 收稿, 2000-12-10 修回

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39270645) 和山东省教委资助项目 (No. J91K01)

第一作者简介 刘晓萍, 女, 43 岁, 硕士, 教授。研究方向: 神经-内分泌-免疫网络及其我国海洋棘毒鱼的毒性。

分布的嗜酸性细胞, 该区域的嗜酸性细胞染色较浅。嗜酸性细胞为单核, 胞核位于细胞的一侧或中央; 有的嗜酸性细胞的胞核染色浅, 有的胞核几乎不着色(图版 I : 2)。毒腺组织内无导管, 毒腺上皮游离面与外界直接相通。毒腺的上皮及其下方的结缔组织向腔面突起形成纵行的嵴(图版 I : 3)。

2.2 毒腺上皮的超微结构

毒腺上皮从基底到表面可见到基底细胞、棘细胞、分泌颗粒细胞和表面细胞, 还有黑色素细胞巨噬细胞和梅克尔细胞。

基底层细胞附着于基膜上, 为一层矮柱状或立方形细胞。有电子密度较高和电子密度较低的两种类型, 电子密度较高的基细胞胞质内含较多的核糖体, 少量张力丝, 而粗面内质网、高尔基复合体及线粒体等细胞器均不典型; 电子密度较多的基细胞内, 胞核呈圆形, 常染色质很少, 胞质内含有丰富的核糖体、粗面内质网, 有分散和成束的张力丝。相邻的细胞连接面有皱褶和桥粒连接。基底面有少量内褶(图版 I : 4)。

棘细胞为多边形细胞, 约 1~2 层, 相邻细胞连接处的质膜有许多皱褶, 并有桥粒相连。胞核单个, 居于细胞中央, 胞核相对较大, 有切迹, 异染色质少, 位于核的边缘, 核仁清楚。胞质中有大量的游离核糖体、粗面内质网、高尔基复合体、线粒体及张力丝; 在高尔基复合体周围有许多膜被颗粒。小泡内未见明显的条纹, 有的细胞中可见角质颗粒样物质, 分布在胞质及胞核中(图版 I : 5, 7)。

分泌颗粒层细胞, 约十余层, 细胞呈圆或椭圆形, 单个细胞核、核形态不规则, 位于细胞的中央或一侧; 胞质内含有电子密度低的分泌颗粒样物质, 有的细胞内分泌颗粒排列紧密, 有单位膜包绕, 其内含有微粒状物质; 在分泌颗粒之间有核糖体及膜泡样物质, 在近胞膜处的胞质内可见大量的核糖体及粗面内质网、张力丝; 相邻的细胞胞膜有褶皱及桥粒(图版 I : 6, 7)。近棘细胞侧或分布于棘细胞之间的分泌颗粒细胞, 其电子密度低的分泌颗粒贴近细胞核的一侧或周围, 颗粒数量较少; 颗粒之间或外侧胞质中核糖体、粗面内质网、高尔基复合体、线粒体丰富, 并可见分散或成束的张力丝, 在高尔基复合体附近可见较多的膜被颗粒(图版 I : 8)。近表层的细胞变大而扁, 胞质内可见分泌颗粒的膜融合, 颗粒之间有较多线粒体, 有的细胞核呈退行性变, 但细胞界限清楚可见(图版 II : 9)。

表层细胞较扁平; 其胞质内的分泌颗粒融合成

不规则的空泡; 线粒体呈球或椭圆形, 其内的嵴断裂; 游离面侧的质膜增厚, 达整个细胞厚度的 1/6~1/5, 电子密度高, 呈均质状, 似角质样结构, 其内有空泡状及线粒体样结构。还可见游离核糖体, 增厚的质膜内侧也可见空泡、线粒体及核糖体, 并可见均质状物和膜包颗粒, 有的膜被颗粒与增厚的质膜相连。表层细胞的细胞连接面的质膜也可见增厚、均质状, 相邻表层细胞连接紧密(图版 II : 9, 10)。

