

# 不同月龄虹鳟肝显微及超微结构特征

袁莉刚 曲亚玲 黄布敏 谷来凤 朱俊峰 田旦增

甘肃农业大学动物医学院 兰州 730070

**摘要:** 应用多种组织化学方法和透射电镜技术,对同一生长条件下8月龄、20月龄及30月龄虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 肝显微结构和超微结构特征进行研究。结果表明:不同月龄虹鳟肝被膜均为单层扁平上皮,厚度变化明显;肝细胞为单核,8月龄细胞排列不明显,20月龄及30月龄形成完整双层管式排列,胆管及其周围缔结组织随月龄发育尤为明显,血窦分支吻合成网状,窦腔内皮细胞扁平,胞质孔较多,窦腔内巨噬细胞具有典型胞质突,但并没有观察到 Kupffer 细胞;各月龄组肝星状细胞发育完善,胞突彼此相连;汇管区分为胆管孤管型、胆管动脉型、胆管静脉型、胆管动静脉型4种,8月龄以胆管孤管型为主,20月龄以胆管动脉型为主,30月龄以胆管动脉型、胆管动脉静脉型为主。因此,性成熟前虹鳟肝组织结构与其生理发育密切相关,胆管系统结构形式随月龄变化明显,肝细胞排列逐渐完善,Disse 间隙胶原纤维及网状纤维含量逐渐增加,与被膜、中央静脉及汇管区缔结组织互相延伸,构成肝完整骨架,有利于调节肝细胞正常生理功能。

**关键词:** 虹鳟;月龄;肝;显微结构;超微结构

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2013)06-884-10

## Microstructure and Ultrastructure of the Liver Tissue in *Oncorhynchus mykiss* at Different Ages

YUAN Li-Gang QU Ya-Ling HUANG Bu-Min GU Lai-Feng ZHU Jun-Feng TIAN Dan-Zeng

College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

**Abstract:** The liver microstructure and ultrastructure of 8-month-old, 20-month-old and 30-month-old *Oncorhynchus mykiss* were observed by both light and electron microscopy. The results showed that the hepatic capsule thickness varied with age. The parenchyma showed tube-like arrangement of two-hepatocytic plates encircling central venous radially. The hepatocytic microvilli extended from hepatocytes into biliary passages and towards the space of Disse. The hepatic stellate cells (HSC) were located in the space of Disse with irregular shape and angular nuclei and rich in heterochromatin and paranuclear lipid droplets. Cytoplasmic processes radiated randomly from the cell body and round sinusoid. There were free ribosomes, rough endoplasmic reticulum, Golgi complex and mitochondria in the cytoplasm and cytoplasmic processes. There were macrophages in the sinusoid, but Kupffer cells were not evident in the liver. The stromal reticular fiber increased with age. HSC and sinusoid developed perfectly in all age groups. Vessels and bile ducts were observed to scatter without any apparent order within the parenchyma. The portal area was arranged as solitary biliary, biliary-arteriole, biliary-venous and venous-biliary-arteriolar tracts. Structural differences of the portal area between different ages were observed. It was mainly the biliary solitary tube at 8-month old, while there

基金项目 甘肃省自然科学基金项目(No. 096RJZA002);

第一作者介绍 袁莉刚,女,博士;研究方向:动物发育生物学;E-mail: yuan2918@126.com。

收稿日期:2013-02-05,修回日期:2013-05-21

were mainly biliary-arteriole type at 20-month-old and venous-biliary-arteriolar type at 30-month-old. These results indicated that the liver structure varied with in *O. mykiss*.

**Key words:** *Oncorhynchus mykiss*; Liver; Microstructure; Ultrastructure

虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 隶属于鲑科 (Salmonidae), 原产于美国阿拉斯加地区, 栖于湖泊和急流, 属于冷水性鱼类, 也是养殖范围最广的观赏鱼和经济鱼。随着水污染的日益加重, 肝组织结构研究是认识和探讨鱼类对于环境质量和生理性应激导致组织变化的重要途径。目前, 国内外学者有关虹鳟肝的研究主要集中在生理生化 (Polako et al. 2010)、中毒与营养物质代谢 (Subramanian et al. 2012)、基因调控 (Nagler et al. 2012) 等方面, 虹鳟也因其高度的敏感性成为环境化学物质导致肝癌、肝损伤等研究的典型 (David et al. 2003, Williams 2012)。Hampton 等 (1985, 1988, 1989) 对 5 龄雌、雄虹鳟肝细胞的分布和组织化学特性、肝胆管系统构成及间质和细胞类型进行了形态学观察, 认为毒性或致癌物对虹鳟肝组织结构的改变产生很重要的影响。有关棕鳟 (*Salmo truttafarior*) (Eduardo et al. 1994)、苏氏鲈 (*Pangasius sutchi*) (方展强等 2002)、银大麻哈鱼 (*O. keta*) (杨丽丽等 2012) 等研究发现肝组织结构在不同物种之间均存在明显差异, 相关形态学变化与月龄、性别、季节、营养有密切关系。迄今为止, 对于不同月龄阶段虹鳟肝组织结构比较研究尚未见报道。本研究采用多种组织化学方法、透射电镜技术和 IPP (Image-Pro Plus) 图像分析软件对 8 月龄、20 月龄及 30 月龄虹鳟肝显微结构和超微结构特征进行研究, 分析其与代谢、生长和繁殖之间的关系, 为虹鳟肝代谢潜力和营养性疾病的联系提供参考, 亦可为预防和治疗肝相关疾病提供理论基础。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验用鱼** 取自甘肃省兰州市永登县虹鳟养殖基地。养殖水源为连续不断的自然地下水, 水温 9 ~ 18℃, 碱度 4.1 mg/L, pH 7.5 ~ 7.8, 溶解氧 7.0 ~ 7.5 mg/L, 注水量 0.12 m<sup>3</sup>/s, 流

