

苏氏鲢鲙肝脏的超微结构

方展强¹, 郑文彪¹, 符路娣^{1,2}

(1. 华南师范大学 生命科学学院, 广东 广州 510631; 2. 广州中医药大学实验动物中心, 广东 广州 510405)

摘要:以透射电镜观察4月龄、体长12~16 cm、体重16~25 g的苏氏鲢鲙(*Pangasius sutchi*)的肝脏组织。结果表明,苏氏鲢鲙肝细胞存在双态现象。根据胞质内电子密度不同,鲢鲙肝细胞可以区分“淡”细胞和“暗”细胞2种类型,越冬前“淡”细胞占优势,越冬后“暗”细胞数量增加。鲢鲙肝细胞与周边细胞之间存在有3种不同的联系状态:相邻肝细胞间以桥粒结构连接;与血窦的间接连接;与胆小管邻接,显示了肝脏具有内分泌腺和外分泌腺功能的特点。本文还比较了越冬前后肝细胞中细胞器和内含物种类和数量变化特点及生物学意义,认为鲢鲙越冬前贮备足够的糖原对于顺利越冬有积极意义。

关键词:苏氏鲢鲙;肝脏;超微结构

中图分类号:Q959.499

文献标识码:A

文章编号:1005-8737(2002)04-0296-04

苏氏鲢鲙(*Pangasius sutchi*)原产东南亚,从泰国引进广东后已成为广州市重要商品鱼^[1]。由于鲢鲙为热带性鱼类,对低温耐受力差,在广州地区当池塘水温低于12℃较长时间时则会出现死亡现象,造成渔业损失。动物受寒冷与饥饿等因素刺激时,可导致体内物质代谢变化,并造成机体损害^[2]。有关鲢鲙肝脏组织结构和生理学方面的研究尚未见报道。本文描述及比较了越冬前后苏氏鲢鲙肝脏超微结构变化的特点,对深入了解热带性鱼类在进入温带地区越冬前后其生理机能变化尤其是肝脏功能状况,对丰富鱼类生物学基础理论以及对渔业生产中优良品种的引进和人工繁殖生产实践具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

苏氏鲢鲙幼鱼由华南师范大学鱼类研究室人工繁殖、孵化,4个月龄,体长12~16 cm,体重16~25 g,共128尾,于1998年10月中旬,常温(24~26

℃)下将实验鱼置于水泥池中饲养,正常投食。进入越冬期间,停止喂食,并加盖塑料薄膜保温(16~18℃)。分别于1998年11月中旬(越冬前期)和1999年1月中旬(越冬期)于试验养殖池中随机取实验鱼20尾。

1.2 肝脏的组织切片和透射电镜样品制备

捞取活鱼,迅速切头,剖开腹部,取出肝脏组织,部分组织用Bouin氏液固定,石蜡包埋,切片厚度5~6 μm, H-E染色,用以观察肝组织的一般结构。电镜制片材料切成1 mm³小块,用4%戊二醛作前固定,磷酸缓冲液冲洗,再用1%锇酸固定,按常规系列各级酒精脱水, Epon 812包埋,超薄切片,醋酸铀和柠檬酸铅染色,日产JEW-1010透射电镜观察拍照。

2 结果 (图版见附页3~4)

2.1 肝脏组织结构

鲢鲙肝脏为实心腺体,位腹腔前部食道腹面,分左右2叶,左右叶又有不明显的2级分叶,胆囊位于肝右叶基部。肝脏表面有1层结缔组织被膜,结缔组织伸入肝实质内,将肝脏分隔为众多肝小叶(hepatic lobule),肝小叶由许多排列紧密、互相挤压的肝细胞(hepatocyte)构成,以中央静脉(central vein)为中心,形成放射状排列的肝板(liver plate)结构(图版

收稿日期:2002-03-11.

基金项目:广东省科委科技攻关项目(2KB05402N).