在毒腺上皮组织中还可见到黑色素细胞, 分散在上皮细胞之间, 细胞有突起, 胞质内可见核糖体、粗面内质网及高尔基复合体, 并可见大小不等、圆或长圆形有膜包绕的黑素颗粒(图版 II : 11)。电镜下可观察到郎格罕细胞, 其外形不规则, 细胞常有细长的胞质突起伸至棘细胞及分泌颗粒细胞之间, 胞质内有溶酶体、线粒体, 并可见杆状的类似伯贝克颗粒样结构(图版 I : 5; 图版 II : 12)。毒腺上皮细胞之间还存在一种有突起的细胞, 数量少, 细胞核较小, 不规则, 胞质内有许多膜包小泡, 泡内含有致密核芯, 类似于梅克尔细胞。(图版 II : 13)。

3 讨论

本世纪初有学者开始研究类毒鱼, 认为毒腺位于尾棘的腹侧纵沟内, 并且对毒液产生细胞到底在真皮还是表皮内有争议。60 年代 Pearson 在研究澳大利亚水域中几种类毒鱼的毒腺时, 认为毒液产生细胞位于尾棘腹侧纵沟内皮鞘的表皮内, 并且有些毒腺细胞可在尾棘背、腹侧的皮鞘表皮中分布; 毒腺细胞为棒状(Pearson, 1967)。而 Smith 等(1974)在研究墨西哥湾的大西洋 (*Dasyatis sabina*) 时观察到毒腺细胞是密集排列, 形成不规则的复层上皮; 毒腺细胞与上皮鞘的其它细胞分界明显; 并且认为毒液产生细胞为终末分化的细胞, 腺细胞内无粗面内质网、滑面内质网, 仅见散在的线粒体、含有细胞的残余物的溶酶体, 细胞内有的含有一个或多个液泡样结构, 有膜包绕, 其内含物是微管结构。并认为毒腺细胞在结构上是相同的。本研究发 现 光 的毒腺组织位于尾棘腹侧纵沟内, 并且在尾棘两侧的小棘之间也有毒腺组织, 毒腺组织为复层上皮, 毒腺上皮组织内无导管, 从基底到游离面有十余层细胞。毒腺组织基底层为幼稚细胞。向上移行为棘细胞, 细胞内有丰富的粗面内质网、核糖体、高尔基复合体、线粒体及张力丝, 并可见

膜被颗粒。与周围细胞有桥粒连接。棘细胞外侧为嗜酸性细胞——即毒腺细胞。本研究观察到光的毒腺细胞在结构上并不相同，近棘细胞侧的毒腺细胞内核糖体、粗面内质网和高尔基复合体很发达，在近胞核区域可见少量的电子密度低的膜包分泌颗粒，其内含物呈细粒状，未见微管；在高尔基器附近和近胞膜处可见较多的膜被颗粒。大部分毒腺细胞核小而不规则，胞核电子密度也较低，胞质内有密集排列的分泌颗粒，颗粒间可见核糖体，颗粒周围的胞质内仍可见少量粗面内质网、核糖体、张力丝和膜被颗粒。在对哺乳动物研究认为膜被颗粒可与细胞膜相连，将所含的糖脂和胆固醇释放到细胞外面形成多层膜状结构（成令忠，1995）。近表层的毒腺细胞分泌颗粒融合，线粒体增多，胞核退行性变。表层细胞的分泌颗粒融合成不规则空泡、线粒体嵴断裂，游离面质膜显著增厚，呈角质样，相邻表层细胞分界清楚，胞质及胞膜也呈现似角质样结构。因此，认为毒腺上皮从基底到腔面一方面反映了毒腺细胞的增殖、分化、移动和脱落的过程及毒液的形成和衰变；另一方面反映了角质状表层细胞膜的形成和表层细胞脱落，类似于哺乳动物未角化复层扁平上皮的动态演变过程。

