

大黄鱼肝脏的显微及超微结构

周 阳¹, 王友发¹, 沈伟良², 王建平², 吴雄飞², 竺俊全^{1*}

(1. 宁波大学 教育部应用海洋生物技术重点实验室, 浙江 宁波 315211; 2. 宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315010)

摘要: 为了解大黄鱼肝脏的结构特点, 采用石蜡切片-显微技术及超薄切片-透射电镜技术观察研究了健康大黄鱼肝脏的组织学结构特征。显微观察显示, 肝脏表面覆有一层较薄的结缔组织被膜, 肝小叶之间界限不明显, 中央静脉不发达, 肝细胞索(板)排列不规则; 肝血窦相互吻合成网络状; 肝内小叶间静脉、小叶间动脉伴行; 肝内胆管系统由胆小管、小叶内胆管、小叶间胆管和支胆管组成; 小叶间胆管常与小叶间静脉、小叶间动脉伴行; 胰腺组织弥散分布于肝实质中。电镜观察显示, 大黄鱼肝细胞界限清晰, 单核; 细胞质分布有丰富的核糖体和线粒体, 内质网发达, 含有丰富的糖原颗粒和大小不等的脂滴; 枯否氏细胞具伪足, 细胞质内含有吞噬泡; 贮脂细胞内含有大小不等的脂滴; 狄氏隙及胆小管腔内充满丰富的微绒毛。大黄鱼肝脏组织结构与其他硬骨鱼类基本相似。

关键词: 大黄鱼; 肝脏; 组织学; 超微结构

中图分类号: Q954.6

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2017) 01-0042-05

肝脏是鱼类消化系统的重要组成部分, 体内最大的消化腺, 除分泌胆汁、参与消化功能外, 还有贮藏养分、代谢和解毒等作用^[1-3]。肝脏组织结构是消化生理学研究内容之一, 以往对鱼类肝脏结构的研究主要涉及显微与超微结构、营养及环境污染对其组织结构的影响等方面^[4-10]。硬骨鱼类并不像高等脊椎动物那样存在独立的胰腺, 胰腺组织多分布在肝脏内部, 因此, 肝脏与胰腺的组织结构通常被一起研究描述^[11-13]。然而, 目前关于硬骨鱼类肝内血管系统和胆管系统缺乏详细描述。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)是我国重要海产经济鱼类及增殖良种, 其基础研究广泛开展, 营养、消化生理和免疫分子机制等方面的研究备受重视^[14-18]。目前, 大黄鱼病变肝脏组织结构的研究也已见报道^[19], 但正常健康肝脏组织显微与超微结构未见详细报道。

本文采用石蜡切片显微技术及透射电镜技术观察研究了浙江象山湾网箱养殖的健康大黄鱼肝

脏的显微与超微结构, 旨在为大黄鱼消化生理的研究积累基础资料, 为养殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

实验鱼取自浙江宁波象山湾网箱养殖的健康大黄鱼, 共 10 尾, 体重(148.0±19.9)g, 体长(21.58±0.77)cm。

1.2 方法

活体解剖大黄鱼, 取肝脏组织切成约 3 mm³ 小块, 置于 Bouin's 液固定 24 h 后, 酒精梯度浓度脱水(质量分数分别为 70%, 80%, 90%, 95%, 100%), 二甲苯透明, 石蜡包埋后切片(厚度为 7 μm), 常规 HE 染色后于 Olympus-BX51 显微镜下观察并拍照。

另取部分肝脏组织, 切成约 1 mm³ 小块后置于质量分数为 2.5%戊二醛溶液中, 4℃下固定 2 d, 经磷酸缓冲液(1×PBS, pH 7.0)冲洗 3 次(每次 15 min)后, 置于质量分数为 1%锇酸溶液固定 2 h, 酒

收稿日期: 2016-01-04.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 宁波市科技计划重大项目(2015C110005); 浙江省科技计划项目(2012C12907-8); 宁波市自然科学基金(2013A610165)。

第一作者: 周阳(1989-), 女, 黑龙江佳木斯人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 鱼类繁殖与发育。E-mail: 15825572309@163.com

*通信作者: 竺俊全(1964-), 男, 浙江宁波人, 教授, 主要研究方向: 鱼类繁殖与发育。E-mail: zhujunquan@nbu.edu.cn

精梯度浓度脱水, 环氧树脂 Epon812 渗透并包埋, 利用 LKB-III 型切片机进行超薄切片, 经醋酸铀及柠檬酸铅染色后于日立 H-7650 型透射电镜下观察与拍照。