作者简介:方展强(1953-),男,副教授,主要从事鱼类繁殖生物学研究. Tel: 020-85211602; E-mail:fangzhq@sclu.edu.cn

- 1)。肝小叶为肝脏的功能单位,胆小管(bile canaliculus)、肝血窦(hepatic sinusoid)、门静脉和肝动脉等结构则分布在肝小叶之间。

2.2 肝小叶超微结构

2.2.1 肝细胞 卵圆形,胞径 $12 \sim 20 \mu\text{m}$;核圆形,核径 $4 \sim 5 \mu\text{m}$,双层核膜清晰,可见核孔;核膜内缘形成一圈染色深的物质,为核纤层(nuclear lamina);核仁(nucleolus)位核中央,大而清晰,与核内异染色质(heterochromatin)有密切联系,在外围形成核仁相伴随染色质(nucleolus-associated chromatin)(图版 - 2)。肝细胞胞质内含丰富的细胞器及内含物。数量众多的线粒体(mitochondrion)大小不一,呈圆球形或长椭圆形杆状,内嵴呈短管状,排列规则(图版 - 3)。线粒体在胞质内的分布明显偏向血窦及胆小管(图版 - 4)。粗面内质网(rough endoplasmic reticulum)呈片层状排列,膜上附着大量核糖核蛋白体颗粒(ribosome)。游离的囊泡状粗面内质网,囊内含少量中等致密度的物质,但滑面内质网(smooth endoplasmic reticulum)较少见(图版 - 5)。胞质内含有许多脂滴颗粒(lipid droplet),直径为 $0.5 \sim 4.5 \mu\text{m}$,一些肝细胞中数量多达数十个,并有囊泡化现象(图版 - 5)。肝细胞内含有 $1 \sim 3$ 个溶酶体(lysosomes),可见次级溶酶体形成的一些残骸(图版 - 4)。高尔基复合体(golgi complex)由数个扁平囊构成,较难发现。胞质内还含有众多糖元颗粒(glycogen),以形式出现,糖颗粒成簇状存在(图版 - 3)。肝细胞之间以桥粒(desmosomes)结构连接(图版 - 5)。

苏氏鲮鲮肝细胞存在双态现象(dimorphism),根据胞质内呈现的电子密度高低,在电镜图上可区别2种形态不同的肝细胞类型,即“暗”细胞(dark cells)和“淡”细胞(light cells)。“暗”细胞数量少,胞质内电子密度特别高;“淡”细胞在肝小叶中占优势,其数量多,2类细胞胞质内细胞器及内含物类似(图版 - 1)。

2.2.2 胆小管 一般由 $2 \sim 3$ 个肝细胞围成,相邻的肝细胞质膜凹陷构成管腔窄小的胆小管,肝细胞表面突起形成众多微绒毛(microvilli)并浸润于管腔中。构成胆小管的肝细胞之间由桥粒结构封闭胆小管(图版 - 4)。

2.2.3 肝血窦 分布在肝细胞索之间呈不规则管状,是肝小叶内血液流通的管道,在肝组织内形成网状结构(图版 - 4)。鲮鲮肝血窦腔较宽,腔内充满

大量红血细胞。血窦壁由扁平的内皮细胞(endothelial cells)构成,内皮细胞具胞核部分较厚,其余胞质薄,电镜下可见大小不一的胞质小孔,称膜孔(fenestra),小孔无隔膜(图版 - 2)。血窦壁有成纤维细胞(fibroblast)分布,其胞质内有大量的胶原纤维,它们结合在一起共同构成保护肝组织表面和肝血窦的结构(图版 - 4)。此外可见枯氏细胞(Kupfer's cells)(图版 - 4),胞体以其突起与窦壁相连,这种细胞被认为是体内单核吞噬细胞系统的组成部分。肝细胞与肝血窦内皮细胞之间的间隙,为狄氏窦(Disse's space)(图版 - 2)。肝细胞表面突起形成许多长短不一的微绒毛游离于狄氏窦内。在肝细胞与血液之间除内皮细胞外无其他屏障结构,血液营养物质可通过内皮细胞间隙和膜孔进入狄氏间隙内,与肝细胞充分接触,这有利于肝细胞与血窦间进行物质交换。

2.3 越冬前后肝细胞超微结构变化

2.3.1 越冬前 构成肝小叶主要是“淡”细胞类型。肝细胞胞质内含物丰富,含有大量的糖原颗粒和脂滴(图版 - 2、5)。粗面内质网发达,形成轮环状同心板层结构,并多以片层状排列,膜上附着大量合成的核糖核蛋白体颗粒,线粒体呈长杆状,溶酶体颗粒较少出现(图版 - 3),肝细胞显示活动活跃。“暗”细胞数量极少。

