

山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的组织结构观察

李正平,李鹏成,杨倩*

(南京农业大学农业部动物生理生化重点开放实验室,南京 210095)

摘要: 选取健康 10 月龄奶山羊 10 头,断头宰杀后取咽扁桃体和咽鼓管扁桃体,应用组织学光镜和电镜制片技术研究咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的显微和亚显微组织结构。结果表明:山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的黏膜上皮主要由 2~3 层多边形上皮细胞组成,部分区域只有单层扁平细胞,相邻上皮细胞间空隙很大,上皮细胞表面有丰富的微绒毛。上皮细胞之间和黏膜上皮下方固有层内有大量淋巴细胞浸润。扁桃体的实质部分由数个次级淋巴小结和弥散淋巴组织构成,弥散淋巴组织中有大量分布的淋巴管和毛细血管后微静脉。此外,在紧贴黏膜上皮细胞下方的固有层和淋巴滤泡中可观察到少量的树突状细胞。结果提示山羊的咽扁桃体和咽鼓管扁桃体可作为鼻腔免疫的主要诱导位点和效应部位。

关键词: 山羊;扁桃体;淋巴细胞;鼻腔免疫

中图分类号:S852.16

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2012)01-0133-05

Histological and Ultrastructural Observation on the Pharyngeal Tonsil and the Tubal Tonsil of Goat

LI Zheng-ping, LI Peng-cheng, YANG Qian*

(Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The healthy goats aged 10 months were used to study the histology and ultrastructure of the pharyngeal tonsil and the tubal tonsil of goat by using histological and electron microscopy techniques. The results showed that the stratified squamous epithelium covering the tonsils was lesser, even some areas were covered by simple epithelium, and the intercellular junction of the epithelium was looser. There were many microvilli on the surface of the epithelial cells. Underneath the epithelium and in lamina propria were frequently infiltrated heavily by lymphocytes. The lamina propria consisted of scattered lymph nodules, aggregations of lymphocytes and diffuse lymphoid tissue, while a large distribution of lymphatic and high endothelial venules (HEVs) could be found in the diffuse lymphoid tissue. Furthermore, some dendritic cells (DCs) could be observed underneath the epithelium or in the lymphoid follicles. Our results indicated that the pharyngeal tonsil and the tubal tonsil could be used as an effective induction site or effective site of intranasal immunity in goat.

Key words: goat; tonsil; lymphocytes; intranasal immunity

鼻腔相关淋巴组织(Nasal-associated lymphoid tissue, NALT)由位于鼻咽通道黏膜内特殊的淋巴样组织(扁桃体)构成,是鼻腔黏膜防御病原微生物进

入机体的第一道屏障。一些动物的鼻腔相关淋巴组织结构已得到深入研究^[1-2]。Cocquyt 等^[3]曾对羊的扁桃体进行了初步研究,发现羊鼻咽通道分布有

收稿日期:2011-05-01

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30871858);教育部博士点基金(B200606);江苏省支撑计划(BE200830155)

作者简介:李正平(1986-),女,重庆人,硕士研究生,主要从事动物黏膜免疫和分子免疫学研究,E-mail: lizp1986@163.com

* 通讯作者:杨倩,教授,博士,E-mail: zxybyq@njau.edu.cn

2 个扁桃体:咽扁桃体和咽鼓管扁桃体,其结构主要由大量淋巴小结组成。但有关山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的上皮细胞结构、扁桃体内的细胞类型及其亚显微结构目前尚未见报道。

随着我国养羊业的发展壮大,由呼吸道引起的羊传染病发生得也越来越频繁。鼻腔免疫可直接切断病原微生物的传播途径,并且鼻腔免疫在诱导黏膜局部中和抗体产生的同时,还能引起全身性的免疫保护作用^[4]。鼻腔免疫的结构基础是呼吸道黏膜下的淋巴组织,尤其是鼻咽通道的扁桃体在其中起着至关重要的作用。本研究主要通过组织学光镜和电镜技术观察山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的显微和亚微结构,探讨其与鼻腔黏膜免疫功能之间的关系,以丰富鼻腔免疫的基础理论,为鼻腔免疫在预防山羊呼吸道疾病方面提供形态学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及取材