Smith 等（1974）观察到毒腺细胞内还存在许多与毒腺细胞核截然不同的深染的细胞核，认为是结缔组织细胞进入腺上皮所致。本研究也发现光

的毒腺上皮组织内有深染的核，电镜下这些细胞散在分布，并有胞质伸出的突起，这些细胞是黑色素细胞；含有大量初、次级溶酶体的郎格罕细胞，该细胞内可见到不典型的伯贝克颗粒（birbeck granule）样结构；另外还有一种含有类似肾上腺髓质细胞内分泌颗粒的细胞、结构类似于哺乳动物表皮组织中的梅克尔细胞。由此，认为毒腺上皮与哺乳类动物的复层扁平上皮有某些相似之处：毒腺上皮内有两大类细胞，一类为毒液形成细胞，从基底细胞到表层细胞毒腺细胞由幼稚到成熟、再到退化以至脱落的演变过程；另一类细胞为非毒液形成细胞即黑色素细胞、郎格罕细胞和梅克尔细胞，对毒腺上皮起保护、防御及感受刺激、或对表皮细胞增殖起调节作用。在腹侧纵沟内的毒腺上皮和其下方的结缔组织向腔面伸出纵行的嵴突，使沟内的毒腺上皮面积扩大。但毒腺上皮下方的结缔组织内无毒腺细胞。

有学者认为 类毒鱼的毒腺细胞的致毒成分是膜包微管（Smith *et al.*，1981）。本研究表明光毒腺细胞内并无类似的膜包微管结构；而认为毒腺细胞内的电子密度低的膜包颗粒内物质是致毒物质。这种差异可能是所研究的 类毒鱼种类差异所致。由于光的毒腺细胞内含有较多的粗面内质网、高尔基复合体，推测光的致毒物的性质为蛋白质。但其成分尚待深入研究。

参 考 文 献 (References)

- Cheng, L. Z. 1995 Histology and Embryology. Beijing: People and Health Press, 134. [成令忠 1995 组织学与胚胎学. 北京: 人民卫生出版社, 134.]
- Liu, X. P., Y. J. Yu, and K. L. Zhang 1999 The toxicity research of venomous fish frequently found in China coastal waters——The structure of venom gland of in dorsal spine of *Synanceja Inimicus japonicus*. *Oceanologia et Limnologia Sinica* 30(6): 597. [刘晓萍, 于业军, 张克凌 1999 中国沿海常见棘毒鱼的毒性研究——日本鬼 背鳍棘中毒腺的结构. 海洋与湖沼 30(6): 597.]
- Liu, X. P., Y. J. Yu, K. L. Zhang, H. Q. Wang, L. H. Fang and Y. Y. Hou 2000 The relation of venom gland between type I and type II cells in dorsal fin spine of Stonefish, *Inimicus japonicus*. *Acta Zool. Sin.* 46(2): 221 ~ 226. [刘晓萍, 于业军, 张克凌, 王海青, 方丽华, 侯颖一 2000 日本鬼 背鳍棘毒腺中 I、II 型毒腺细胞关系的探讨. 动物学报 46(2): 221 ~ 226.]
- Gopalakrishakone, P. and M. C. E. Gwee 1993 The structure of the venom gland of Stonefish *Synanceja horrida*. *Toxicon* 31(8): 979 ~ 988.
- Pearson, R. B. 1967 The venom apparatus of selected Queensland Stingrays. Brisbane, Australia. Thesis, University of Queensland.
- Smith, D. S, M. L. Cayer and F. E. Russell 1974 Membrane-limited microtubular aggregates in the venom secreting cells of a Stingray. *Toxicon*. 12: 331.
- Smith, D. S, M. L. Cayer and F. E. Russell 1981 Tannic acid staining of microtubules in venom-secreting cells of a Stingray. *Toxicon*. 19(6): 737.
- Yew, W. S. and H. E. Khoo 2000 The role of tryptophan residues in the hemolytic activity of stonustoxin, a lethal factor from stonefish (*Synanceja horrida*) venom. *Biochimie*. 82(3): 251 ~ 257.
- Zhang, K. L., X. P. Liu and Y. J. Yu 1999 The toxicity research of venomous fish frequently found in China coastal waters——investigation on sting of stonefish *Inimicus japonicus*. *Marine Environmental Science* 18(4): 19. [张克凌, 刘晓萍, 于业军 1999 中国沿海常见棘毒鱼的毒性研究——日本鬼 蛰伤的调查研究. 海洋环境科学 18(4): 19.]