速 45 cm/s。

2010 年 5 月捕捞不同月龄组健康虹鳟, 8 月龄平均体重为 (6.87 ± 3.8) g ( $n = 26$ ); 20 月龄平均体重 (187.34 ± 15.4) g ( $n = 26$ ); 30 月龄平均体重 (568.84 ± 55.6) g ( $n = 26$ )。将虹鳟浸入 0.3 ml/L 乙二醇苯醚水溶液麻醉 3 min, 称重后立即从肛门沿腹中线剖腹腔, 观察肝位置, 取出肝随不同研究方法取样固定。

**1.2 组织化学样本制备和观察** 组织样品切成 1 cm × 1 cm × 0.6 cm 大小, Bouin 液固定, 常规石蜡包埋, 切片厚 5 μm。Masson 三色染色 (亮绿), 胶原纤维呈现蓝绿色, 细胞核呈现灰黑或灰蓝色, 红细胞呈现红色。Gomori 银染显示网状纤维为灰色, 苏木素-伊红复染后网状纤维呈棕红色。PAS 染色显示糖原分布, 红色为阳性颗粒。常规石蜡包埋, 切片厚 20 μm, Golgi 染色显示肝星状细胞。

**1.3 电镜样本制备和观察** 样品切成 0.1 cm × 0.1 cm × 0.1 cm 组织块, 2% 多聚甲醛与 2.5% 戊二醛溶液固定 24 h, 1% 锇酸后固定, 丙酮乙醇梯度脱水, Epon812 包埋, LKB8800 型超薄切片机切片, 醋酸铀、硝酸铅双重染色, 日本 JEM-100CX 透射电子显微镜观察照相。

**1.4 测量及数据统计** 利用 NIKON ECLIPSE 80i 型显微摄像系统观察、照相, IPP 图像分析软件测量被膜厚度及肝细胞大小, 统计汇管区及动脉数量变化。用 SPSS 11.5 软件对相关数据进行 *t* 检验, 结果计为平均数 ± 标准差 (Mean ± SD)。

## 2 结 果

虹鳟肝为单叶实心腺, 紧贴胸腹隔膜, 无典型肝门, 肝动脉、肝静脉从前端出入肝, 胆总管和门静脉从脏面中间部位出入肝。

### 2.1 不同发育阶段虹鳟肝显微结构特点

**2.1.1 虹鳟肝被膜显微结构特点** 虹鳟肝被膜为单层扁平上皮, 8 月龄虹鳟肝被膜厚

( $0.72 \pm 0.03$ )  $\mu\text{m}$  ( $n = 10$ ) (表 1), 无弹性纤维和胶原纤维分布, 含有稀疏网状纤维(图版 I:1)。20 月龄被膜厚( $1.14 \pm 0.02$ )  $\mu\text{m}$  ( $n = 10$ ); 可见少量弹性纤维和胶原纤维, 网状纤维比较丰富且深入实质内(图版 I:2)。30 月龄被膜增厚为( $1.87 \pm 0.08$ )  $\mu\text{m}$  ( $n = 10$ ) (表 1), 含丰富弹性纤维和胶原纤维, 网状纤维致密发达并深入实质与血窦壁相连(图版 I:3)。

### 2.1.2 不同月龄虹鳟肝实质显微结构特点

虹鳟肝小叶不明显, 8 月龄虹鳟肝内无明显肝细胞索, 细胞椭圆, 含有少量空泡, 胞质中含丰富的糖原颗粒(图版 I:4), Disse 间隙内胶原纤维非常少, 可见少量网状纤维(图版 I:1)。20 月龄肝细胞卵圆形, 胞质内空泡化非常明显, 核质较多, 细胞间连接紧密, 4~8 个肝细胞围绕一个中央管呈双层管式排列, 散在梭形胆管上皮细胞, 肝细胞、血窦含大量红色阳性糖原颗粒, 且近中央静脉及汇管区周围组织中糖原最丰富(图版 I:5), Disse 间隙内的胶原纤维较少, 网状纤维与窦壁内皮细胞相连(图版 I:2)。30 月龄肝细胞排列成双层肝板, 胞质内空泡化明显, 肝细胞、血窦腔及 Disse 间隙内含大量红色阳性糖原颗粒(图版 I:6)。

统计结果显示, 肝细胞及其核大小在各月龄组之间差异不显著( $P > 0.05$ , 表 1)。8 月龄到 20 月龄肝板结构变化明显, 血窦结构清晰, 胶原纤维、网状纤维含量增加明显, 20 月龄至

30 月龄肝板结构变化不明显, 胶原纤维及网状纤维增加不显著(图版 I:1~3)。

Golgi 法显示各月龄组肝星状细胞形态变化不明显, 肝星状细胞的核与星状胞突特征明显, 胞质向四周延伸出多个细长的胞突及次级突。胞突彼此相连, 同时也与血窦内皮细胞相连, 包绕整个肝血窦(图版 I:7~9)。

### 2.1.3 虹鳟肝汇管区显微结构特点

肝汇管区由静脉、动脉和胆管形成 4 种结构形式: (1)胆管孤管型, 由 1~2 个胆管单独构成, 无动脉、静脉。(2)胆管动脉型, 由 1 个动脉和 1~3 条胆管组成, 无静脉;(3)胆管静脉型, 由 1 个静脉和 1~3 个胆管组成, 无动脉;(4)胆管动静脉型, 由 1~2 个动脉、1~2 个静脉和 1~3 胆管组成。

肝汇管区静脉管壁胶原纤维、网状纤维含量较少, 动脉管壁胶原纤维含量丰富, 胆管管壁网状纤维含量尤为致密(图版 I:10~12)。统计结果显示, 8 月龄与 20 月龄相比, 汇管区数量差异不显著( $P > 0.05$ , 表 2), 20 月龄与 30 月龄相比, 汇管区数量差异显著( $0.01 < P < 0.05$ , 表 2)。8 月龄时, 汇管区以胆管孤管型为主, 管壁网状纤维明显(图版 I:13)。20 月龄时期, 汇管区数量增加, 以胆管动脉型为主(图版 I:14); 30 月龄时期, 汇管区数量和动脉数增加极显著( $P < 0.01$ , 表 2), 胆管和小动脉以及大静脉伴行, 以胆管动脉型和胆管动静脉型为主(图版 I:15)。

