

DOI: 10.3969/j.issn.1000-7083.2011.02.031

## 稀有鮡鲫脑垂体组织学观察

刘小红<sup>1</sup>, 张耀光<sup>1</sup>, 谢碧文<sup>2</sup>, 王志坚<sup>1\*</sup>

(1. 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 水产科学重庆市市级重点实验室, 西南大学生命科学学院, 重庆 400715;

2. 内江师范学院生物学系, 四川内江 641112)

**摘要:**稀有鮡鲫 *Gobiocypris rarus* 是中国特有的小型淡水鱼类, 已成为重要的实验研究用动物。运用 AF、Mallory's 三色法染色, HE 对照, 观察了稀有鮡鲫脑垂体的组织学结构。稀有鮡鲫的脑垂体呈肾形, 由神经垂体和腺垂体组成, 整个垂体通过垂体柄与下丘脑相连。腺垂体分为垂体前外侧部 (RPD)、垂体中外侧部 (PPD) 和垂体中部 (PI) 3 部分。神经垂体及其分支深入腺垂体的各部分, 在 PI 中分布尤为丰富。脑垂体中血管丰富。

**关键词:**稀有鮡鲫; 脑垂体; 结构; 组织学

**中图分类号:** Q959.4; Q24 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2011)02-0198-04

### Histochemical Study on the Pituitary Structure in Rare Minnows (*Gobiocypris rarus*)

LIU Xiao-hong<sup>1</sup>, ZHANG Yao-guang<sup>1</sup>, XIE Bi-wen<sup>2</sup>, WANG Zhi-jian<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Aquatic Organism Reproduction and Development (Southwest University), Ministry of Education,

Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, Chongqing 400715, China; 2. Department of Life Science, Neijiang

Normal University, Neijiang, Sichuan Province 641112, China)

**Abstract:** Rare minnows (*Gobiocypris rarus*), a small freshwater fish endemic to China, are important trial animals nowadays. The structure of the rare minnow pituitary was observed histologically and histochemically, using Mallory's trichrome, AF staining, and controlled by HE staining. Shaped like a kidney, the pituitary was comprised of neurohypophysis and adenohypophysis, attaching to the hypothalamus by a pituitary stalk. Adenohypophysis was divided into three parts, the rostral pars distalis (RPD), proximal pars distalis (PPD) and pars intermedia (PI) according to distinct histochemical characteristics. The curved branches of the neurohypophysis were inserted into each part of the adenohypophysis, and were the most plentiful in PI. The blood vessels were rich in all parts of the pituitary.

**Key words:** *Gobiocypris rarus*; pituitary; structure; histology

稀有鮡鲫 *Gobiocypris rarus* 是我国特有的一种小型淡水鱼类, 与斑马鱼同属于鲤形目鲤科鲴亚科, 具有许多相似的有利于科学研究的生物学特征, 已被广泛应用于遗传学、环境科学、生态毒理学、分子生物学、鱼类病理学等多方面的研究(王铁辉等, 1994; 王剑伟, 1995, 1996; 童金苟等, 2003; 张小艳等, 2006, 2007; Ma *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2008a, 2008b, 2009a, 2009b)。国内对于鱼类脑垂体形态结构及发生的研究多集中于经济、药用价值较高的鱼类, 未见对稀有鮡鲫脑垂体结构的描述。本文运用组织学和组织化学方法, 研究了稀有鮡鲫脑垂体结构, 为稀有鮡鲫神经内分泌调节的深入研究提供资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

稀有鮡鲫性成熟个体采自四川省汉源县九襄镇清泉乡, 充氧带回实验室后在循环水玻璃水族箱 (50 cm × 35 m × 45 cm) 中饲养。养殖中模拟自然光周期, 室温控制在 25℃ ± 2℃。每天定时投喂两次, 8:00 投喂含水蚯蚓、小麦粉等成分的人工饲料, 18:00 投喂 1% NaCl 孵育的丰年虫。所有的实验操作都根据动物关怀标准, 尽量减少实验动物的数量和痛苦。