外 文 摘 要(Abstract)

OBSERVATION ON MICROSTRUCTURE AND ULTROSTRUCTURE OF THE VENOMOUS GLAND IN STINGRAY (*DASYATIS LAEVIGALUS* CHU)*

LIU Xiao-Ping ZHANG Ke-ling YU Ye-Jun FANG Li-Hua

WANG Hai-Qing SUN Yan-Zeng

(Department of Histology and Embryology , Qingdao University Medical
College , Qingdao 266021 , Shandong , China)

In order to study the mechanism of Stingrays *Dasyatis laevis* Chu sting , the structure of the venomous gland of the Stingray was observed under light microscope and electromicroscope . The results showed that the venom tissue was the stratified epithelium in the ventral lateral grooves . The epithelium consisted of about 4 layers of cells from the base to the surface . The cells in stratum basale were basophilic cuboidal cells which rested on the basement membrane . The cells above the stratum basale were polygonal cells with central nucleus and cytoplasm filled with rough endoplasmic reticulum , ribosome , golgi apparatus and tonofibril . There were a few eosinophilic cells in HE staining scattered among the polygonal cells . Eosinophilic cells above the polygonal cells to the surface of the epithelium were about 10 layers and were also polygonal profile and were filled with many membrane-bound , electron-lucent secretory granules (venom granules) in cytoplasm . Some free ribosomes , rough endoplasmic reticulum , golgi complexes and tonofilament were observed in the eosinophilic cells . Near the superficial cells the venom granules were fused . The superficial cell were flat which cytoplasm were filled with fused venom granules and degenerating mitochondria . The cell membrane next to free surface thickened significantly like keratose . Melanocytes , langerhans cells and merkel cells were also observed in the venom epithelium . The results suggest that the substances in the membrane-coated , electron-lucent granules in eosinophilic cells may be the key factor in the envenomation by Stingrays .

Key words Stingray (*Dasyatis laevis* Chu) , Venomous gland , Microstructure and ultrostructure

* This work was supported by the National Natural Sciences Fanation of China (No.39270645)