表 1 不同月龄虹鳟肝被膜厚度及肝细胞大小 (Mean  $\pm$  SD,  $n = 10$ )

Table 1 The size of hepatocyte and tunicle in liver of *Oncorhynchus mykiss* at different ages

长度指标 Size ( $\mu\text{m}$ )	8 月龄 8-month old	20 月龄 20-month old	30 月龄 30-month old
被膜 Tunicle	$0.72 \pm 0.03$	$1.14 \pm 0.02^b$	$1.87 \pm 0.08^b$
肝细胞长径 Long diameters of hepatocyte	$20.23 \pm 1.25$	$20.34 \pm 1.65^a$	$20.54 \pm 1.03^a$
肝细胞短径 Short diameters of hepatocyte	$12.44 \pm 0.80$	$13.21 \pm 1.04^a$	$12.45 \pm 0.95^a$
细胞核大小 Nuclear diameters	$7.21 \pm 0.15$	$6.72 \pm 0.46^a$	$7.52 \pm 0.64^a$

同行上标 a 表示与 8 月龄指标相比较差异性不显著( $P > 0.05$ ), b 表示与 8 月龄指标相比差异性极显著( $P < 0.01$ )。

The different lowercases in the same row indicate significant difference between different ages; a. No significant differences,  $P > 0.05$ ; b. Highly significant difference,  $P < 0.01$ .

表 2 不同发育阶段虹鳟肝内汇管区及动脉数量变化 (Mean ± SD, n = 10)

Table 2 The number of portal area in liver of *Oncorhynchus mykiss* at different ages

	8 月龄 8-month old	20 月龄 20-month old	30 月龄 30-month old
汇管区 Portal	1.954 6 ± 0.301 1 <sup>a</sup>	2.241 6 ± 0.044 4 <sup>b</sup>	3.180 8 ± 0.060 9 <sup>c</sup>
动脉 Artery	0.131 0 ± 0.040 3 <sup>a</sup>	1.087 1 ± 0.102 3 <sup>b</sup>	2.015 5 ± 0.093 6 <sup>c</sup>

上标 a 表示 8 月龄与 20 月龄相比差异性不显著 ( $P > 0.05$ ), b 表示 20 月龄与 30 月龄相比差异性显著 ( $0.01 < P < 0.05$ ), c 表示 8 月龄与 30 月龄相比差异性极显著 ( $P < 0.01$ )。

The different lowercases in the same row indicate significant difference between different ages; a. No significant differences,  $P > 0.05$ ; b. Significant difference,  $0.01 < P < 0.05$ ; c. Highly significant difference,  $P < 0.01$ .

## 2.2 不同月龄虹鳟肝超微结构的特点

电镜观察,虹鳟肝细胞内粗面内质网、游离核糖体、脂滴尤为丰富,且随机体发育,肝星状细胞内脂质含量及血窦内皮细胞内胞饮泡大量增加。

### 2.2.1 肝细胞超微结构

肝细胞单核为主,核周有丰富的平行排列的粗面内质网,肝细胞之间紧密连接,血窦面基底膜形成大量粗细不均、长短不等的微绒毛突入 Disse 间隙内。8 月龄肝细胞内溶酶体很少,胞质内散在丰富线粒体,糖原颗粒形成较小的糖原潴池(图版 II:1~4)。20 月龄及 30 月龄肝细胞内质网之间有丰富的核糖体,胞质内含大量脂滴,溶酶体丰富,大量糖原颗粒形成大小不等的糖原潴池(图版 II:5~7)。

### 2.2.2 肝血窦超微结构

肝血窦内皮细胞扁平,无基底膜,核细长、突向管腔;内皮细胞在胞质边缘形成折叠结构,有丰富的胞质孔;细胞器很少,可见少量线粒体和粗面内质网,近血窦面和 Disse 面可见胞饮小泡。血窦腔内巨噬细胞伸出数个细小胞突形成伪足与血窦内皮细胞相连(图版 II:4,7)。

不同月龄血窦内均含有巨噬细胞和红细胞,8 月龄血窦腔内巨噬细胞核大、胞质少,无典型吞噬体(图版 II:1),20 月龄巨噬细胞具有典型的胞质突,无明显吞噬泡(图版 II:4)。30 月龄巨噬细胞胞质内有大量的吞噬泡,含少量糖原颗粒(图版 II:7)。

### 2.2.3 Disse 间隙超微结构

Disse 间隙内肝星状细胞核较大、形状不规则,内含丰富染色质,胞质非常少,致核向内凹陷,核周有少量粗面内质网,线粒体相对较多;可见少量糖原颗

粒;胞质向四周辐射出多个胞突,延伸至相邻肝细胞之间(图版 II:1),或包绕血窦,少量胶原纤维束散在肝星状细胞周围(图版 II:4);肝细胞形成粗细不均、长短不等微绒毛突向 Disse 间隙,各月龄组 Disse 间隙均没有观察到 Kupffer 细胞,偶见巨噬细胞。

### 2.2.4 胆小管超微结构

形成胆小管的相邻肝细胞呈缝隙连接,细胞膜向内凹陷,形成丰富的微绒毛呈菊花状排列突向毛细胆管腔,胆小管由连接复合体相连,与血窦不相通。20 及 30 月龄胆小管周分布有纤维细胞及胶原纤维束;数个梭形胆管上皮细胞组成胆小管,其外有基底膜包绕,使胆管上皮细胞与肝细胞隔开,管腔内无微绒毛,各月龄组超微结构无显著区别(图版 II:8,9)。