2.3.2 越冬后 肝脏“淡”细胞胞质内糖原颗粒大量减少致使胞体缩小,线粒体数量减少,较多出现溶酶体,内可见退化的线粒体等细胞器残骸;肝小叶内“暗”细胞数量明显增加,胞质内细胞器结构模糊,内含物(糖原颗粒和脂滴)几乎消失(图版 - 5)。

3 讨论

3.1 鲮鲮肝脏组织结构特点

苏氏鲮鲮肝小叶周围的结缔组织少,因此肝小叶分界不明显,形状不规则,这也是硬骨鱼类肝脏的共同特征^[3]。超微结构显示,肝细胞之间排列紧密,它们之间由桥粒结构连接,但相邻细胞仍存在一定的间隙。鲮鲮肝细胞中未发现有双核现象,与对鳗鲡、鲟和虹鳟等其他硬骨鱼类的观察相一致^[4-6]。苏氏鲮鲮肝细胞形成3种不同联系状态,即相邻肝细胞间以桥粒结构连接,肝细胞与肝血窦的邻接,肝细胞与胆小管的邻接。3种接触面的表面结构有所不同,相邻肝细胞间有连接复合体(桥粒结构),使接触比较紧密;而肝细胞与胆小管面和肝

血窦接触面则有许多微绒毛。这3种连接方式使肝组织既具内分泌腺的功能(在肝细胞合成某些物质并释放入血管),又具外分泌功能(分泌胆汁)。苏氏鲢鳙肝细胞存在的双态现象在其他硬骨鱼类也有报道^[3-7],其他脊椎动物如圆口类的海七鳃鳗^[8]、两栖类的金线蛙^[9]和爬行类的甲鱼^[10]等肝细胞也有同样的发现。“暗”细胞也称D细胞,其功能尚不明确,当鳙个体处饥饿状态持续1周后,D细胞的数量明显增加^[5],这与本实验对苏氏鲢鳙的观察一致,鲢鳙越冬期停止进食其D细胞数量也增加。推测是否与肝脏胆汁分泌活动有关,还有待进一步证实。

3.2 温度对鲢鳙肝脏超微结构变化的影响

鲢鳙肝细胞的细胞器和内含物是随机能状态和营养状态而改变的。越冬前,肝细胞中线粒体含量丰富,表明肝细胞呼吸作用强,释放能量多,肝细胞活动活跃,越冬后,线粒体数量迅速减少,部分囊泡化并萎缩,表明肝细胞呼吸作用弱。内质网是肝细胞进行代谢的结构基础,也是合成蛋白质的物质基础,其超微结构变化作为判断肝细胞代谢活动的指标之一。鲢鳙越冬前,肝细胞内的粗面内质网呈车轮状层层排叠,表明肝细胞蛋白质合成能力强。越冬后粗面内质网减少,甚至消失,只见游离的核糖核蛋白体,说明肝细胞合成蛋白质能力弱。鲢鳙进入越冬期后,肝细胞内各种执行特殊功能的细胞器不断解体,其组分可能进入基质贮存起来或被用于物质和能量代谢。分布在肝实质内的枯氏细胞被认为是肝脏内单核吞噬细胞系统的组成部分,能及时吞噬和分解细胞器残骸^[6]。此外,线粒体是细胞的“动力站”,是合成能量ATP的场所,肝细胞中线粒体数量减少,合成能量也减少,这种现象是肝细胞适应不利生理条件的一种调节^[11]。糖原及脂滴对维持机体的生存起重要作用。许多学者研究禁食或于冬天不摄食鱼类^[5]、两栖类^[9]或冬眠前后的爬行类^[10]等动物的肝脏,均发现肝糖原颗粒数量锐减,表明肝糖原在维持禁食时期以及冬眠期物质与能量消耗方面的重要作用。鲢鳙越冬后停止进食,因而碳水化合物来源缺乏,机体为维护自身的基础代谢,必然消耗本身贮存的能源物质,肝糖原不断地被消耗导致糖原含量明显降低。脂类于细胞质内作为能源或为合成细胞内某些物质的原料。对无蹼壁虎冬眠期与出眠初期肝脏的比较细胞学研究表明爬行动

