

# 黑斑蛙胃上皮细胞 紧密连接的冰冻蚀刻电镜观察

岳奎元

(中国科学院成都分院分析测试中心)

冰冻蚀刻技术能使细胞连接立体地显示出来，比用超薄切片技术或镧渗透法获得的结果更容易分析，而且更接近于生活状态，所以被广泛地用于研究动物、植物、微生物的细胞膜和细胞间的连接装置。

动物多细胞间保持一定的连接关系，细胞连接在维持机体的正常活动中起着重要作用。胃上皮细胞排列紧密，连接装置特别丰富，因此是研究紧密连接几何形状较好的材料。本文初步报道黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接的形态结构。

## 材 料 和 方 法

黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)采自成都平原。取样按常法进行。

实验前，用两栖类生理盐水将组织条洗1至2次后，置于30%的甘油两栖类生理盐水中浸泡约24小时进行防冻处理，以后按冰冻蚀刻常规操作进行。用日本电子光学公司(JEOL)生产的EE—FEB.D冰冻蚀刻装置，在 $7 \times 10^{-6}$ Torr、-130℃时，将样品“切”断，暴露出胃上皮细胞的内部结构，为使这些结构的立体感更加鲜明，使温度在1分钟内从-130℃上升到-100℃，蚀刻完毕，以45°角向蚀刻后的样品表面喷镀一层铂金，再以垂直的方向喷镀一层碳，用以加固复型膜。最后用次亚氯酸钠腐蚀掉组织，用蒸馏水清洗干净，将复型膜捞在带支持膜的铜网上，用JEM-100LX电子显微镜，在80KV的加速电压、光阑孔为60微米的条件下观察拍照。

## 观 察 结 果

黑斑蛙胃上皮细胞的紧密连接，分布在上皮细胞的侧缘近体腔端，索条构成带状网纹，带的边缘不够整齐。在紧密连接区，索条在一定范围内形成近似平行线状的排列，这些平行线又互相连接形成网纹(图1)。有的区域，一些平行线表现出波纹状，有的区域索条出现纵向分布，形成零乱的网纹。一些区域紧密连接的索条斜向排列，构成一些近似棱形状的网纹，或者形成一些不规则的网纹，这些网纹排列密集(图2)。另一些区域紧密连接的索条任意走向，排列紧密，构成形状不规则的网纹，网格的形状多样，单个网格的面积大小差别较大(图3)。索条的分布，一些区域密集，一些区域较为稀疏(图3)。

在紧密连接的内侧，有的索条向内伸出，形成游离的索条末端，但数量较少，伸

出的游离部分较短(图1—3)，大部分为单根，双根只在图3中看到一处。未见到树状分叉，在深部未见到游离的末端或单根索条。

紧密连接带状区索条的数目为 $10.35 \pm 1.24$ (mean  $\pm$  SD)，(测定91区，n=969)。紧密连接带的宽度为 $0.72 \pm 0.06$ 微米。

细胞质膜清楚地被劈裂为PF面和EF面，PF面膜内镶嵌蛋白颗粒丰富，EF面镶嵌蛋白颗粒稀少(图1、3)。构成紧密连接的索条，在细胞质膜的PF面表现为突起的脊状(图1)，在EF面上，索条则表现为凹下的浅沟(图3)。大部分索条都可看出有一定的走向，而且多由长线状索条构成网纹，短线状索条较少。

## 讨 论

紧密连接是阻挡大分子物质经由上皮细胞间隙穿过上皮层的一道屏障，它决定着细胞间的物质，例如组织液、消化液等能否渗透通过。它使细胞维持一个与外界环境不同的内部环境。由于胃上皮细胞排列紧密，故紧密连接结构特别典型。紧密连接的索条是由两列紧密结合的完整的膜内蛋白颗粒组成的，由相邻的细胞质膜各出一列，这两列膜蛋白颗粒象拉链一样，头顶头地联结在一起，使两层膜如此地靠近，以致使细胞的间隙都被封粘了，于是颗粒便形成了索条。黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接的索条构成排列密集网纹，从结构上看，是能够完成屏障作用这一生理功能的。