### 1.2 实验方法

实验鱼共 20 尾 (♀ 7, ♂ 13), 体长 (68.6 ± 5.16) mm, 体重 (4.28 ± 1.37) g。经乙醚麻醉后摘取整个

收稿日期: 2010-07-14 接受日期: 2010-08-29 基金项目: 教育部博士学科点专项科研基金项目 (No. 20070635001) 资助

作者简介: 刘小红 (1985 ~), 女, 硕士研究生, 研究方向: 资源动物学

\* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangzj1969@126.com, wangzj@swu.edu.cn

头部,去下颌,Bouin's 液固定 24 h,流水冲洗过夜,5% HNO<sub>3</sub> 脱钙 5 h 直到样品头盖骨软化,流水冲洗过夜,转移至 70% 酒精保存。实验时,取酒精保存的样品经梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片(厚度 6 μm),HE、醛品红(AF)、Mallory's 三色法染色(杜卓民,1998),Nikon 80i 研究显微照相系统观察、拍照,Image-Pro Plus 5.1 Chinese 软件测量,Excel 分析数据。

## 2 结果

### 2.1 垂体结构

稀有鮟鮟脑垂体为近肾形的实心腺体,位于下丘脑(hypothalamus)腹面的蝶骨窝内,通过垂体柄(pituitary stalk, PS)与下丘脑相连。脑垂体外包一层致密的结缔组织膜(CT)(封4,图版1, C<sub>2</sub>)。根据细胞的着色、形状、大小、排列方式等不同,稀有鮟鮟脑垂体可以分为腺垂体(adenohypophysis, AH)和神经垂体(neurohypophysis, NH)两部分,而腺垂体又明显分为垂体前外侧部(rostral pars distalis, RPD)、垂体中外侧部(proximal pars distalis, PPD)和垂体中间部(pars intermedia, PI)3部分。PPD 面积最大,RPD 次之,最小为 PI,所占腺垂体总面积比例分别为 58.65%、28.95% 和 12.4% 左右。神经垂体分支穿插于腺垂体的所有部分,但有主要的一束集中分布并偏向于腺垂体的背部,垂体柄开口靠近 RPD,属于前后型和背腹型垂体的过渡类型。分布于整个脑垂体中的血管及血细胞丰富(图版1, A<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>、C<sub>1</sub>)。

### 2.2 腺垂体的细胞类型

**2.2.1 RPD 的细胞类型** RPD 的激素生成细胞排列紧密,主要有两类,分别为 Mallory's 三色法呈紫红色的嗜酸性细胞(AC)和呈蓝色的嗜碱性细胞(BC)(图版1, B<sub>2</sub>),均呈 AF 阴性(图版1, C<sub>2</sub>)。前者形状多样,呈椭圆、长条、多角等形状,细胞大小长径为(3.73 ± 0.56) μm;后者多为圆形,细胞直径为(4.09 ± 0.67) μm。嗜酸性细胞多沿着神经垂体分布,并包围嗜碱性细胞。RPD 还有少量相对较大的未上色细胞(CC),胞质似一空泡(图版1, B<sub>2</sub>),细胞长径为(6.93 ± 1.50) μm,短径为(4.48 ± 0.59) μm。另外,靠近 PPD 区域也有少数个体较大、胞质被染成深蓝色的强嗜碱性细胞(IBC),长径为(6.99 ± 0.14) μm,短径为(5.74 ± 0.27) μm(图版1, B<sub>2</sub>)。

**2.2.2 PPD 的细胞类型** 根据 Mallory's 三色法染色结果,PPD 的激素生成细胞主要有 4 类,一类是呈

红色的嗜酸性细胞(APC),主要沿着神经垂体分支并成团分布,细胞形状多样,呈多角形、三角形、圆形等,直径约为(5.11 ± 0.66) μm。这些细胞之间的血细胞丰富,且血管有膨大现象。第二、三类是呈蓝色但含有嗜酸性颗粒的嗜碱性细胞(BPC<sub>1</sub>)以及含有嫌色颗粒的蓝色细胞(BPC<sub>2</sub>),细胞直径分别约为(6.57 ± 0.82) μm 和(6.08 ± 0.6) μm。这两类细胞彼此交叉混合并分布于垂体中外侧部的绝大部分,与第一类细胞没有交叉,在颜色上形成明显对比,细胞较大,细胞内含物颗粒多。第四类为呈浅蓝紫色细胞(LPC),细胞较小,散布于垂体中外侧部,细胞直径约为(3.81 ± 0.52) μm(图版1, B<sub>3</sub>)。沿神经垂体分支分布的第一类细胞为 AF 阴性,而与第一类细胞界限清晰的第二、三类细胞呈 AF 阳性,且有强阳性细胞(IAFPC)和弱阳性细胞(SAFPC)之分(图版1, C<sub>3</sub>)。实验中还发现用促黄体激素释放激素(LH-RH)进行人工催产后的稀有鮟鮟脑垂体 PPD 中的激素生成细胞具有明显的分泌颗粒排空现象(图版1, A<sub>3</sub>, GVC)。