由徐州丰县羊场提供健康 4 月龄奶山羊 10 头,常规饲养管理,饲养至 10 月龄、体质量 50~60 kg 时供试验用。对试验山羊采取电击后断头宰杀,将羊的头部沿寰椎和躯体断开。屠宰后迅速取咽扁桃体、咽鼓管扁桃体各 6 块,分别用于组织学光镜和电镜观察研究。

试验使用的主要仪器设备包括:组织切片机(LEICA, RM2015 型),光学显微镜(Olympus, BH-2 型),透射电子显微镜(TEM, JEM-2200FS 型)。主要试剂包括:饱和苦味酸(100402, 西陇化工有限公司),甲醛(081118, 上海凌峰化学试剂有限公司),冰醋酸(T20091120, 国药集团化学试剂有限公司),戊二醛溶液(T20090710, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 组织切片制作与染色

用于组织学光镜研究的样品置于 Bouin 氏液中固定 3 d,按常规组织学方法制备石蜡切片,进行常规 HE 染色,二甲苯透明,中性树胶封片。应用 Olympus 显微镜观察并拍照。

1.3 电镜样品的制备

对用于电镜观察的 3 块组织进行修整,将靠近黏膜面的组织修成 1 mm³ 的组织块,置于 2.5% 戊二醛固定液中,1% 四氧化锇后固定,常规电镜制片技术处理,Epon812 环氧树脂包埋。半薄切片用甲苯胺蓝、硫堇、次甲基蓝、焦油紫混合染液染色后,选出所取组织的黏膜面。超薄切片用醋酸双氧铀一柠檬