物冬眠中主要依靠消耗体内贮存的脂肪维持生存^[9]。鲢鳙在越冬期肝细胞内脂滴的丢失,用于维持机体的生存代谢。

鱼类是冷血动物,不能调节自身体温去适应外界环境的变化,广温性鱼类如鲤科鱼可能通过一些生理和生化机制去完成这一功能。但鲢鳙作为热带性鱼类,引进亚热带地区的广东后,低温对其生长发育造成明显影响。在冬季广东温度较低,往往造成鲢鳙死亡,除病害因素及保温措施外,越冬前体内能源物质贮备不足也是一个重要原因。鲢鳙入冬后停止摄食,主要依靠消耗肝内贮存糖原维持生存,因此鲢鳙越冬前贮备足够的糖原对于顺利越冬有积极意义。在饲料中添加生糖物质诸如动物肝脏、低分子碳水化合物以及增大投饲量均有利于增加入冬前的糖原贮备,以降低鲢鳙越冬期的死亡率。

参考文献:

- [1] 方展强,郑文彪,肖智,等.苏氏鲢鳙超微结构观察[J].水产学报,2001,25(6):489-491.
- [2] 许晓利,张艳,熊希凯.骤冷与饥饿对小鼠肝脏影响的实验研究[J].中国组织化学与细胞学杂志,1997,6(3):284-289.
- [3] Weisel G F. Anatomy and histology of the digestive system of the paddle fish (*Polyodon spathula*) [J]. J Morph, 1973, 140: 243-256.
- [4] 郭琼林,卢全章.鳙鳙肝脏、脾脏显微与超微结构[J].动物学报,1994,40(2):125-130.
- [5] 方展强,郑文彪.鲢鳙肝脏超微结构研究[A].中国动物学会,中国动物学会成立60周年纪念论文集[C].北京:中国科学技术出版社出版,1994.38-46.
- [6] Leatherland J F, Sonstegard R A. Ultrastructure of the liver of lake Erie coho salmon from post-hatching until spawning[J]. Cytobios, 1988, 54: 195-208.
- [7] Peute J, Huiskamp R, van Oordt P G W J. Quantitative analysis of estradiol-17 β -induced changes in the ultrastructure of the liver of the male zebrafish, *Brachydanio rerio* [J]. Cell Tiss Res, 1985, 242: 377-382.
- [8] Youson J H, Sargent P A, Ogilvie D, et al. Morphology of the green livers in upstream migrants of *Petromyzon marinus* L [J]. J Morph, 1986, 188: 347-361.
- [9] 嵇庆.金线蛙冬眠期与出眠初期肝脏比较细胞学研究[J].动物学杂志,1996(3):33-35.
- [10] 刘文生,陈琪,蔡巨广.出眠初期甲鱼肺泡、胃、肝细胞结构的电镜观察[J].华南农业大学学报,1997,18(增刊):106-111.
- [11] 王仲涛,康文华,王树娥,等.老年大鼠肝脏超微结构加龄变化的研究[J].解剖学杂志,1998,21(4):338-340.

Ultrastructure of liver in *Pangasius sutchi*

FANG Zhan-qiang¹, ZHENG Wen-biao¹, FU Lu-di^{1,2}

(1. College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

2. Laboratory Animal Centre, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Transmission electron microscopy was used to observe the liver of *Pangasius sutchi*. The fish were from the artificial reproduction population and the initial age was 4 months. The experiment was conducted from October 1998 to January 1999. According to the electron density in hepatic cytoplasm, the hepatic cells can be divided into two types — 'light cell' and 'dark cell'. The former dominated the hepatic cells in number before winter (November) and the later increased obviously in number after winter (January). The hepatic cells in liver have three types of junctions: to contact each other by desmosomes; to contact the sinusoid through the Disse' space; to contact the bile canaliculus with microvilli, indicating the ultrastructural characteristics as endocrine gland and exocrine gland. The general ultrastructural morphology of the liver of *P. sutchi* during winter is discussed herein, as well as the rough endoplasmic reticulum, lipid and glycogen content of hepatocytes, and the dimorphism of hepatocytes of teleosts.