2 结果

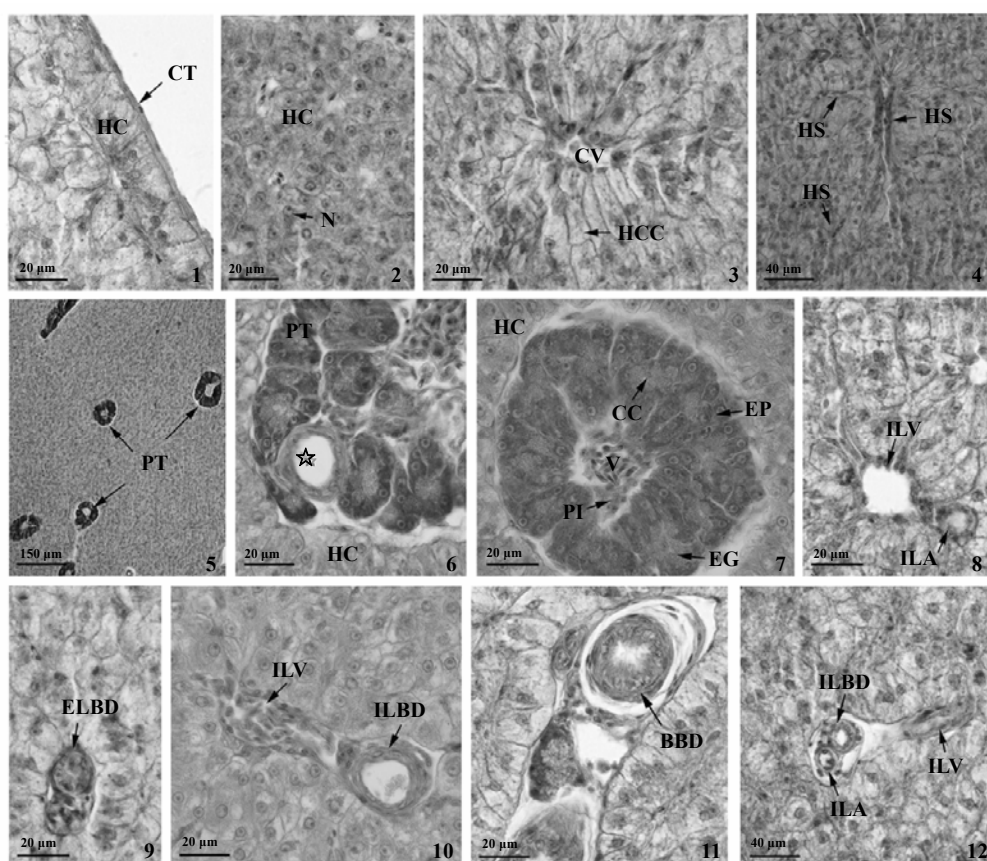
2.1 大黄鱼肝脏的显微结构

大黄鱼肝脏表面被覆薄层结缔组织(厚约 0.5~3.0 μm), 并延伸入肝实质中将肝脏分为若干小叶, 由于结缔组织不发达, 故肝小叶分界不明显(图 1-1); 肝小叶内肝细胞呈多边形、界限明显, 细胞核位于中央、呈圆形或卵圆形(图 1-2)。每个肝小叶有一个中央静脉, 管壁较薄, 仅由一层内皮和少量结缔组织构成, 管腔不规则, 肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列, 形成肝板, 相邻肝板之间相互吻合, 形成迷路样结构, 肝板的横切面观肝细胞呈

索状排列成肝细胞索(图 1-3)。肝板之间为肝血窦, 其内充满血细胞, 血液沿肝小叶边缘经肝血窦汇入中央静脉(图 1-4)。

大黄鱼肝实质内有弥散状胰腺组织分布(图 1-5)。胰腺分为内分泌部和外分泌部两部分。外分泌部占腺体的绝大部分并环绕内分泌部, 为浆液性的复管泡状腺, 由腺泡和导管组成(图 1-6)。腺细胞形态不规则, 核呈圆形, 核仁明显, 细胞呈强嗜碱性, 胞质被染成蓝紫色, 内有大量酶原颗粒; 腺泡腔小, 腔内可见泡心细胞。内分泌部即胰岛, 分散在外分泌部腺泡之间; 胰岛细胞着色浅, 细胞排列疏松; 内外分泌部之间界限不明显(图 1-7)。