**2.2.3 PI 的细胞类型** PI 细胞排列紧密,主要为 AF 阴性细胞,但也散布有少数较大的呈 AF 阳性的细胞。神经垂体在 PI 具有最为丰富的分支,为 AF 阳性神经纤维(AFPF)(图版1, C<sub>4</sub>)。Mallory's 三色法染色呈现出两种类型的细胞,红色的嗜酸性细胞(AC)和蓝色的嗜碱性细胞(BP),细胞的直径为(3.75 ± 0.54) μm 和(3.91 ± 0.42) μm(图版1, B<sub>4</sub>)。

### 2.3 神经垂体的结构

神经垂体由下丘脑发出的神经纤维束组成,通过垂体柄深入到腺垂体的各个部分。稀有鮟鮟的神经垂体发达,在脑垂体的正中矢状切片上,神经垂体占整个脑垂体面积的 41.7%,在非正中矢状切片上比例有所下降。在一无垂体柄的切片上,神经垂体及分支所占比例为 19.8%。垂体柄位于 PPD 区域,但靠近 RPD 端,由垂体柄发出的神经纤维分支深入到了腺垂体的各个区域,在 PI 中的神经垂体分支最为丰富,所占面积最大。在垂体的正中矢状切片上,神经垂体分支在 PI 中的面积高达 65.7%;在 RPD 中的面积占 22.05%;在 PPD 中的神经垂体分支最少,仅占 15.63%。位于 RPD 和 PPD 中的绝大部分神经纤维为 AF 阴性纤维(AFNF),而由下丘脑发走向 PI 的神经纤维束以及深入到 PI 中的神经垂体分支绝大部分属于 AF 阳性纤维(AFPF)(图版1, C<sub>1</sub>)。有一些空泡状细胞(NCC)位于神经垂体及分

支内(图版 1, C<sub>4</sub>)。垂体细胞可以分为纤维垂体细胞(fibular pituicyte, FPC)和颗粒垂体细胞(granular pituicyte, GPC),前者细胞长椭圆形,核纺锤形,核长径(6.67 ± 1.19) μm,短径(2.57 ± 0.61) μm;后者细胞数量较多,圆形,核椭圆形,核长径(6.15 ± 0.68) μm,短径(4.05 ± 0.56) μm(图版 1, A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>)。血管(BV)及血细胞(RBC)丰富,甚至还有膨大的血管(SBV)(图版 1, B<sub>3</sub>)。

### 3 讨论

#### 3.1 垂体内分泌细胞的类型

根据组织染色结合相关资料可以推断,分布于 RPD 中的紫红色细胞(Mallory's 三色法)为催乳素(PRL)细胞,蓝色的为促肾上腺皮质激素(ACTH)细胞。另外,大西洋比目鱼(Weltzien *et al.*, 2003)、南方鲇等(谢碧文, 2008)均在 RPD 中检测到有促性腺激素细胞的分布,因此分布于稀有鮟鮟 RPD 中的个体较大、在 Mallory's 三色法中呈强嗜碱性的细胞可能为促性腺激素细胞;而个体更大、胞质未上色、似一空泡的细胞可能是已经排出分泌颗粒的嗜碱性细胞。

PPD 中沿 NH 成团分布, Mallory's 三色法呈红色而 AF 染色呈阴性的细胞为生长激素(GH)细胞;由于一类促性腺激素(GTH I),即黄体生成素(LH)细胞分泌颗粒为嗜碱性,二类促性腺激素(GTH II),即卵泡刺激素(FSH)细胞分泌颗粒为嗜酸性(林浩然, 1998),所以 PPD 中 Mallory's 三色法染色显示的具有嗜酸性颗粒的蓝色细胞为 FSH 细胞。而另外一些细胞从组织学上就不能断定是性腺激素细胞还是促甲状腺激素(TSH)细胞。