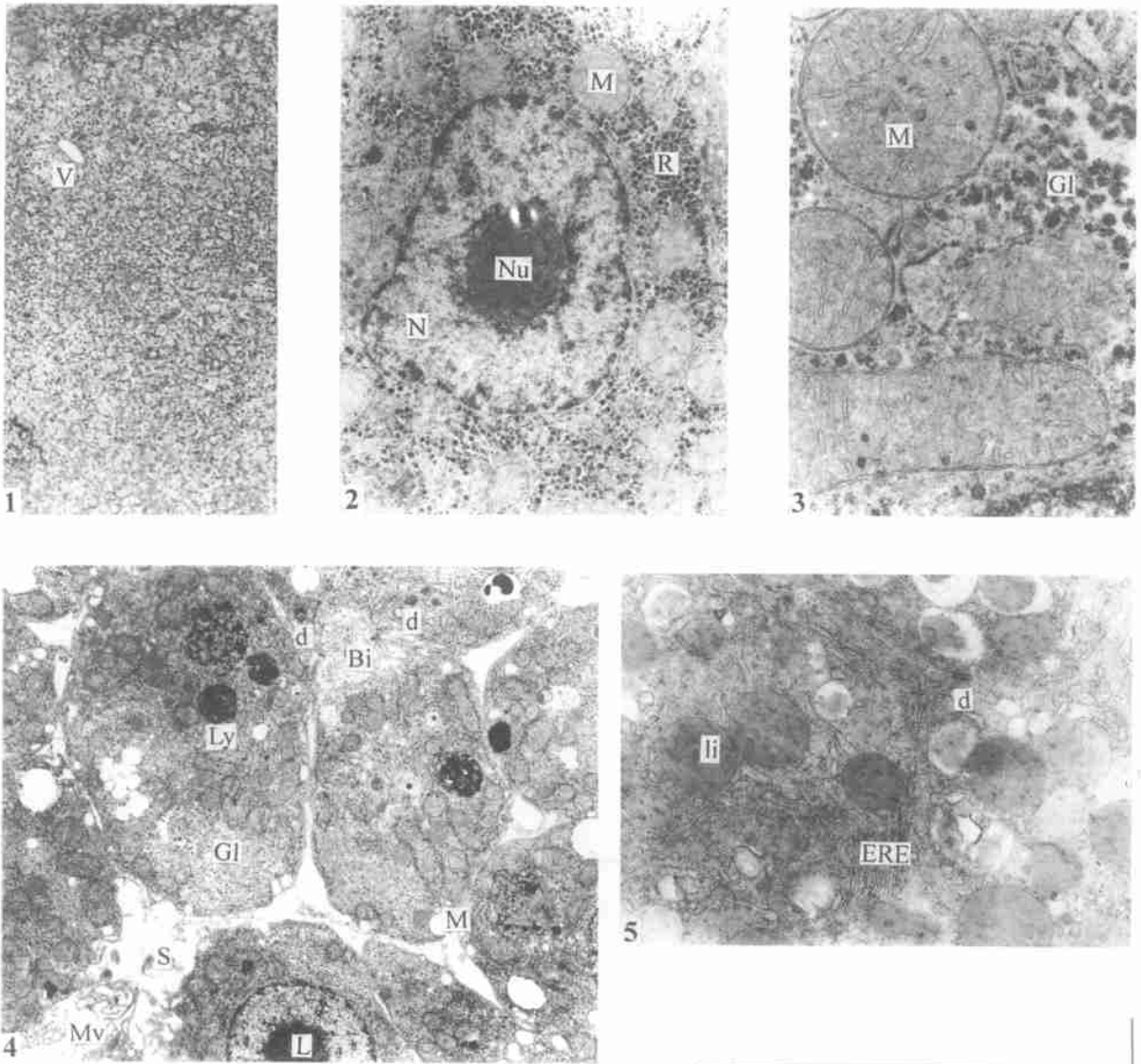
Key words: *Pangasius sutchi*; liver; ultrastructure

(For Plates and see attached pages 3 and 4)