## 3 讨论

### 3.1 虹鳟肝被膜结构特征

鱼类肝被膜在不同种属厚薄各异。研究报道南方鲇 (*Silurus meridionalis*) (刘怀如等 2002) 与瓦氏黄颡 (*Pelteobagrus vachelli*) (谢碧文等 2004) 的肝被膜较厚,分别为 10~86  $\mu\text{m}$  和 13.1~51  $\mu\text{m}$ , 而翘嘴鲌 (*Culter alburnus*)、大鳍鱮 (*Mystus macropterus*) 和斑鳊 (*Siniperca scherzeri*) (熊洪林 2006) 的肝被膜较薄,分别为 (2.38 ± 1.15)  $\mu\text{m}$ 、(1.09 ± 0.39)  $\mu\text{m}$  和 (1.91 ± 0.89)  $\mu\text{m}$ 。研究表明,5 龄虹鳟肝被膜及实质间结缔组织占据实质部分 5% (Hampton et al. 1989), 而大鳍鱮仔鱼前期肝结构不完善,从仔鱼后期向稚鱼期过渡过程中,被膜等组织结构发生变化,功能日趋完善(熊洪林 2006), 本研究中虹鳟肝被膜深层结

缔组织内胶原纤维、弹性纤维和网状纤维随月龄增加明显,8月龄与20月龄及30月龄相比差异显著,表明肝被膜厚度和成分随其发育阶段逐渐完善。

**3.2 虹鳟肝细胞结构特征** 鱼类肝细胞大小因种属而异,研究报道鲢(*Cirrhinus molitorella*)的肝细胞为10~18  $\mu\text{m}$ ,鲫鱼(*Carassius cuvieri*)肝细胞16~22  $\mu\text{m}$ ,泥鳅(*Oriental weatherfish*)肝细胞12~14  $\mu\text{m}$ ,胡子鲇(*Claris fuscus*)肝细胞9~12  $\mu\text{m}$ (楼允东 2002),棕鳟肝细胞为20~13  $\mu\text{m}$ (Eduardo et al. 1994)。研究表明虹鳟肝细胞大小表现出显著性别差异,5龄产卵雌性肝细胞容积较小,只有雄性肝细胞体积的60%,差异是由于雌性细胞质体积减少(Hampton et al. 1989)。本研究各月龄虹鳟肝细胞均为卵圆或椭圆,肝细胞及核大小在各月龄间差异不显著,8月龄肝板结构不明显,20月龄及30月龄虹鳟双层肝细胞板形成管式排列,且肝细胞血窦面形成绒毛样突起。因此,虹鳟肝细胞大小在性成熟之前基本不变,且与棕鳟肝细胞大小近似;肝细胞管式排列逐渐完善,提高肝细胞与血窦、Disse 间隙物质交换调控能力。

与哺乳动物相比,鱼类肝细胞存在相对较高的糖原和脂质,不同鱼种之间,肝中糖原和脂质存在明显差异。如虹鳟肝脏贮存最主要的是糖原(Hinton et al. 2001),而条纹鲈(*Morone saxatilis*)的肝则贮存量糖原和脂质的混合物,沙鲨(*Psammonarus spp.*)肝有大量脂肪积累(Rossouw 1987)。鱼类处于饥饿状态下时,肝还能保存大量的糖原,尤其是人工养殖鱼肝细胞的营养性脂质积累,染色后肝细胞内会形成空泡(Jeffrey et al. 2005)。本研究不同月龄组虹鳟肝细胞都存在明显空泡,20月龄最为明显。研究表明鱼类葡萄糖动态平衡调控机制在长期进化过程中是保守的,近20年,集约化养殖鱼配方往往同时增加脂肪和碳水化合物,常在鱼类脂肪沉积方面产生不利影响以及导致糖耐量受损(impaired glucose tolerance, IGT)(Polakof et al. 2011)。本研究中8月龄、20月

龄及30月龄虹鳟肝血窦壁上PAS阳性颗粒形成明显红色条带,Disse 间隙和肝细胞中均含有丰富糖原颗粒;20月龄虹鳟肝细胞电镜下糖原蓄池最多,说明糖原分布模式和局部定位如哺乳动物一样优先分布于肝。研究发现鳟调节血糖能力有限,脂肪和碳水化合物配合比例对虹鳟肝的改变产生很重要的影响,饲料中较高比例碳水化合物会引起长期高血糖(Subramanian et al. 2012)。这些都提示在生产实践中针对不同月龄阶段,对虹鳟日饲料量进行控制,以适应其氧化代谢及生理极限的调节。

**3.3 肝血窦及 Disse 间隙结构特点** 肝血窦位于肝细胞之间,主要由窦壁细胞构成,细胞扁平形如“网筛”,对肝内微循环起重要的调节作用。研究报道虹鳟(Hampton et al. 1989)、棕鳟(Eduardo et al. 1994)、大西洋鲑(*Salmo salar*)(Speilberg et al. 1994)和斑鳅(*Siniperca chuatsi*)(熊洪林 2006)肝窦内皮细胞存在大量胞质孔,可参与肝细胞与血窦间物质交换以及对血液微循环进行调控。Ferri等(1981)给斑油鲈(*Pimelodus maculatus*)血管注射墨汁后发现肝血窦内皮细胞有含墨汁颗粒的胞饮囊泡。本研究8月龄、20月龄和30月龄肝血窦内皮基本结构相同,肝窦内皮细胞存在大量胞质孔,且在核周及胞质内也含有胞饮囊泡;且内皮细胞胞质孔没有完全被肝星状细胞突起覆盖,维持Disse 间隙与血窦畅通。Hinton等(2001)研究认为除了少数鲇(*Silurus spp.*)外,绝大多数鱼肝组织中并不存在Kupffer细胞。本研究中各月龄组虹鳟肝血窦中均存在巨噬细胞,具有典型的胞质突,且在30月龄巨噬细胞胞质内有大量的吞噬泡,含少量糖原颗粒;Disse 间隙有少量巨噬细胞;但各月龄段均未观察到Kupffer细胞。

Disse 间隙是位于扁平的肝血窦内皮细胞与肝细胞间的狭窄空隙,主要由肝血窦内皮细胞、肝细胞、肝星状细胞与胶原纤维、网状纤维等细胞外基质共同参与形成,与哺乳动物相比,鱼肝Disse 间隙中存在大量肝星状细胞(Eduardo et al. 1994, Hinton et al. 2001, Geerts

