

8-14

第 25 卷 第 1 期
1997 年 2 月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol. 25 No. 1
Feb. 1997

猪体脂肪形成的细胞学和形态学研究*

杨公社 邱 怀 路兴中

(西北农业大学动物科学系, 陕西杨陵 712100)

摘 要 通过对初生~180 日龄的关中黑猪和长白猪背部皮下脂肪的组织形态学观察和细胞学参数的测定及其变化模式的综合分析, 证明猪体脂肪形成主要是脂肪细胞的肥大作用。脂肪细胞的生长机制在不同经济类型猪种间有明显差异, ①无论是脂肪细胞的肥大作用, 还是脂肪细胞的增殖能力, 关中黑猪都强于长白猪; ②关中黑猪脂肪细胞的生长在 120 日龄以后明显加快, 而长白猪则较稳定; ③关中黑猪的细胞学参数表现为二相分布, 而非一般的正态分布或高斯分布。

关键词 猪, 脂肪形成, 细胞参数, 形态学, 机制**中图分类号** S828.1, S828.6, S828.2

在肉用家畜中, 猪的肥胖程度最高, 脂肪沉积最迅速。初生时, 脂肪仅占胴体重的 0.5%~1.0%, 经半年生长, 即可达到胴体重的 30%~40%。因此, 无论对于选种还是猪肉生产, 脂肪的形成速度和质量, 都非常重要。然而, 由于社会经济发展以及人们自身认识水平等的限制, 迄今为止, 尤其是在本世纪 80 年代以前, 人们很少关注这一问题。无论是有关猪脂肪细胞的分化、分裂、增殖与肥大等细胞学过程, 还是有关猪脂肪的代谢特征, 以及脂肪形成的遗传调控等, 都未见报道。近年来, 西方国家才开始有这方面的初步研究报道^[1~3]。极易沉积脂肪, 是中国猪种产品形成过程的一大特性, 也是中国猪种瘦肉率低、产肉量少的重要原因^[4]。因此, 研究中国猪种脂肪的形成机制, 具有重要的理论与实际意义。本文是作者对猪体脂肪形成过程中的脂肪学机制的初步研究结果。

1 材料与方法

1.1 试验动物及其饲养

根据本课题的研究需要, 并结合本地猪源, 选关中黑猪和长白猪各 8 头(公母各半)作为试验动物。试验猪在断奶(60 日龄)前以哺乳为主, 并按常规技术与要求补饲。断奶后, 按生长肥育猪饲养标准配制日粮(表 1)。试验猪按品种分圈, 湿拌料尽饲。

表 1 试验猪日粮营养水平

日 龄	消化能(MJ/kg)	粗蛋白(%)	钙(%)	磷(%)
20~50	14.63	20	0.8	0.6
50~80	14.63	18	0.8	0.6
80~120	13.79	16	0.7	0.5
120~180	12.54	14	0.7	0.5

收稿日期: 1996-06-10

* 国家自然科学基金资助项目

1.2 样品采集与预处理

两个品种的试验猪分别于生后1~2,30,60,90,120,150和180 d,利用活组织采样技术,在背部取皮下脂肪 $1 \times 2 \text{ cm}^3$ 两块(表面积 2 cm^2 ,厚度1 cm),其中一块用Borin's氏固定液固定,备作石蜡切片。另一块存于超低温冰箱中备作冰冻切片^[5]。

1.3 样品分析方法

1.3.1 组织形态学观测 分别用石蜡切片和冰冻切片,在光学显微镜下观察脂肪组织的形态学特征及其在猪生长发育过程中的变化。观察项目包括脂肪细胞的形态与结构、结缔组织及其他间质成份、毛细血管等的形态结构,以及脂肪细胞内糖元和脂质等物质的积累过程。

1.3.2 细胞学参数测定 将已包埋好的石蜡块切成 $5 \sim 10 \mu\text{m}$ 的切片,用Harris苏木精和曙红作常规染色,然后再分别用PAS试剂和苦味酸朱红染色,分别标记糖元和结缔组织。此外,在恒温切片箱(-20°C)将新鲜冰冻脂肪组织样品切成 $30 \mu\text{m}$ 的片子,用油红O染色以标记脂质、Harris苏木精染色以标记糖元和细胞核。