檬酸铅双重染色。JEM-100CX II 型透射电镜观察并拍照。

2 结果

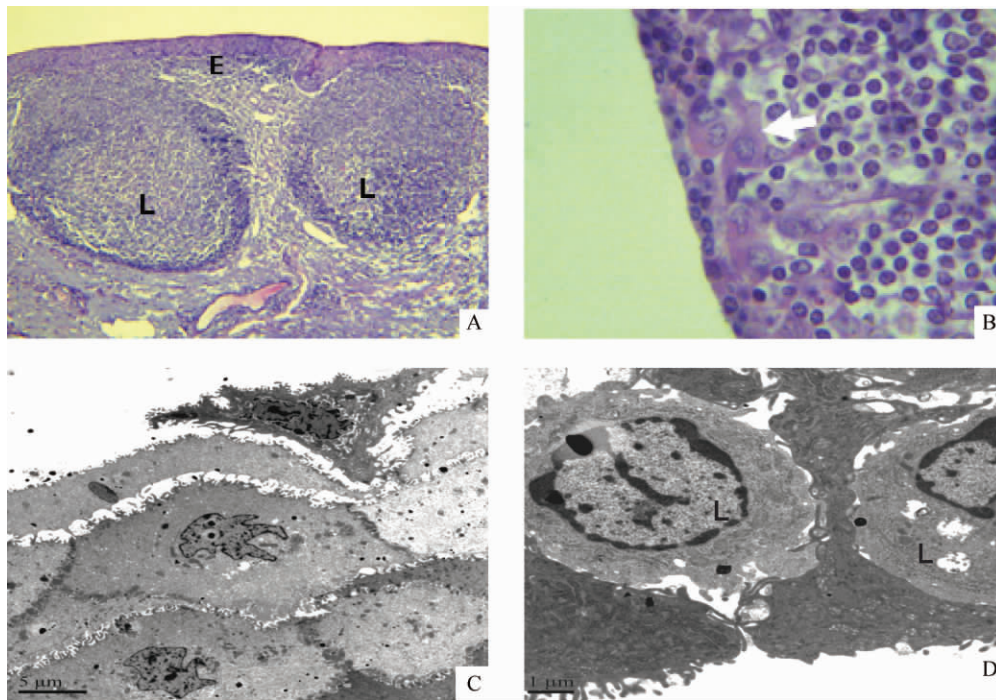
2.1 山羊咽扁桃体的组织结构

2.1.1 咽扁桃体的显微结构 咽扁桃体位于鼻咽的顶部,表面略微隆起,突向鼻咽腔,扁桃体的上皮表面粗糙不平,上皮向下凹陷形成许多隐窝。咽扁桃体很大,其主体部大概为 2.5 cm 的圆形区域。周围鼻黏膜上皮主要由假复层纤毛柱状上皮组成。咽扁桃体的黏膜上皮主要由 2~3 层不规则的多边形细胞组成,部分区域只有一层很薄的扁平上皮细胞。上皮细胞表面有丰富的微绒毛。紧贴黏膜上皮下方有大量的淋巴细胞浸润,在黏膜上皮细胞之间也有上皮内淋巴细胞浸润。扁桃体实质内的淋巴小结大小不一,单位视野内淋巴小结的数目有 8~13 个,部分区域淋巴小结直接与上皮相连。淋巴小结生发中心清晰可见,生发中心朝向黏膜上皮面(图 1A)。淋巴小结之间的弥散淋巴组织中可见大量分布的淋巴管和散在分布的毛细血管后微静脉。在部分区域紧贴黏膜上皮细胞下方分布有一些树突状细胞,细胞体积较大,嗜酸性较强,具有许多树突状或伪足样突起,一些突起伸到上皮细胞之间(图 1B)。

2.1.2 咽扁桃体的亚微结构 电镜观察显示,咽扁桃体黏膜上皮细胞形态不一,有柱状的、有扁平的或是多边形的。部分区域黏膜上皮的腔面可以观察到脱离上皮的细胞,有的是淋巴细胞。相邻上皮细胞间连接松散,细胞之间的空隙有 1~2 μm(图 1C),有的上皮细胞游离面有微绒毛的分布。黏膜上皮细胞之间分布有上皮内淋巴细胞,有的是浆细胞,有的是嗜酸性粒细胞,上皮内淋巴细胞与上皮细胞之间有约 1 μm 的间隙(图 1D)。咽扁桃体实质内的细胞主要由网状细胞、淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞组成。此外,在弥散淋巴组织中可以观察到一些散在分布的毛细血管后微静脉,其上皮为单层立方上皮。

2.2 山羊咽鼓管扁桃体的组织结构

2.2.1 咽鼓管扁桃体的显微结构 咽鼓管扁桃体位于咽鼓管和鼻咽通道交界处的周围,在咽鼓管开口处,组织隆起,形似火山。咽鼓管扁桃体很小,其主体部大致为 6~12 mm 的圆形区域,同时部分还向咽扁桃体延伸甚至交汇。咽鼓管扁桃体的上皮和咽扁桃体类似,为细胞层数较少的复层上皮。上



A. 咽扁桃体的组织结构(HE,400×),E 示黏膜上皮,L 示淋巴小结;B. 咽扁桃体黏膜上皮下方的树突状细胞(HE, 1 000×),箭头所指为树突状细胞;C. 咽扁桃体黏膜上皮(5 000×);D. 咽扁桃体上皮细胞间的浆细胞(5 000×),L 示浆细胞

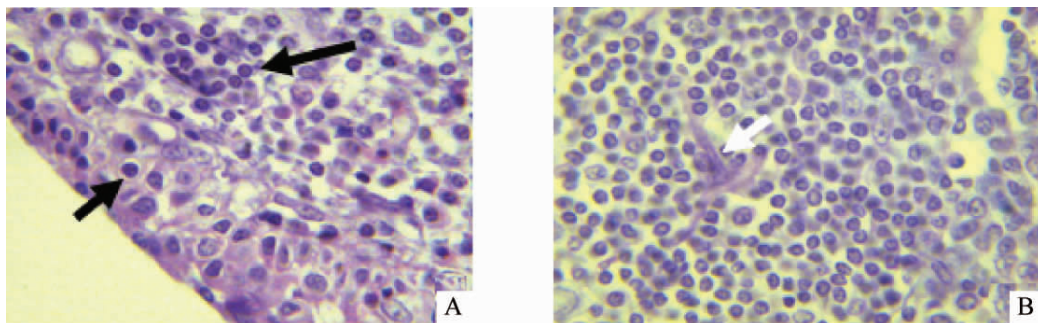
A. Histological section of pharyngeal tonsil (HE, 400×), epithelium of tonsil (E) and Lymph nodules (L) are showed; B. Dendritic cell (arrow) underneath the epithelium of pharyngeal tonsil (HE,1000×); C. The epithelium of pharyngeal tonsil (5 000×);D. The plasma cells (L) between the epithelium (5 000×)