2001, Jeffrey et al. 2005), 主要作用是合成细胞外基质, 贮存脂肪和维生素 A, 参与调节肝内血流速度和门管区血压 (Fraser 1995, Geerts 2001)。肝星状细胞普通染色很难显示, 1958 年, Suzuki 首次用银染法观察到 Disse 腔内肝星状细胞存在; Hampton 等 (1985, 1988, 1989) 观察 5 龄虹鳟肝星状细胞内含有脂滴、溶酶体及囊泡; 本研究通过 Golgi 法清楚观察到肝星状细胞内含大量脂质, 致核凹陷, 胞体向四周辐射出数个胞突, 与多个肝细胞和血窦内皮细胞相连。七鳃鳗 (*Lampetra japonica*) (Peek et al. 1979)、鲑 (Hinton et al. 1984) 和棕鳟 (Eduardo et al. 1994) 等 Disse 间隙内有成束胶原纤维分散在肝星状细胞与血窦内皮细胞之间。Speilberg 等 (1994) 观察到大西洋鲑 Disse 间隙丰富网状纤维及成簇胶原纤维束纤丝粘连在血窦内皮细胞上, 且与肝星状细胞相连, 认为肝星状细胞可通过胞突收缩扩张功能参与调节肝内血液微循环。本研究中各月龄组 Disse 间隙内均可见成束散在胶原纤维, 随着机体发育 Disse 间隙胶原纤维及网状纤维含量逐渐增加, 30 月龄血窦壁丰富的网状纤维与被膜、中央静脉及汇管区结缔组织互相延伸, 构成肝完整骨架, 有利于调节肝细胞与血窦之间物质交换, 维持肝细胞正常生理功能。

**3.4 虹鳟肝胆管系统显微结构特征** 鱼类肝汇管区结构形式因种系而异。硬骨鱼肝汇管区结构分为胆管孤管型、胆管动脉型、胆管静脉型及胆管静脉动脉型, 鲤形目、鲈形目汇管区大多以胆管独立型或胆管动脉型为主; 金眼鲷目以胆管静脉型为主; 鲈形目则呈多样性, 各种结构形式均有 (Akiyoshi et al. 2004)。2 龄棕鳟以胆管-动脉型为主, 偶尔会出现胆管-静脉-动脉型 (Eduardo et al. 1994)。本研究结果 8 月龄时汇管区数量较少, 以胆管独立型为主, 20 月龄时汇管区以胆管动脉型为主, 与 2 龄棕鳟的研究结果一致, 30 月龄时汇管区数量增加, 胆管和小动脉以及大静脉伴行, 与 Hampton 等 (1988) 对 5 龄虹鳟研究结果一致, 表明鱼肝汇管区结构形式具有物种特异性; 但鲑之间并无

显著性种间差异, 且和肝发育程度有密切关系。

鱼类肝分解异生性物质的能力相对较低 (Kelly 1993), 本研究中相邻肝细胞缝隙连接清晰, 游离缘细胞膜形成指状微绒毛突向 Disse 间隙, 两相邻肝细胞外侧面凹陷形成胆毛细管, 其不与血窦相通, 而肝细胞基底侧朝向血窦, 这与 Hinton 等 (2001) 研究相一致, 其重要意义在于相对降低了肝细胞对一些化学物质的摄入, 而鱼类肝血窦相对较缓慢的血液流速则增加了物质进入 Disse 间隙交换几率。本研究中各月龄实质部分结缔组织不发达, 但胆管壁网状纤维和胶原纤维均较为丰富。研究表明哺乳动物肝病时, 实质大量损伤后在组织修复阶段易导致肝纤维化 (Ferguson 1989), 而鱼类肝病时, 肝细胞损伤易发生坏死, 实质纤维化很少, 而以胆管为中心形成的胆管纤维化却很普遍 (Boorman et al. 1997), 表明鱼类因炎症或毒素引起的胆管纤维化与其肝实质内结缔组织的构成比例相关, 其发生机理需要进一步研究证实。

## 参 考 文 献

- Akiyoshi H, Inoue A. 2004. Comparative histological study of teleost livers in relation to phylogeny. *Zoological Society*, 21 (8): 841-850.
- Boorman G A, Botts S, Bunton T E, et al. 1997. Diagnostic criteria for degenerative, inflammatory, proliferative nonneoplastic and neoplastic liver lesions in medaka (*Oryzias latipes*): consensus of a National Toxicology Program Pathology Working Group. *Toxicologic Pathology*, 25 (2): 202-210.
- Eduardo R, Rogerio A, Monteiro F, et al. 1994. The liver of the brown trout, *Salmo truttafario*: a light and electron microscope study. *Journal of Anatomy*, 185 (2): 241-249.
- Ferguson H W. 1989. *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Comparative Tissue Responses in Diseases of Teleosts*. Ames, IA: Iowa State University Press, 263.
- Ferri S, Sesso A. 1981. Ultrastructural study of the endothelial cells in teleost liver sinusoids under normal and experimental conditions. *Cell and Tissue Research*, 219 (3): 649-657.
- Fraser R, Dobbs B R, Rogers G W. 1995. Lipoproteins and the liver sieve: The role of the fenestrated sinusoidal endothelium in lipoprotein metabolism, atherosclerosis and cirrhosis. *Hepatology*, 21 (3): 863-874.