较为早期的研究认为,大多数的硬骨鱼类的 PI 中只存在一种内分泌细胞,为促黑激素(MSH)细胞,如草鱼等(鲁双庆, 刘少军, 1996);后来又渐渐认为除了 MSH 细胞外,还存在另外一种内分泌细胞,有人认为是促性腺激素(GtH)细胞,如大黄鱼和赤点石斑鱼(方永强, 1999; 翁幼竹等, 2003);也有学者对于存在于 PI 中除 MSH 细胞外的另外一种内分泌细胞没有下定性结论,只表明为一种呈 PAS 阳性或对 PAS-MB 弱阳性反应的嗜酸性细胞,如鳊鱼和长吻鮠(叶华, 林浩然, 1998; 王晓清等, 2005);随着生长促乳素(SL)基因在鱼类脑垂体中的成功克隆和表达研究分析,发现其主要定位在硬骨鱼类脑垂体 PI 区域,如大西洋比目鱼 *Hippoglossus hippoglossus*

(Weltzien *et al.*, 2003)、南方鲇(谢碧文, 2008)、象鱼 *Arapaima gigas* (Borella *et al.*, 2009)等。本实验中,由于同一个体的稀有鮟鮟脑垂体的 PI 中存在明显小于 PPD 中的促性腺激素细胞的内分泌细胞,且已经成功从稀有鮟鮟脑垂体中克隆出 SL 基因的 cDNA 序列(待发表资料),因此分布于稀有鮟鮟 PI 中的蓝色细胞可能为 MSH 细胞,而红色的可能为 SL 细胞。

#### 3.2 垂体激素生成细胞和神经垂体的大小

稀有鮟鮟脑垂体激素生成细胞比大多数鱼类的相应细胞小,如鲇的垂体激素细胞直径最大达 15.6 μm,最小为 5.9 μm(方展强, 唐以杰, 2007),长吻鮠的垂体激素细胞长径最大为 17 μm,最小长径为 5.4 μm(王晓清等, 2005),但在一些个体较小的鱼类也发现其脑垂体激素细胞有变小的趋势,如体长在 100 mm 左右的贝氏高原鳅垂体激素细胞,直径最大的约为 6 μm,最小 4 μm(刘小红, 2007),体长在 60 ~ 80 mm 的日本海马的垂体激素生成细胞,直径最大的为 9 μm 左右,最小为 3 μm(张峰, 王国恩, 1992),稀有鮟鮟脑垂体激素生成细胞最小直径为 3.73 μm,最大直径不超过 8 μm。由于小型鱼类垂体体积小,细胞大小减小,细胞相对表面积相应增大,有利于提高物质的交换和运输,从而实现高效的神经-垂体-靶器官的内分泌调节轴的作用。但与大多数鱼类相似,在各种垂体激素细胞中,促性腺激素细胞最大。

稀有鮟鮟的神经垂体及其分支丰富,在正中矢状切片上,占整个脑垂体面积可高达 41.7%,这有利于更好实行下丘脑-垂体-靶器官的内分泌调控轴的作用,从而使稀有鮟鮟适应内外环境的变化。

#### 3.3 脑垂体毛细血管

稀有鮟鮟脑垂体内的毛细血管丰富,在 PPD 中存在膨大的血管,这有利于营养物质的供给以及内分泌颗粒输送到靶组织中。在象鱼脑垂体的神经垂体与垂体远侧部(pars distalis, PD)也发现有大量的毛细血管以及膨大血管,并且这些血管具有与下丘脑的神经细胞体和神经纤维一样的 GnRH 活性。因此,存在该种鱼中的血管丛被认为是值得研究的一个类似于高等脊椎动物中的垂体门脉系统结构(Borella *et al.*, 2009)。而稀有鮟鮟 PPD 中膨大的血管是否具有与象鱼相似的功能尚有待深入的研究。