上述两种片子均在光镜下观测并拍照。

细胞学参数测定用石蜡切片,按照Sjostrom(1971)等的方法测定脂肪细胞的直径^[6]。每个样品测50个脂肪细胞,以均值示之。根据细胞直径分别按下式计算脂肪细胞的平均表面面积和体积。

$$\text{平均表面面积}(A) = \pi \sum f_i D_i^2 / \sum f_i$$

$$\text{平均体积}(V) = \pi/6 \sum f_i D_i^3 / \sum f_i$$

式中: D_i 为细胞直径; f_i 系直径为 D_i 的细胞数。

2 结果与分析

2.1 组织和细胞形态学特征

2.1.1 脂肪细胞的间质组织 间质组织在生长发育的不同阶段和两猪种间特征表现明显。幼龄猪的皮下脂肪组织中含有大量的脂肪细胞,这些脂肪细胞都呈束存在。在脂肪细胞之间有大量的间质组织(图版1)。间质组织的含量在初生时最多,以后随着年龄的增长而下降。长白猪的间质主要由结缔组织纤维组成。这些纤维表现为较小的非组织的纤维网或是一些较大的纤维束。而在关中黑猪,脂肪细胞周围是一种非结缔组织纤维的物质,呈PAS阳性(图版2)。关中黑猪的脂肪细胞膜呈PAS阳性,而长白猪则呈PAS阴性(图版4)。此外,还发现关中黑猪的间质组织中有粒状细胞,而在长白猪未见到。

2.1.2 毛细血管 幼龄时,脂肪组织中的毛细血管均有一些较大的血管腔,沿血管壁可见有较多的细胞核(图版3)。随着日龄的增长和脂肪细胞的肥大,脂肪细胞周围的毛细血管腔径变小,管壁周围的细胞核也减少。在PAS切片中可见长白猪血管壁有明显的轮廓。而在关中黑猪未见到。这显示,关中黑猪脂肪组织的毛细血管周围的基膜可能非常之薄。

2.1.3 前体脂肪细胞 幼龄猪,尤其是长白幼龄猪,可见到大量的无脂质细胞。同时也可见到一些成纤维细胞和前体脂肪细胞的过渡形态(图版5)。随着日龄的增长和脂肪细胞



图版 1. 长白初生猪脂肪细胞束(箭头所指)以及周围的间质组织。2. 关中黑猪的单室脂肪细胞(u)膜呈 PAS 阳性。3. 长白猪(A)和关中黑猪(B)的石蜡切片, 图示小的脂肪细胞(a)旁边的毛细血管(c)腔大, 而大的脂肪细胞(u)旁的毛细血管(c)腔小。4. 长白猪的单室脂肪细胞(u)膜呈 PAS 阴性(染色很浅)。5. 典型的成纤维细胞与前体脂肪细胞间的过渡形态(t)。6. 关中黑猪脂肪组织中的无脂质前体脂肪细胞(箭头所指)。7. A: 30 日龄关中黑猪脂肪组织中的多小室脂肪细胞(箭头所指), 以及周围较大的单室脂肪细胞。B: 大的脂肪细胞(a)位于结缔组织束(f)附近。

的肥大,核仁周围的染色体逐渐增多,细胞质位于核的周围或细胞基部。同时亦可观察到无脂质的前体脂肪细胞(图版 6)。

2.2 细胞学参数

表 2 长白猪(L)和关中黑猪(G)的脂肪细胞学参数

日龄	多小室脂肪细胞频率 (%)		脂细胞直径 (μm)		脂细胞表面面积 ($\mu\text{m}^2 \times 10^{-2}$)		脂细胞体积 ($\mu\text{m}^3 \times 10^{-3}$)	
	G	L	G	L	G	L	G	L
1~2	100	80	18.4 $\pm$ 0.66	24.6 $\pm$ 1.54	21.7 $\pm$ 3.41	27.1 $\pm$ 4.53	14.7 $\pm$ 3.01	19.3 $\pm$ 6.92
30	35	30	57.4 $\pm$ 2.82	46.5 $\pm$ 1.72	95.4 $\pm$ 6.22	89.4 $\pm$ 7.24	121.4 $\pm$ 6.72	109.4 $\pm$ 8.12
60	25	2	82.6 $\pm$ 3.77	68.4 $\pm$ 4.45	237.1 $\pm$ 6.42	169.4 $\pm$ 4.30	486.7 $\pm$ 17.61	374.6 $\pm$ 11.40
90	20	1~2	83.6 $\pm$ 4.82	77.4 $\pm$ 3.42	327.4 $\pm$ 8.62	229.1 $\pm$ 7.42	647.3 $\pm$ 8.42	427.4 $\pm$ 18.1
120	8	1~2	96.6 $\pm$ 5.77	85.4 $\pm$ 4.67	304.6 $\pm$ 17.12	264.5 $\pm$ 13.11	693.4 $\pm$ 31.62	437.5 $\pm$ 17.21
150	6	0	134.7 $\pm$ 6.26	86.6 $\pm$ 5.01	607.2 $\pm$ 34.51	278.4 $\pm$ 14.12	894.3 $\pm$ 67.51	447.6 $\pm$ 15.44
180	4	0	157.8 $\pm$ 7.54	83.7 $\pm$ 4.75	836.4 $\pm$ 45.11	237.8 $\pm$ 12.32	1127.3 $\pm$ 65.67	428.9 $\pm$ 23.12