- Geerts A. 2001. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Seminars in Liver Disease*, 21(3): 311–335.
- Hampton J A, Lantz R C, Goldblatt P J, et al. 1988. Functional units in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) liver: II. The biliary system. *The Anatomical Record*, 221(2): 619–634.
- Hampton J A, Lantz R C, Hinton D E. 1989. Functional units in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) liver: III. Morphometric analysis of parenchyma, stroma, and component cell types. *The American Journal of Anatomy*, 185(1): 58–73.
- Hampton J A, McCuskey P A, McCuskey R S, et al. 1985. Functional units in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) liver: I. Arrangement and histochemical properties of hepatocytes. *The Anatomical Record*, 213(2): 166–175.
- Hinton D E, Segner H, Braunbeck T. 2001. Toxic responses of the liver//Schlenk D, Benson W H. *Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts*. London: Taylor & Francis, 224–268.
- Hinton D E, Walker E R, Pinkstaff C A, et al. 1984. Morphological survey of teleost organs important in carcinogenesis with attention to fixation. *National Cancer Institute Monograph*, 65: 291–320.
- Jeffrey C, Wolf E R, Marilyn J, et al. 2005. A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. *Toxicologic Pathology*, 33(1): 75–85.
- Kelly W R. 1993. In *Pathology of Domestic Animals*. San Diego: Academic Press Inc., 319–406.
- Nagler J J, Cavileer T D, Verducci J S, et al. 2012. Estrogen receptor mRNA expression patterns in the liver and ovary of female rainbow trout over a complete reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 178(3): 556–561.
- Peek W D, Sidon E W, Youson J H, et al. 1979. Fine structure of the liver in the larval lamprey, *Petromyzon rnarinus*: hepatocytes and sinusoids. *The American Journal of Anatomy*, 156(2): 231–250.
- Polako S, Skiba-Cassy S, Choubert G, et al. 2010. Insulin-induced hypoglycaemia is co-ordinately regulated by liver and muscle during acute and chronic insulin stimulation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Experimental Biology*, 213(19): 1443–1452.
- Polakof S, Mommsen T W, Soengas J L. 2011. Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 160(4): 123–149.
- Rossouw G J. 1987. Function of the liver and hepatic lipids of the lesser sand shark, *Rhinobatos annulatus* (Müller & Henle). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 86(4): 785–790.
- Speilberg L, Evensen, Nafstad P. 1994. Liver of juvenile atlantic salmon, *Salmo salar*: A light, transmission, and scanning electron microscopic study, with special reference to the sinusoid. *Anatomical Record*, 240(3): 291–307.
- Subramanian S, Johan W, Schramal A. et al. 2012. Constraints on energy intake in fish: the link between diet composition, energy metabolism, and energy intake in rainbow trout. *PLoS One*, 7(4): e34743.
- William D E, Bailey G S, Reddy A, et al. 2003. The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tumor model: recent applications in low-dose exposures to tumor initiators and promoters. *Oxicologic Pathology*, 31(1): 58–61.
- Williams D E. 2012. The rainbow trout liver cancer model: response to environmental chemicals and studies on promotion and chemoprevention. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155(1): 121–127.
- 方展强, 郑文彪, 符路娣. 2002. 苏氏鲈肝脏的超微结构. *中国水产科学*, 9(4): 296–299.
- 刘怀如, 潘宝平. 2002. 南方鲇消化道组织形态学的研究. *天津师范大学学报: 自然科学版*, 22(4): 38–42.
- 楼允东. 2002. *组织胚胎学*. 北京: 中国农业出版社, 109–112.
- 谢碧文, 岳兴建, 张耀光. 2004. 瓦氏黄颡鱼肝和胰的组织学及超微结构. *西南农业大学学报: 自然科学版*, 26(5): 645–653.
- 熊洪林. 2006. 翘嘴鲌、大鳍鲃和斑鳅肝脏胰脏的形态学研究. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 25–26.
- 杨丽丽, 方展强. 2012. 唐鱼肝脏显微和超微结构观察. *四川动物*, 31(2): 274–277.

## 图版 I 说明

### 不同月龄虹鳟肝组织显微结构

1. 8 月龄肝, Masson 染色,  $\times 400$ ; 2. 20 月龄肝, Masson 染色,  $\times 400$ ; 3. 30 月龄肝, Masson 染色,  $\times 400$ ; 4. 8 月龄肝, PAS 染色,  $\times 1\ 000$ ; 5. 20 月龄肝, PAS 染色,  $\times 1\ 000$ ; 6. 30 月龄肝, PAS 染色,  $\times 1\ 000$ ; 7. 8 月龄 HSC 细胞, Golgi 染色,  $\times 1\ 000$ ; 8. 20 月龄 HSC 细胞, Golgi 染色,  $\times 1\ 000$ ; 9. 30 月龄 HSC 细胞, Golgi 染色,  $\times 1\ 000$ ; 10. 8 月龄汇管区, Masson 染色,  $\times 400$ ; 11. 20 月龄汇管区, Masson 染色,  $\times 400$ ; 12. 30 月龄汇管区, Masson 染色,  $\times 400$ ; 13. 8 月龄汇管区, Gomori 染色,  $\times 400$ ; 14. 20 月龄肝, Gomori 染色,  $\times 400$ ; 15. 30 月龄汇管区, Gomori 染色,  $\times 400$ 。

## Explanation of Plate I

### Microstructure of the liver tissue in *Oncorhynchus mykiss* at different ages

1. The liver of 8-month *O. mykiss*, stained by Masson,  $\times 400$ ; 2. The liver of 20-month *O. mykiss*, stained by Masson,  $\times 400$ ; 3. The liver of 30-month *O. mykiss*, stained by Masson,  $\times 400$ ; 4. The liver of 8-month *O. mykiss*, stained by PAS,  $\times 1\ 000$ ; 5. The liver of 20-month *O. mykiss*, stained by PAS,  $\times 1\ 000$ ; 6. The liver of 30-month *O. mykiss*, stained by PAS,  $\times 1\ 000$ ; 7. The HSC cell of 8-month *O. mykiss*, stained by Golgi,  $\times 1\ 000$ ; 8. The HSC cell of 20-month *O. mykiss*, stained by Golgi,  $\times 1\ 000$ ; 9. The HSC cell of 30-month *O. mykiss*, stained by Golgi,  $\times 1\ 000$ ; 10. The portal of 8-month *O. mykiss*, stained by Masson,  $\times 400$ ; 11. The portal of 20-month *O. mykiss*, stained by Masson,  $\times 400$ ; 12. The portal of 30-month *O. mykiss*, stained by Masson,  $\times 400$ ; 13. The portal of 8-month *O. mykiss*, stained by Gomori,  $\times 400$ ; 14. The portal of 20-month *O. mykiss*, stained by Gomori,  $\times 400$ ; 15. The portal of 30-month *O. mykiss*, stained by Gomori,  $\times 400$ .