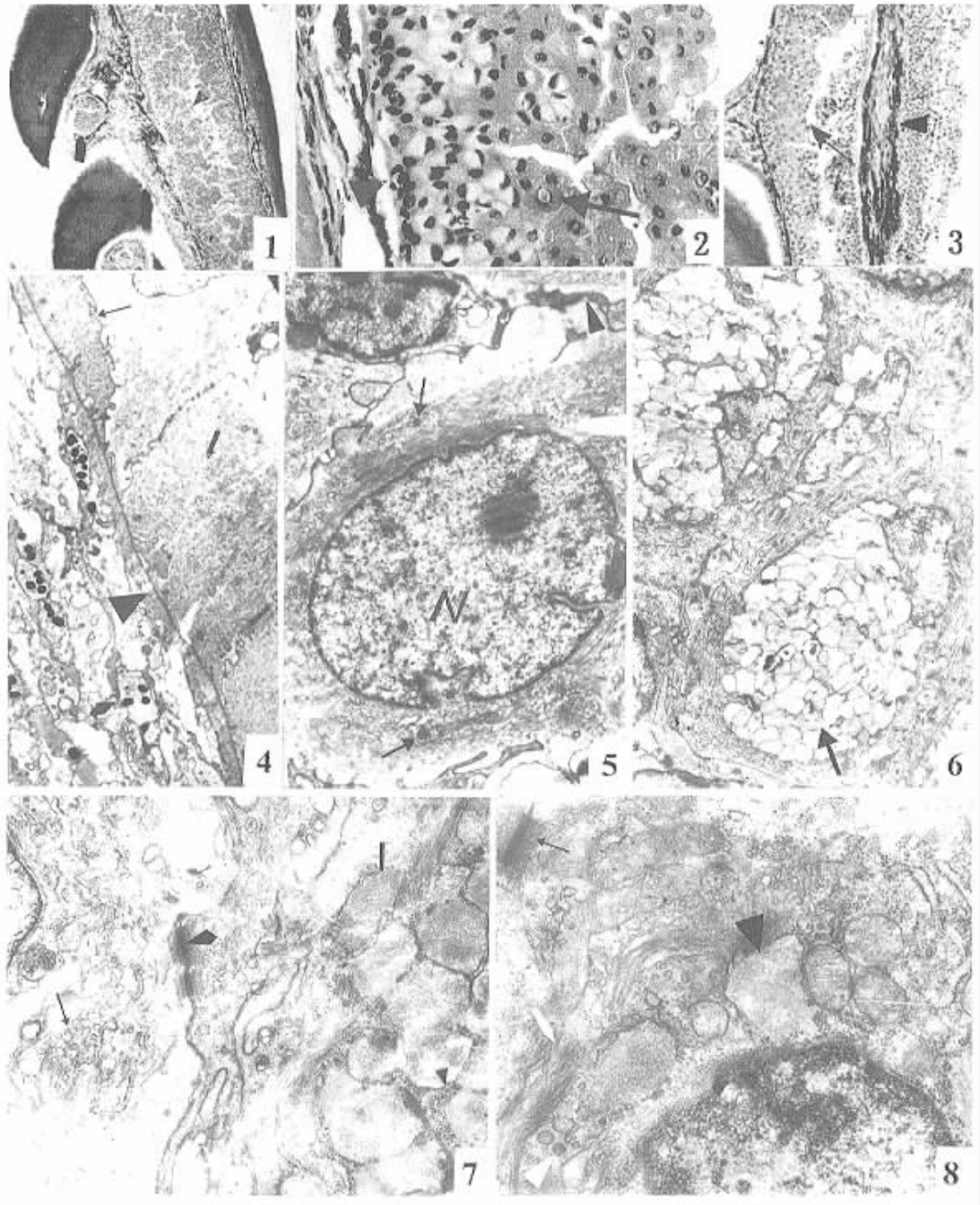
图 版 说 明 (Explanation of Figures)

图 版 I (Plate I)