大黄鱼肝脏组织中各级血管丰富。肝实质中可见伴行的小叶间静脉和小叶间动脉, 小叶间静脉管壁较薄, 腔隙大而不规则; 小叶间动脉管壁较厚, 腔隙较窄, 呈圆形或椭圆形(图 1-8)。小叶间静



1:示肝脏结缔组织被膜 $\times 1\,000$; 2:肝细胞 $\times 1\,000$; 3:肝血窦 $\times 400$; 4:中央静脉及肝细胞索 $\times 1\,000$; 5:肝胰腺 $\times 100$; 6:胰腺外分泌部 $\times 1\,000$; 7:胰腺内分泌部 $\times 1\,000$; 8:伴行的小叶间静脉和小叶间动脉 $\times 1\,000$; 9:小叶内胆管 $\times 1\,000$; 10:小叶间胆管 $\times 1\,000$; 11:支胆管 $\times 1\,000$; 12:门管区 $\times 400$ 。BBD:支胆管; CC:泡心细胞; CV:中央静脉; CT:结缔组织被膜; EG:酶原颗粒; ELBD:小叶内胆管; EP:胰腺外分泌部; HC:肝细胞; HCC:肝细胞索; HS:肝血窦; ILA:小叶间动脉; ILBD:小叶间胆管; ILV:小叶间静脉; N:细胞核; PT:胰腺; PI:胰岛; ☆:导管

图1 大黄鱼肝脏显微结构

脉和小叶间动脉在末端汇合后流入肝血窦。

大黄鱼肝内可观察到小叶内胆管、小叶间胆管及支胆管,小叶内胆管管壁由单层立方上皮构成,管壁周围有少量结缔组织包被(图 1-9);小叶间胆管管壁由单层上皮细胞和一薄层结缔组织构成(图 1-10);支胆管在肝实质中常常数条并行,管壁较厚,分为3层,内层为单层上皮细胞,中间层为环形平滑肌,外层为结缔组织(图 1-11)。

大黄鱼肝实质内可见门管区,小叶间静脉、小叶间动脉和小叶间胆管伴行,周围有共同的结缔组织包被(图 1-12)。

2.2 大黄鱼肝脏的超微结构

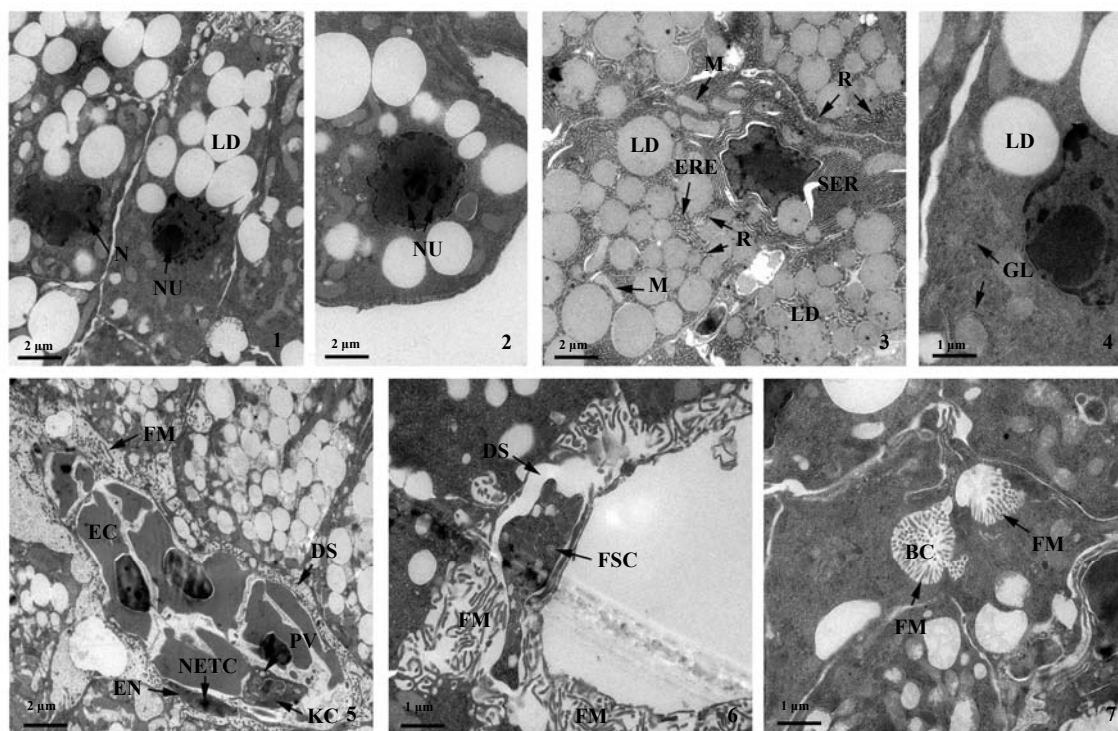
肝细胞超微结构观察显示,细胞形态为不规则多边形,核呈圆形或卵圆形,核仁1个,偶见2个(图 2-1、图 2-2);细胞质中滑面内质网及粗面内质网均较发达,常呈片层状排列,粗面内质网上有大量核糖体附着;线粒体数量多,散布在细胞质中,呈圆形或卵圆形或短棒状;此外,细胞质中有许多大小不同脂滴,糖原颗粒也较丰富(图 2-3、图 2-4)。