#### 4 参考文献

- 杜卓民. 1998. 实用组织学技术第二版[M]. 北京: 人民卫生出版社.
- 方永强. 1999. 赤点石斑鱼脑垂体组织生理学的研究[J]. 台湾海峡, 9(3): 69~72, 图版.
- 方展强, 唐以杰. 2007. 鲇脑垂体的超微结构研究[J]. 电子显微学报, 26(3): 229~237.
- 林浩然. 1998. 鱼类生理学(第二版)[M]. 广州: 广东高等教育出版社: 155~197.
- 刘小红, 郭宇辉, 王宝森, 等. 2007. 嘉陵江下游白缘鱼央生殖力研究[J]. 淡水渔业, 37(2): 41~43.
- 鲁双庆, 刘少军. 1996. 草鱼性成熟前后垂体组织学和超微结构[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 19(3): 76~82.
- 童金苟, 俞小枚, 张菁, 等. 2003. 稀有鮡鲫与其他模式实验鱼类基因组大小的比较[J]. 水生生物学报, 27(2): 208~210.
- 王剑伟. 1995. 稀有鮡鲫对高浓度二氧化碳和低溶氧的急性反应[J]. 水生生物学报, 19(1): 84~85.
- 王剑伟. 1996. 稀有鮡鲫临界温度研究[J]. 四川动物, 15(4): 153~155.
- 王铁辉, 刘沛霖, 陈宏溪, 等. 1994. 稀有鮡鲫对草鱼出血病病毒敏感性的初步研究[J]. 水生生物学报, 18(2): 144~149.
- 王晓清, 莫艳秀, 文祝友, 等. 2005. 长吻鮠脑垂体的组织学观察[J]. 内陆水产, (8): 1~3.
- 翁幼竹, 方永强, 周晶, 等. 2003. 大黄鱼脑垂体组织学与免疫组织化学[J]. 中国水产科学, 10(1): 1~3, 图版.
- 谢碧文. 2008. 南方鲇 POMC、TSH 亚基和 SL cDNA 克隆及垂体激素基因的时空表达[D]. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.
- 叶华, 林浩然. 1998. 鳊鱼脑垂体的组织化学研究[J]. 宜宾师专学报(自然科学版), (2): 69~72.
- 张峰, 王国恩. 1992. 日本海马(*Hippocampus japonicus*)脑垂体的组织学观察[J]. 大连水产学院学报, 6(3-4): 28~34.
- 张小艳, 孙立伟, 查金苗, 等. 2007. 稀有鮡鲫鱼 Dmrt 基因家族 13 个成员的克隆与序列分析[J]. 生态毒理学报, 2(1): 88~93.
- 张小艳, 赵刚, 刘江东, 等. 2006. 稀有鮡鲫(Rare gudgeon) Sox 基因的克隆及序列分析[J]. 武汉大学学报(理学版), 52(2): 213~219.
- Borella MI, Venturieri R, Mancera JM. 2009. Immunocytochemical identification of adenohypophyseal cells in the pirarucu (*Arapaima gigas*), an Amazonian basal teleost[J]. Fish Physiol Biochem, 35(1): 3~16.
- Su J, Yang C, Zhu Z, et al. 2009a. Enhanced grass carp reovirus resistance of Mx-transgenic rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. Fish Shellfish Immunol, 26(6): 828~835.
- Su J, Zhu Z, Wang Y, et al. 2008b. Toll-like receptor 3 regulates Mx expression in rare minnow *Gobiocypris rarus* after viral infection[J]. Immunogenetics, 60(3-4): 195~205.
- Su J, Zhu Z, Wang Y, et al. 2009b. Isolation and characterization of Argonaute 2: a key gene of the RNA interference pathway in the rare minnow, *Gobiocypris rarus* [J]. Fish Shellfish Immunol, 26(1): 164~170.
- Su J, Zhu Z, Wang Y. 2008a. Molecular cloning, characterization and expression analysis of the PKZ gene in rare minnow *Gobiocypris rarus* [J]. Fish Shellfish Immunol, 25(1-2): 106~113.
- Weltzien FA, Norberg B, Helvik JV, et al. 2003. Identification and localization of eight distinct hormone-producing cell types in the pituitary of male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 134(2): 315~327.
- Ma T, Wang Z, Gong S. 2007. Comparative sensitivity in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) and Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) exposed to ethinylestradiol [J]. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng, 42(7): 889~894.