图 1 山羊咽扁桃体的组织结构

Fig. 1 Histological structures of the goat pharyngeal tonsil

皮细胞间和上皮下方的固有层内有大量淋巴细胞浸润(图 2A)。扁桃体实质部分主要由次级淋巴小结和弥散淋巴组织构成,单位视野内淋巴小结的数目为 6~8 个。淋巴小结间的弥散淋巴组织以网状纤

维和网状细胞作为骨架,内部充满了淋巴细胞,其间分布着较多的淋巴管和毛细血管后微静脉;另有一些散在分布的树突状细胞,细胞体积较大,具有树突状或伪足样突起(图 2B)。



A. 咽鼓管扁桃体黏膜上皮(HE,400×),黑色箭头所指为淋巴细胞;B. 淋巴滤泡中的树突状细胞(HE,1 000×),白色箭头所指为树突状细胞

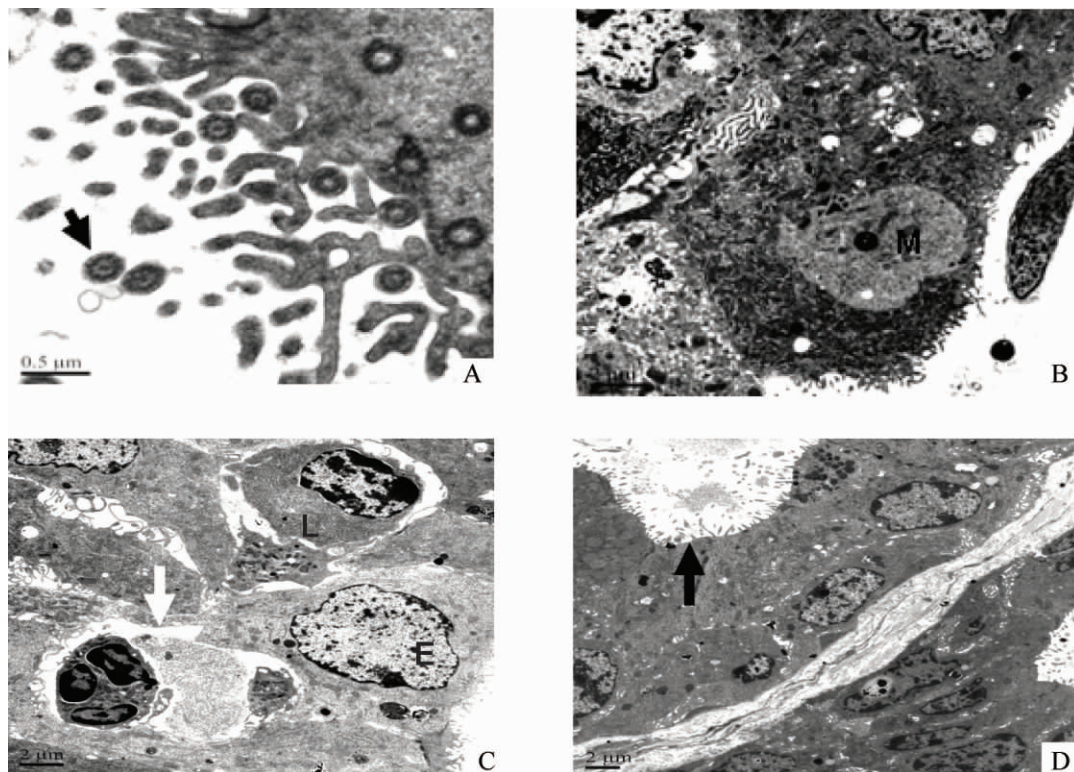
A. The epithelium of tubal tonsil (HE, 400×), black arrow showed the lymphocyte; B. Dendritic cells in the lymphoid follicles (HE, 1000×), white arrow showed the dendritic cells