中国水产科学研究院聘任第一批重点学科首席科学家

中国水产科学研究院于 2002 年 4 月向海内外发布了 15 个重点学科(研究领域)首席科学家的招聘公告。根据报名情况,确立了首批进行答辩的 7 个研究领域,并于 7 月中旬聘请由中国科学院、中国农业科学院、中山大学、青岛海洋大学、南京农业大学、上海水产大学、大连水产学院以及该院的两院院士和知名科学家组成的 15 人专家评审委员会,对应聘这 7 个研究领域并通过初审的 34 位应聘者进行了公开答辩和评审。最终确定了符合条件和岗位要求人选 12 名,其中学科首席科学家 5 名,研究领域首席科学家 7 名。12 位人选中,中国工程院院士 3 名,博士生导师 7 人;50 岁以下的 8 人。

对于首席科学家的管理,中国水产科学研究院将建立符合首席科学家工作特点的业绩评估、评价体系,并充分发挥同行专家在评审、评价过程中的作用,引入激励竞争机制,实行任期制和任期目标制。即确定目标、合同管理、严格考核、动态管理的管理体制。中国水产科学研究院面向海内外公开招聘首席科学家是一个长期开放的过程,在未来的几年里,将紧紧围绕 15 个重点学科继续做好此项工作,为促进农业结构调整、增加农民收入和全面提高我国渔业的国际竞争力做出更大贡献。欢迎海内外专家学者积极报名,参加竞聘(网址:<http://www.cafs.ac.cn>;E-mail 地址:renshi@cafs.ac.cn)。