大黄鱼肝血窦的超微结构观察显示,窦壁仅由一层内皮细胞构成,内皮细胞间隙较大且细胞外无基膜;肝血窦与肝细胞间存在间隙,称之为狄氏隙(Disse's space),由近狄氏隙面的肝细胞质突起形成的微绒毛浸润其中;肝血窦中还可可见枯否氏细胞(Kupffer cell),该细胞是单核吞噬细胞系统的重要组成部分,其细胞形态不规则,常以伪足附于内皮细胞上或深入肝血窦内,细胞质内含吞噬泡(图 2-5);狄氏隙内可观察到贮脂细胞(fatstoring cell),细胞质内含有许多脂滴(图 2-6)。

电镜下可观察到胆小管结构,它是由相邻肝细胞间局部细胞膜凹陷形成的细管状结构,由肝细胞质突起形成的微绒毛伸入胆小管腔中(图 2-7)。

3 讨论

鱼类属于低等脊椎动物,其肝脏并不像高等脊椎动物那样形成规则的肝小叶,这可能与鱼类进化水平较低有关^[20]。本研究表明,大黄鱼肝脏内结缔组织不发达,肝小叶分界不明显,这与大鳍鱯



1:肝细胞×8 000; 2:示肝细胞核仁×10 000; 3:示肝细胞核、内质网、线粒体、核糖体和脂滴×10 000; 4:示糖原颗粒×20 000; 5:示枯否氏细胞及其吞噬泡、内皮细胞及内皮细胞核和红血球×8 000; 6:示贮脂细胞×15 000; 7:胆小管及连接复合体×15 000。BC:胆小管; DS:狄氏隙; EC:红细胞; EN:内皮细胞; ERE:粗面内质网; FM:微绒毛; FSC:贮脂细胞; GL:糖原颗粒; HS:肝血窦; KC:枯否氏细胞; LD:脂滴; M:线粒体; N:细胞核; NAC:核仁相随染色质; NETC:内皮细胞核; NP:核孔; NU:核仁; PV:吞噬泡; R:核糖体; SER:滑面内质网

图2 大黄鱼肝脏超微结构

(*Mystus macropterus*)^[4]、黄鳊(*Monopterus albus*)^[6]、鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[21]等硬骨鱼类相似。大黄鱼肝细胞质中内质网发达,线粒体数量多,糖原颗粒和脂滴丰富。内质网是肝细胞蛋白质及脂类的合成场所,糖原在生物合成、机体分解、代谢调节中起重要作用,线粒体为肝细胞的生理活动提供能量,脂滴能够贮存脂肪^[1-3]。大黄鱼肝脏内有胰腺组织,与肝脏共同组成肝胰腺,这也是大多数硬骨鱼的共同特征^[11-13]。胰腺分为外分泌部和内分泌部,外分泌部由腺泡和导管组成,腺泡中含有大量酶原颗粒;内分泌部为散布于外分泌部腺泡间的细胞团。谢碧文等^[12]在研究瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)胰腺超微结构时发现腺泡细胞具有高速合成蛋白质能力;谢嘉华等^[13]对海鳗(*Muraenesox cinereus*)胰腺的显微结构研究显示散在的内分泌部能够增加内、外分泌部接触的表面积,从而高效地调节胰腺泡的功能活动。因此,鱼类胰腺结构是与其分泌消化酶,参与糖类、脂类及蛋白质的消化功能相适应的^[12]。