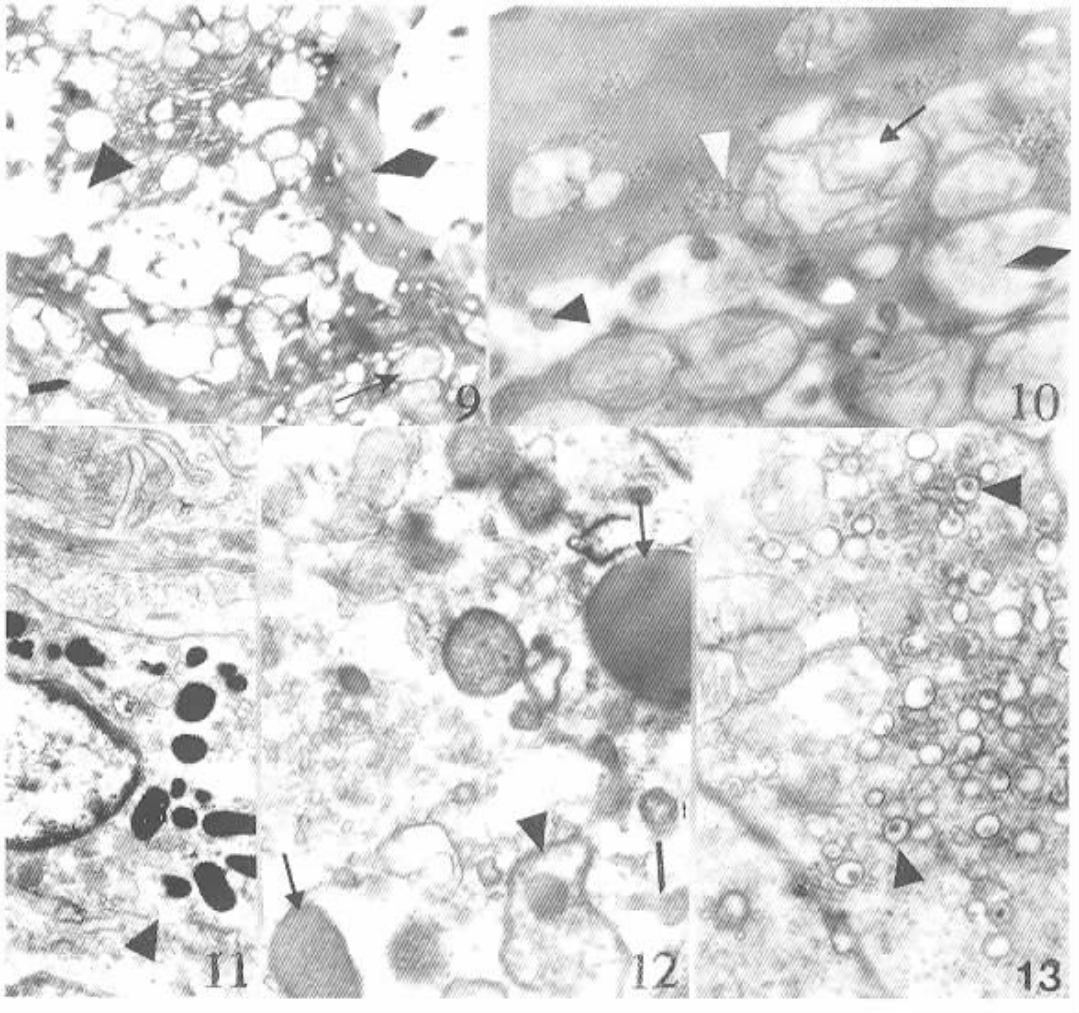
1. 光 尾棘腹侧沟内的毒腺组织为复层上皮 (▲), 在毒器两侧的齿状小棘之间也可见毒腺上皮 (|) [Longitudinal section of venom apparatus. The venom tissue in the ventrolateral grooves was stratified epithelium (▲), which also located in the interdental spaces (|)] × 40
2. 毒腺上皮基部细胞嗜弱碱性, 大部分细胞嗜酸性, 胞质均质状。有的嗜酸性细胞核色浅或不着色 (↑)。毒腺上皮下方基膜明显 (▲) [Photomicrograph of the venom epithelium. The basal cells were basophil in H E staining. Most cells of venom epithelium were eosinophil. Some nuclei of eosinophil cells were no colour in staining (↑). There was obvious basement membrane (▲)] × 400
3. 毒腺上皮内无导管, 表层细胞较扁平 (↑) 毒腺上皮及下方的结缔组织向腔面突起形成纵嵴 (▲) [Longitudinal section of the venom epithelium. There was no duct in the venom epithelium. The superficial cells were flat and reached the free surface (↑). The venom epithelium and the connective tissue beneath the epithelium protruded into the lumen forming longitudinal ridges (▲)] × 40
4. 电镜下基底层细胞立方或矮柱状, 位于基膜上 (▲)。有两种基底细胞, 一种基细胞电子密度较低, 其胞质内有核糖体、粗面内质网 (|), 另一种基细胞电子密度较高, 其胞质内细胞器少, 但有丰富的核糖体 (↑)。基膜外的结缔组织内有血管、神经及黑色素细胞及突起 (◆) [Electron micrograph of basal cells and connective tissue. The basal cells rested on basement membrane (▲) were cuboidal or lower columnar. There were two types basal cells, one was electron-lucent with a few ribosomes and rough endoplasmic reticulum (RER) (|), the other riched in ribosomes (↑). There were blood vessels, nervous fibers and melanocyte and its processes (◆) in the connective tissue beneath the epithelium] × 3 000
5. 电镜观察, 棘细胞为多边形, 胞核有切迹。胞质内含有丰富的粗面内质网、高尔基复合体、张力丝及类似角质颗粒样物质 (↑), 棘细胞之间可见郎格罕细胞及突起 (▲) [Ultrastructure of spinous cells. The spinous cells were polygonal. Their cytoplasm was filled with ribosomes, RER, tonofibrils and with few kerato-like granule (↑). There was Langerhans cell and its processes among the spinous cells (▲)] × 6 000
6. 电镜下毒液产生细胞为多边形, 胞核不规则, 位于细胞的中央或一侧。胞质内有密集排列的电子密度低的单层膜包分泌颗粒 (↑), 有的毒液产生细胞胞质内分泌颗粒少 (▲) [Electron micrograph of venom producing cells. The venom producing cells were polygonal, contained a centric or eccentric nucleus, and had a eosinophilic cytoplasm due to their richness in compact electron-lucent secretory granules (↑). Some of venom cells had a few secretory granules near the nucleus (▲)] × 6 000
7. 电镜下棘细胞内细胞器丰富及可见膜被颗粒 (↑)。毒液产生细胞的分泌颗粒内为细粒状物质 (|), 颗粒之间有丰富的游离核糖体 (▲), 并可见桥粒 (◆) [Electron micrograph of spinous and venom producing cells. There were many orangella and membrane-coating granules (↑) in spinous cell. There were fine granule-like materials in the secretory granules (|) and ribosomes among the secretory granules (▲). Desmosomes were observed (◆)] × 15 000
8. 在分泌颗粒少的毒液形成细胞内可见少量电子密度低的分泌颗粒贴近细胞核 (▲)。胞质有丰富的粗面内质网、高尔基复合体、线粒体, 并可见张力丝 (||)、膜被颗粒 (△)。相邻细胞之间有桥粒 (↑) [Electron micrograph of venom-producing cell with few secretory granules. These cells contained few electron-lucent secretory granules near the nucleus (▲) and many free ribosomes many ribosomes, RER, Golgi complex, tonofibril (||) and membrane-coating granules (△). There were desmosomes between adjacent cells (↑)] × 20 000