A. 动脉; BD. 胆管; CF. 胶原纤维; Gly. 糖原; HSC. 肝星状细胞; PV. 汇管区静脉; RF. 网状纤维; Tu. 被膜。

A. Artery; BD. Bile duct; CF. Collagen fiber; Gly. Glycogen; HSC. Hepatic stellate cell; PV. Portal Vein; RF. Reticular fiber; Tu. Tunicle.

## 图版 II 说明

### 不同月龄虹鳟肝组织超微结构

1. 8 月龄血窦和窦状隙,  $\times 5\ 000$ ; 肝星状细胞局部放大  $\times 20\ 000$ ; 2. 8 月龄前胆管,  $\times 10\ 000$ ; 3. 8 月龄肝细胞血窦面,  $\times 3\ 000$ ; 4. 20 月龄血窦和窦状隙,  $\times 5\ 000$ ; 5. 20 月龄肝细胞,  $\times 30\ 000$ ; 6. 20 月龄肝细胞之间紧密连接,  $\times 3\ 000$ ; 7. 30 月龄血窦,  $\times 5\ 000$ ; 8. 30 月龄前胆管,  $\times 10\ 000$ ; 胆管上皮细胞之间的桥粒局部放大,  $\times 30\ 000$ ; 9. 30 月龄毛细胆管,  $\times 30\ 000$ 。

## Explanation of Plate II

### Ultrastructure of the liver tissue in *Oncorhynchus mykiss* at different ages

1. The sinusoid and the Disse space of 8-month *O. mykiss*,  $\times 5\ 000$ ; Fine structure of stellate,  $\times 20\ 000$ ; 2. The sinusoid side of 8-month *O. mykiss*,  $\times 10\ 000$ ; 3. The biliary canaliculi of 8-month *O. mykiss*,  $\times 3\ 000$ ; 4. The sinusoid and the Disse space of 20-month *O. mykiss*,  $\times 5\ 000$ ; 5. The hepatocyte of 20-month *O. mykiss*,  $\times 30\ 000$ ; 6. The tight junction of hepatocyte in 20-month *O. mykiss*,  $\times 3\ 000$ ; 7. The sinusoid of 30-month *O. mykiss*,  $\times 5\ 000$ ; 8. The bile preductule of 30-month *O. mykiss*,  $\times 10\ 000$ ; Fine structure of desmosomes,  $\times 30\ 000$ ; 9. The biliary canaliculi of 30-month *O. mykiss*,  $\times 30\ 000$ .

BC. 内胆小管; BL. 基膜; CF. 胶原纤维; D. Disse 间隙; EC. 胆管内皮细胞; En. 血窦内皮细胞; Ery. 有核红细胞; F. 纤维样细胞; Gly. 糖原; HC. 肝细胞; HSC. 肝星状细胞; JC. 紧密连接; Li. 脂滴; Ly. 溶酶体; M. 巨噬细胞; Mi. 线粒体; Mv. 微绒毛; N. 细胞核; NP. 核孔; Pv. 胞饮泡; RER. 粗面内质网; Sin. 血窦; O. 桥粒。

BC. Biliary canaliculi; BL. Basal lamina; CF. Collagen fiber; D. The space of Disse; EC. The epithelial biliary cells; En. Endothelial cell; Ery. Erythrocyte; F. Fibrocyte-like cells; Gly. Glycogen; HC. Hepatocyte; HSC. Hepatic stellate cell; JC. Tight junction; Li. Lipid droplets; Ly. Lysosome; M. Macrophage cell; Mi. Mitochondria; Mv. Microvilli; N. Nucleus; NP. Nuclear pore; Pv. Pinocytotic vesicle; RER. Rough endoplasmic reticulum; Sin. Sinusoid; O. Desmosomes.