大黄鱼肝实质内肝血窦丰富,电镜观察显示,肝血窦窦壁仅由一层内皮细胞组成,内皮细胞间有较大的空隙,连通血窦腔与狄氏隙,这与斑鳊(*Siniperca scherzeri*)^[20]、鳗鲡^[21]、驼背鲈(*Cromileptes altivelis*)^[22]等的肝血窦结构基本一致。大黄鱼肝血窦具有很强的通透性,有利于肝细胞与血液进行物质交换;狄氏隙内微绒毛丰富,这可能与肝脏旺盛的吸收和分泌能力有关^[1-3]。狄氏隙中有贮脂细胞,其主要功能为储存脂肪和维生素A,并能产生基质和网状纤维^[1-3]。在哺乳动物中,贮脂细胞的激活和增殖是肝纤维化发生和发展的关键因素,在慢性肝病或肝硬化的情况下,贮脂细胞明显增多并转化为成纤维细胞,合成大量胶原纤维和网状纤维,造成肝的纤维增生性病理变化^[3]。大黄鱼肝脏中贮脂细胞的多少是否受病理变化的影响,有待观察研究。

大黄鱼肝血窦中有枯否氏细胞存在,瓦氏黄颡鱼^[12]、鳗鲡^[21]、驼背鲈^[22]、苏氏芒鲶(*Pangasius sutchi*)^[23]、鳊(*Siniperca chuatsi*)^[24]等鱼类肝血窦中也有枯否氏细胞。枯否氏细胞作为单核吞噬细胞系统的一员,可形成伪足,细胞质内富含吞噬泡,具有变形运动及活跃的吞饮、吞噬能力,因此,在

机体的免疫防御中可能发挥重要作用^[1-3]。

大黄鱼肝内胆管系统由胆小管、小叶内胆管、小叶间胆管和支胆管构成。胆小管能够直接接受肝细胞分泌的胆汁,胆汁经胆小管流入小叶内胆管,随后依次进入小叶间胆管、支胆管^[1-3]。目前关于鱼类肝内胆管系统的划分尚不一致。初晓红等^[25]在研究斑马鱼肝内胆管系统时,将其胆管系统分为四部分:细胞内和细胞间胆道、前胆小管、胆小管和胆管。熊红林等^[11]研究翘嘴鲌肝内胆管系统时,将其胆管系统分为五级,依次为胆小管、小叶内胆管、小叶间胆管、支胆管和肝叶中央胆管。大黄鱼肝内胆管系统与翘嘴鲌基本相同。

参考文献:

- [1] 李霞. 水产动物组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006:197-199.
- [2] 杨倩. 动物组织学与胚胎学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008:238-239.
- [3] 彭克美, 王政富, 王树迎, 等. 动物组织及胚胎学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009:150-156.
- [4] 熊洪林, 王志坚. 大鳍鱮肝脏的显微及超微结构[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(4):144-148.
- [5] 方展强, 林敏朝. 剑尾鱼肝脏结构的光镜和透射电镜观察[J]. 电子显微学报, 2006, 25(3):265-270.
- [6] 隗黎丽, 刘胜高, 张俊, 等. 黄鳊肝脏的显微和超微结构[J]. 淡水渔业, 2015, 45(3):97-101.
- [7] WEIS P. Hepatic ultrastructure in two species of normal, fasted and gravid teleost fishes[J]. American Journal of Anatomy, 1972, 133:317-331.
- [8] XU W, LI J, LI X, et al. Alterations of liver histology and blood biochemistry in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* fed high-fat diets[J]. Fisheries Science, 2013, 79(4):661-671.
- [9] ABDEL M A M. Histopathological and ultrastructural perturbations in tilapia liver as potential indicators of pollution in Lake Al-Asfar, Saudi Arabia[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(6):4387-4396.
- [10] ZHANG J, HU C X, WANG G H, et al. Morphological alterations and acetylcholinesterase and monoamine oxidase inhibition in liver of zebrafish exposed to Aphanizomenon flos-aquae DC-1 aphantoxins[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 157:215-224.
- [11] 熊洪林, 王志坚. 翘嘴鲌肝脏的显微和超微结构研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2011, 33(2):50-