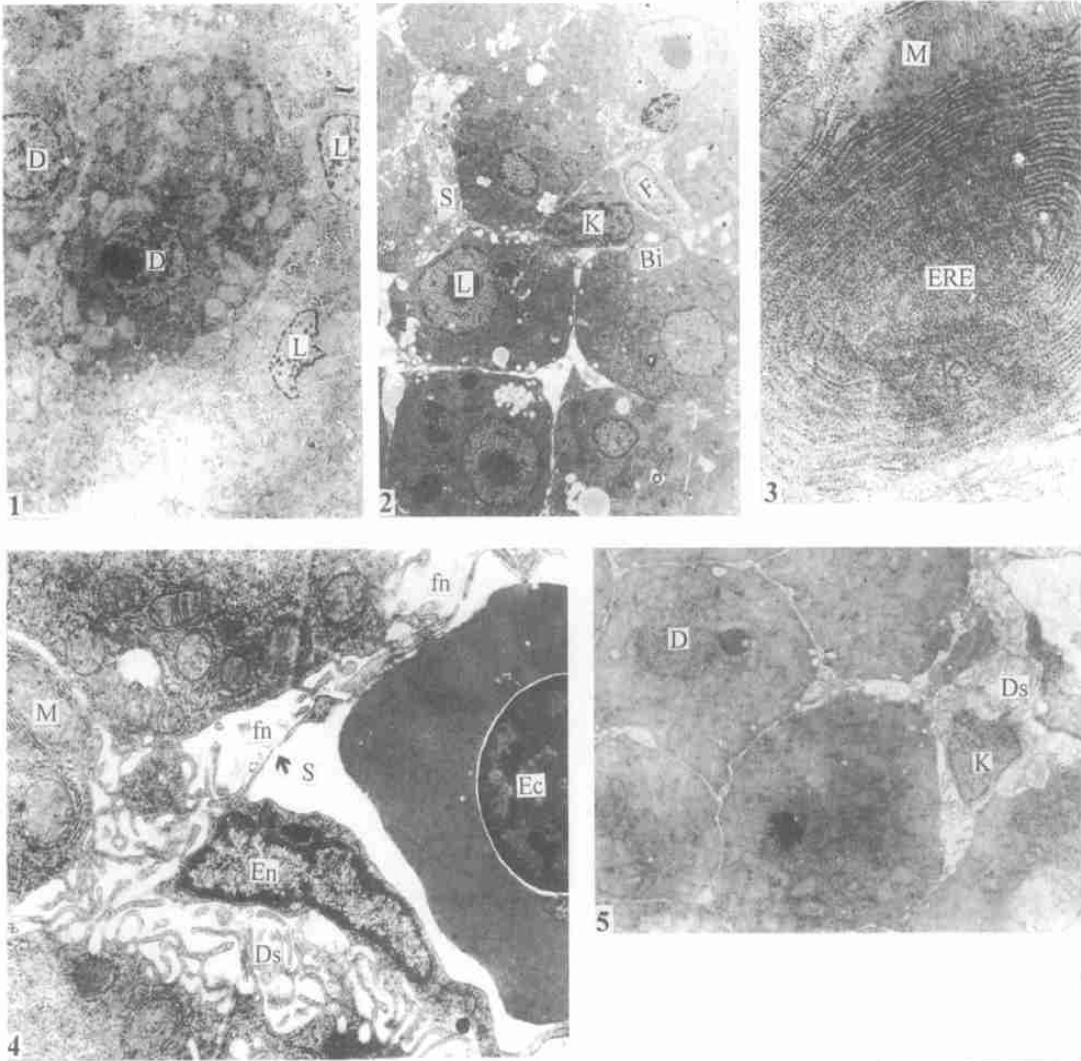
图版 I

1. 苏氏鲢鲈肝脏组织切片光镜图, H-E 染色, ×100.
2. 越冬前苏氏鲢鲈肝细胞, ×8 350.
3. 肝细胞中线粒体和糖原颗粒, ×23 000.
4. 越冬后苏氏鲢鲈肝细胞, ×5 000.
5. 肝细胞中粗面内质网和脂滴, ×11 000.

Plate I

1. Light micrographs of liver tissue sections in *P. sutchi*, treated with H-E, ×100.
2. Hepatocyte of *P. sutchi* before winter, ×8 350.
3. Mitochondrion and glycogen in hepatocyte, ×23 000.
4. Hepatocytes of *P. sutchi* after winter, ×5 000.
5. Rough endoplasmic reticulum and lipid droplet in hepatocytes, ×11 000.

Bi—胆小管 Bile canaliculus; D—“暗”细胞 Dark hepatocyte; d—桥粒 Desmosome; Ds—狄氏窦 Disse's space; Ec—红细胞 Erythrocyte; En—内皮细胞 Endothelial cell; ERE—粗面内质网 Rough endoplasmic reticulum; F—成纤维细胞 Fibroblasts; fn—膜孔 Fenestra; Gl—糖原颗粒 Glycogen; K—枯氏细胞 Kpffer's cells; L—“淡”细胞 Light hepatocyte; Ly—溶酶体 Lysosome; li—脂滴 Lipid droplet; M—线粒体 Mitochondrion; Mv—微绒毛 Microvilli; N—细胞核 Nucleus; Nu—核仁 Nucleolus; R—核糖核蛋白体颗粒 Ribosome; S—血窦 Sinusoid; V—中央静脉 Central vein.



图版 II

1. “淡”细胞和“暗”细胞, ×3 000.
2. 血窦和狄氏窦, ×10 000.
3. 肝细胞中粗面内质网, ×18 000.
4. 越冬前苏氏鲢鲟肝细胞, ×1 500.
5. 越冬后苏氏鲢鲟肝细胞, ×3 000.

Plate II

1. Light cells hepatocytes and dark hepatocyte, ×3 000.
2. Sinusoid and Disse's space, ×10 000.
3. Rough endoplasmic reticulum in hepatocytes, ×18 000.
4. Hepatocytes of *P. sutchi* before winter, ×1 500.
5. Hepatocytes of *P. sutchi* after winter, ×3 000.

Bi—胆小管 Bile canaliculus; D—“暗”细胞 Dark hepatocyte; d—桥粒 Desmosome; Ds—狄氏窦 Disse's space; Ec—红细胞 Erythrocyte; En—内皮细胞 Endothelial cell; ERE—粗面内质网 Rough endoplasmic reticulum; F—成纤维细胞 Fibroblasts; fn—膜孔 Fenestra; Gl—糖原颗粒 Glycogen; K—枯氏细胞 Kpffer's cells; L—“淡”细胞 Light hepatocyte; Ly—溶酶体 Lysosome; li—脂滴 Lipid droplet; M—线粒体 Mitochondrion; Mv—微绒毛 Microvilli; N—细胞核 Nucleus; Nu—核仁 Nucleolus; R—核糖核蛋白体颗粒 Ribosome; S—血窦 Sinusoid; V—中央静脉 Central vein.