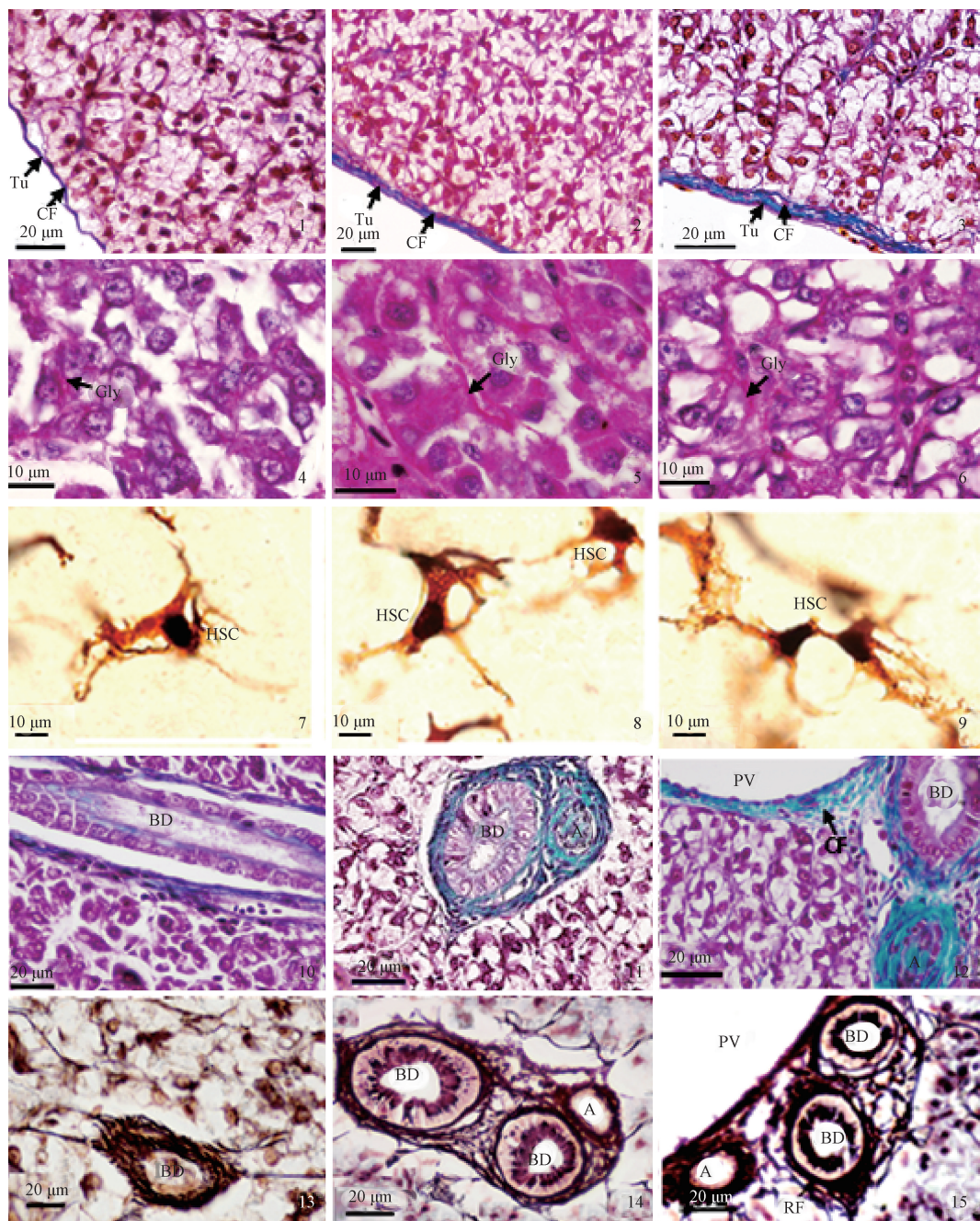
袁莉刚等:不同月龄虹鳟肝显微及超微结构特征

图版 I

YUAN Li-Gang *et al.*: Microstructure and Ultrastructure of the Liver Tissue in *Oncorhynchus mykiss*

at Different Ages

Plate I



图版说明见文后

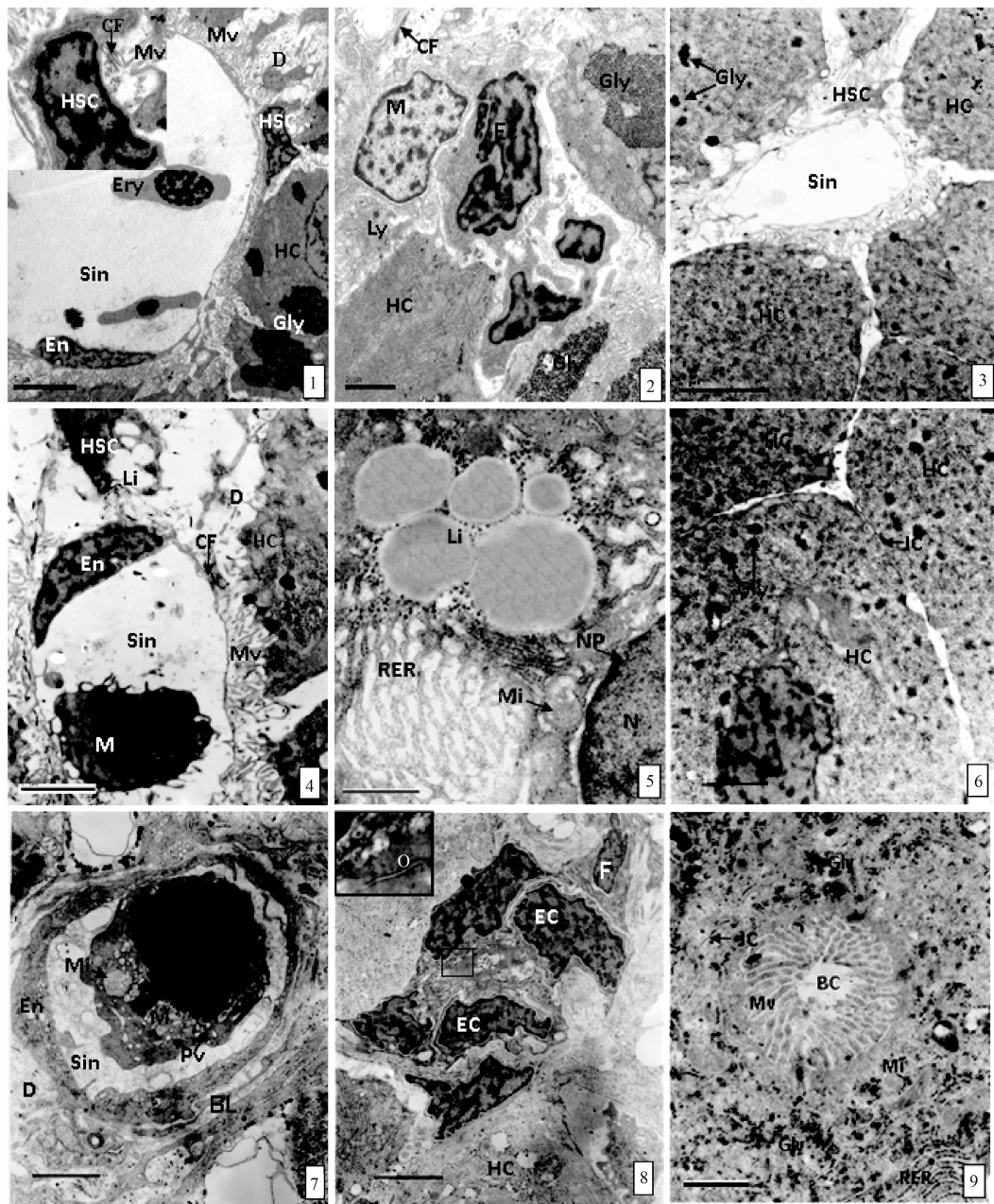
袁莉刚等:不同月龄虹鳟肝显微及超微结构特征

图版 II

YUAN Li-Gang *et al.*: Microstructure and Ultrastructure of the Liver Tissue in *Oncorhynchus mykiss* at

Different Ages

Plate II



图版说明见文后