图 版 II (Plate II)

9. 近表层的毒液细胞较扁平, 可见分泌颗粒融合 (▲) 及大量线粒体 (↑)。表层细胞内分泌颗粒融合成空泡状 (|), 游离面侧的胞膜增厚呈角质样 (◆) [Electron micrograph of venom cells near the surface and superficial cells. There were fused secretory granules (▲) and many mitochondria (↑) in the venom cells near surface. In superficial cells the secretory granules fused into large vacuoles (|) and the cell membrane at the free surface was thickened and like keratin (◆)] × 6 000
10. 表层细胞增厚的胞膜内可见核糖体 (△), 近膜处可见膜被颗粒样物 (▲)、退化的线粒体 (↑) 及空泡样分泌颗粒 (◆) [U] trastructure of superficial cells. There were ribosomes in the thickened membrane (△) and membrane-coating granules (▲), degenerating mitochondria (↑) and vacuole-like secretory granules (◆) near the thickened membrane] × 40 000
11. 毒腺上皮内的黑色素细胞 (▲) [Electron micrograph of Melanocyte in the venom epithelium (▲)] × 12 000
12. 毒腺上皮内的郎格罕细胞, 可见细胞内的初级溶酶体 (↑)、次级溶酶体 (▲) 及伯贝克颗粒样物 (|) [Ultrastructure of Langerhans cell. There were primary lysosome (↑), secondary lysosome (▲) and Birbeck granule like materials (|)] × 25 000
13. 毒腺上皮内的梅克尔细胞, 可见胞体及突起内有类似肾上腺髓质细胞 (儿茶酚胺) 分泌颗粒样颗粒 (▲) [Ultrastructure of Merkel cell. There were many granules, similar to those present in catecholamine-containing cells in cytoplasm and processes (▲)] × 20 000



图版说明见文后(Explanation at the end of the text)



图版说明见文后(Explanation at the end of the text)