- 56.
- [12] 谢碧文, 岳兴建, 张耀光. 瓦氏黄颡鱼肝和胰的组织学及超微结构[J]. 西南农业大学学报, 2004, 26(5):645-649.
- [13] 谢嘉华, 陈朝阳, 黄国宝, 等. 海鳗肝脏、胆囊及胰腺的显微结构[J]. 海洋通报, 2007, 26(3):61-65.
- [14] 张璐. 鲈鱼和大黄鱼几种维生素的营养生理研究和蛋白源开发[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.
- [15] 徐晓津, 徐斌, 王军, 等. 大黄鱼感染哈维氏弧菌后血液生化指标的变化及组织病理学观察[J]. 水产学报, 2010, 34(4):618-625.
- [16] 左然涛. 饲料脂肪酸调控大黄鱼免疫力和脂肪酸代谢的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [17] 鄢庆枇, 苏永全, 王军, 等. 溶藻弧菌脂多糖对大黄鱼的毒性与免疫保护性试验[J]. 台湾海峡, 2003, 22(2): 163-167.
- [18] 田琛. 大黄鱼 CXCL13 型趋化因子的鉴定及免疫球蛋白 M 重链和轻链的分子特征研究[D]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2009.
- [19] 刘振勇, 谢友伶, 林小金. 大黄鱼肝脏病变组织病理学观察[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(5):7-11.
- [20] 熊洪林, 王志坚. 斑鳊肝脏的组织学及超微结构[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2009, 34(2):43-48.
- [21] 郭琼林, 卢全章. 鳊鱼肝脏、脾脏显微与超微结构[J]. 动物学报, 1994, 40(2):125-130.
- [22] 王静香, 李加儿, 区又君, 等. 驼背鲈肝脏结构的光镜和透射电镜观察[J]. 海洋渔业, 2010, 32(4):388-394.
- [23] 方展强, 郑文彪, 符路娣. 苏氏鱼芒鲶肝脏的超微结构[J]. 中国水产科学, 2002, 9(4):296-299.
- [24] 方展强, 郑文彪, 符路娣. 不同生殖期鳊鱼肝脏超微结构变化的观察[J]. 水生生物学报, 2003, 27(6):607-611.
- [25] 初晓红. 斑马鱼肝脏微细结构及胆管系统的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2009.

Microstructures and ultrastructures of liver in *Larimichthys crocea*

ZHOU Yang¹, WANG You-fa¹, SHEN Wei-liang², WANG Jian-ping², WU Xiong-fei², ZHU Jun-quan^{1*}

(1.Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2.Ningbo Ocean and Fishery Research Institute, Ningbo 315010, China)

Abstract: In order to study the structure of liver in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*), we use the paraffin section and transmission electronmicroscope to observe the structure of *L. crocea* liver. The light microscope demonstrates that the surface of liver is covered with a thin layer of connective tissues capsule. The boundaries between the hepatic lobule are not clearly noticeable. Central vein located in the center of hepatic lobule is not developed. The pattern of hepatic cords is irregularly arranged. The hepatic sinusoids form the webs of honey comb, and the interlobular vein and interlobular artery always appear together. The bile duct system of liver consists of the bile canaliculi, intralobular biliary canals, interlobular bile duct and branched bile duct. The portal area is composed of the interlobular bile duct, interlobular vein and interlobular artery. The pancreas contained is distributed randomly in the liver parenchyma. Electron microscope shows that the boundaries of liver cell look clear. Liver cells are with single nucleus. The cytoplasm of liver cell has a large number of organelles (mitochondria, ribosome, endoplasmicreticulum) and abundant inclusions (glycogenosome and lipiddroplet). The kupffer cells which have pseudopod and phagosome, and hepatic stellate cells varying in size of lipiddroplet are found in the hepatic sinusoids. The hepatic sinusoids and bile canaliculi are full of large amount of microvilli. It is also noticed that, in general, the structure of *L. crocea* liver is similar with that of teleost fishes.

Key words: *Larimichthys crocea*; liver; histology; ultrastructure

(责任编辑 章踐立)