随着组织的不同，紧密连接索条数目和宽度均有差别。见表。

表 不同组织细胞间紧密连接的索条数目及宽度

紧密连接的细胞	索条数	连接带的宽度(微米)
鱼鳃上皮氯细胞	2—4	0.12—0.18
氯细胞与通道细胞	5—7	0.20—0.52
通道细胞	5—9	0.27—0.69
草绿龙晰胃上皮细胞	$12.19 \pm 1.87$	0.57—0.74
东北中国林蛙胃上皮细胞	$8.60 \pm 0.14$	$0.72 \pm 0.08$
四川中国林蛙胃上皮细胞	$12.06 \pm 1.93$	$0.60 \pm 0.13$
黑斑蛙胃上皮细胞	$10.35 \pm 1.24$	$0.72 \pm 0.06$

由于紧密连接的索条是一个渗透屏障，索条数目越多，它的屏障能力应越强。表皮对穿过的离子的阻抗与细胞紧密连接的索条数目有明显的关系(L.A.Staehelin和B.E.Hull, 1978)，例如，肾的近侧小管，紧密连接只有1、2条索条，它对离子的阻抗较小；膀胱有6条以上的索条，对离子的阻抗就较强，在上皮两边便形成较大的离子浓度梯度。黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接的索条数目为 $10.34 \pm 1.24$ ，应有较强的阻抗能力。

不同组织紧密连接索条构成不同密度的网纹，这种网纹的交联数量，似乎能决定网纹对应力的反应程度，就象编织物的延伸性取决于编织网眼的紧密程度一样。黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接不规则的网纹适应于胃中食物压力的变化，亦不会引起生理功能的变化。

Hull B.E.和L.A.Staehelin(1976)也指出，紧密连接索条的网纹结构是适

应于压力变化的，但是，胃中食物的种类，例如由草食变成肉食，则不会影响紧密连接网纹的几何形状。

黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接的内侧，虽然也形成了一些游离的索条末端，但数量少而且短，这是否可以说此时组织处于比较稳定的状态。有人认为，游离末端可能是紧密连接正处在形成或正在消失的状态，但还有待证明。

## 参 考 文 献

- 岳奎元等 1983 蟾蜍小肠及肝细胞的冰冻蚀刻电镜观察。两栖爬行动物学报。 2(2) : 23—28 .
- 岳奎元等 1983 弥猴桃愈伤组织的冰冻蚀刻电镜观察。植物生理学通讯。(3) : 33—36.
- 曾弥白等 1982 有尾类原肠形成过程中外胚层的细胞连接。实验生物学报。15(2) : 219—232 .
- 岳奎元等 1982 生物样品冰冻蚀刻技术简介。植物生理学通讯。(4) : 55—58.
- Tetsuk Kawahara et al . 1982 Junction in chloride and pavement cell of oplegnethus fasclatus . J . Electron Microscopy , 31(2) : 162—170 .
- Shehelin L . A . & B . E . Hull 1978 Junctions between "ving cell . Scientific American , 238(5) : 141—152 .
- Barbara E . Hull & L . A . Staehelin 1976 Functional significance of the variations in the geometrical organization of tight junction networks . J . Cell Biology , 68 : 688—704 .



### 图片说明

图1 . 黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接,索条多呈波纹状排列。细胞质膜被劈裂为PF面和EF面,界线清晰。PF面蛋白颗粒丰富,EF面蛋白颗粒稀少。(× 21700) .

图2 . 黑斑蛙胃上皮细胞紧密连接,索条构成近似的菱形或不规则的网纹。(× 28400) .

图3 . 紧密连接索条构成不规则的网纹,排列密集。索条在PF面上为突起的脊状,在EF面上为凹下的浅沟。(× 31100) .