图 2 山羊咽鼓管扁桃体的组织结构

Fig. 2 Histological structures of the goat tubal tonsil

2.2.2 咽鼓管扁桃体的亚微结构 电镜观察显示,咽鼓管扁桃体相邻上皮细胞之间连接松散,细胞间空隙有 $1\sim 2\ \mu\text{m}$,有的上皮细胞游离面分布有许多纤毛(图 3A)。上皮细胞之间分布有极少量 M 细胞,细胞核淡染,核仁较小,细胞质内有丰富的颗粒,其表面有不规则排列的微绒毛,紧贴 M 细胞下方有

淋巴细胞(图 3B);黏膜上皮细胞之间的上皮内淋巴细胞有的是浆细胞,有的是嗜酸性粒细胞(图 3C);在弥散淋巴组织中有数量较多的毛细血管后微静脉,其上皮为单层立方上皮,毛细血管后微静脉游离面有少量的微绒毛(图 3D)。



A. 咽鼓管扁桃体上皮细胞表面的纤毛(25 000 \times),黑色箭头示一根纤毛的横断面;B. 咽鼓管扁桃体上皮表面的 M 细胞(5 000 \times);C. 咽鼓管扁桃体黏膜上皮细胞间的浆细胞和嗜酸性粒细胞(5 000 \times), E 上皮细胞;L 浆细胞;箭头所指为嗜酸性粒细胞;D. 毛细血管后微静脉(3 000 \times),黑色箭头所指为游离面

A. Cilium covering the epithelium of tubal tonsil (25 000 \times), black arrow showed the cilium; B. M cell on the surface of the epithelium of tubal tonsil (5 000 \times); C. The plasma cell (L) and eosinophil (arrow) intra the epithelium (E) of tubal tonsil (5 000 \times); D. High endothelial venules (HEVs) (3 000 \times), black arrow showed the free surface of the HEVs

图 3 山羊咽鼓管扁桃体的超微组织结构

Fig. 3 Ultra structure of the goat tubal tonsil

3 讨论

鼻腔是上呼吸道的主要门户,鼻腔中咽扁桃体和咽鼓管扁桃体内分布的大量淋巴组织对防止病原微生物的入侵和呼吸道免疫至关重要。本研究发现,山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体中大部分淋巴小结都具有生发中心,后者朝向黏膜上皮面,表明鼻腔中经常有病原微生物的存在。与猪和其它动物不同的是,羊属于反刍动物,如果采取消化道免疫,抗原不仅容易受到真胃内酸性环境的影响和酶的降解,

还会受到瘤胃内发酵的影响而引起结构的破坏,因此羊的鼻腔免疫越来越受到关注。

鼻腔免疫的第一步是疫苗经过鼻腔黏膜上皮进入下面的淋巴组织中,灭活病毒、亚单位苗或弱毒苗等首先需在上皮内繁殖后再呈递给淋巴细胞,所以鼻腔免疫的关键是上皮细胞的结构。本研究发现,山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的黏膜上皮层次较少,部分区域只有 1 层扁平上皮细胞,细胞表面有较多的微绒毛,相邻上皮细胞间空隙很大,与猪的鼻腔扁桃体很相似^[2],这些结构特点有利于抗原的捕获

和吸收。已有研究表明,咽鼓管扁桃体具有主动向外界转运抗原的功能,是鼻腔免疫的重要诱导位点和效应部位^[5-6]。

毛细血管后微静脉是淋巴细胞由血液进入淋巴组织的唯一通道,使淋巴细胞在体内不断循环,有利于识别和清除抗原,使全身的淋巴组织相互沟通协作,并构成了完整的免疫系统^[7]。山羊鼻腔扁桃体的弥散淋巴组织中有许多毛细血管后微静脉,表明局部的抗原刺激可吸引全身的淋巴细胞经过大量毛细血管后微静脉进入鼻腔相关扁桃体,参与免疫反应。弥散淋巴组织中大量的淋巴管又可收集局部的淋巴进入附近的淋巴结,然后参与全身的淋巴循环,所以抗原在鼻腔相关扁桃体吸收后能很快进入全身的淋巴循环,启动全身的免疫应答。

本研究还发现在紧贴扁桃体黏膜上皮下方的固有层内和淋巴滤泡中有少量树突状细胞。树突状细胞是体内功能最强的专职性抗原呈递细胞。它通过伸出伪足穿越上皮细胞之间的连接摄取外界抗原,对抗原进行加工处理后迁移到附近的淋巴结,呈递抗原信息给淋巴细胞,进而诱导免疫反应^[8]。Fukuiwa 等研究发现鼻腔相关淋巴组织中的树突状细胞在诱导抗原特异的黏膜免疫和系统免疫中发挥着重要的作用^[9],它一方面可以激活淋巴组织中未分化的 T 细胞转化为成熟的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞,诱导细胞免疫;另一方面可以将抗原信息直接呈递给 B 细胞,诱导体液免疫。

综上所述,山羊咽扁桃体和咽鼓管扁桃体的显微和亚微结构特点,有利于抗原的吸收和诱导局部免疫反应,研究结果为鼻腔免疫在防治羊呼吸道相关疾病等方面的应用提供了一定的理论参考。

参考文献:

- [1] KUMAR P, TIMONEY J F. Histology, immunohistochemistry and ultrastructure of the equine tubal tonsil[J]. *Anat Histol Embryol*, 2005, 34:141-148.
- [2] 刘志学,杨 倩. 猪扁桃体的解剖学及组织学研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(7):1074-1081.
- [3] COCQUYT G, BATEN T, SIMOENS P, et al. Anatomical localization and histology of the ovine tonsils [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2005, 107:79-86.
- [4] ZUERCHER A W. Upper respiratory tract immunity [J]. *Viral Immunol*, 2003, 16(3):279-289.
- [5] SUZUMOTO M, HOTOMI M, FUJIHARA K, et al. Functions of tonsils in the mucosal immune system of the upper respiratory tract using a novel animal model, *Suncus murinus* [J]. *Acta Otolaryngol*, 2006, 126:1164-1170.
- [6] LESMEISTER M J, BOTHWELL M R, MISFELDT M L, et al. Toll-like receptor expression in the human nasopharyngeal Tonsil (adenoid) and palatine tonsil; a preliminary report [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2006, 70:987-992.
- [7] MATSUTANI T, TANAKA T, TOHYA K, et al. Plasmacytoid dendritic cells employ multiple cell adhesion molecules sequentially to interact with high endothelial venule cells-molecular basis of their trafficking to lymph nodes [J]. *Int Immunol*, 2007, 19(9): 1031-1037.
- [8] CALDER C J, LIVERSIDGE J, DICK A D. Murine respiratory tract dendritic cells: isolation, phenotyping and functional studies [J]. *J Immunol Methods*, 2004, 287(1-2):67-77.
- [9] FUKUIWA T, SEKINE S, KOBAYASHI R, et al. A combination of Flt3 ligand cDNA and CpG ODN as nasal adjuvant elicits NALT dendritic cells for prolonged mucosal immunity [J]. *Vaccine*, 2008, 26(37):4849-4859.
- [10] UENO H, KLECHEVSKY E, SCHMITT N, et al. Targeting human dendritic cell subsets for improved vaccines [J]. *Semin Immunol*, 2011, 23:21-27.
- [11] BAILEY M. The mucosal immune system: Recent developments and future directions in the pig [J]. *Dev Comp Immunol*, 2009, 33:375-383.
- [12] MCNEILLY T N, MCCLURE S J. Mucosal immunity in sheep and complications for mucosal vaccine development [J]. *Small Ruminant Res*, 2008, 76: 83-91.

(编辑 白永平)