2.2.1 多小室脂细胞频率 由表 2 可见,猪年龄越轻,脂肪细胞直径越小,多小室脂肪细胞分布的频率就越高。生后 1~2 d,几乎全为多小室脂肪细胞,之后随着日龄的增长明显减少,尤其是 90 日龄以后最为明显,几乎全为单室脂肪细胞。多小室脂肪细胞的分布在不同猪种间亦有差异,关中黑猪多小室脂肪细胞频率的下降较慢。

经用石蜡切片在显微镜下观察(图版 1),多小室脂肪细胞一般呈小团(束)存在,周围有大量的单室脂肪细胞。据研究,多小室脂肪细胞实质上是一种尚未成熟的脂肪细胞,一般经 50~70 d 就可成熟为单室脂肪细胞。因此,本研究结果显示,关中黑猪脂肪细胞的成熟速度较慢,而长白猪脂肪细胞成熟较早,在 60 日龄之前,就几乎全成熟了。

2.2.2 脂肪细胞大小 由表 2 可见,脂肪细胞直径,脂肪细胞表面面积和脂肪细胞体积这 3 个细胞学参数在整个生长发育阶段都持续地增大,这显示,对脂肪细胞而言,一直在进行着肥大过程。同时,在两个不同经济类型的猪种间,也存在着明显的差异。从脂肪细胞直径来看,具有 3 个方面的特征:①生后 1~2 d 内,关中黑猪小于长白猪($P<0.01$),但经 1 个月的生长,关中黑猪就明显地大于长白猪($P<0.01$),且这种差异随着日龄的增长而加大,到 180 日龄,关中黑猪的脂肪细胞直径几乎是长白猪的 2 倍。②关中黑猪脂肪细胞直径在初生~180 日龄的生长发育期内,一直在稳定地增大,而长白猪脂肪细胞的肥大作用主要发生在 60 日龄以前,之后则比较稳定。③无论是关中黑猪,还是长白猪,脂肪细胞直径在 30 日龄内都增长最快。脂肪细胞表面面积和体积的变化模式与脂肪细胞直径基本相同。

2.2.3 细胞学参数的分布 对脂肪细胞学参数测值的分布进行分析,发现这些参数呈明显的二相分布。这种现象主要发生在关中黑猪,而长白猪不甚明显。以脂肪细胞直径为例,测定结果和几个年龄阶段的分布见表 3。产生这种现象的原因,可能主要是关中黑猪脂肪组织中多小室脂肪细胞含量较多的缘故。该结果进一步说明,猪体脂肪细胞的发育过程具有非同步性,即在生产发育的早期,脂肪细胞的分裂增殖能力较强,后期则主要是细胞的肥大过程。

表 3 关中黑猪脂肪细胞的平均直径

 μm

日龄	分布区 I			分布区 II		
	$\bar{x}$	SD	%	$\bar{x}$	SD	%
1~2	15.6	1.44	92	51.6	1.23	8
30	16.1	1.25	46	92.6	2.14	54
60	18.6	2.76	61	183.1	3.47	39
90	19.4	1.97	41	127.6	4.07	59
120	22.5	2.88	33	134.3	4.76	67
150	26.7	3.67	31	186.4	5.97	69
180	24.6	4.05	35	228.9	5.42	65

3 讨 论

生物体的生长从细胞学水平上看,表现在细胞重量(干重)或数目的增加。在猪体脂肪细胞生长中,脂肪细胞数目的增加实质上是一种增殖(hyperplasia)过程,而脂肪细胞体积的增大和重量的增加实质上是一种肥大(hypertrophy)过程。细胞的生长有两种类型,即正常细胞周期生长和成熟性生长^[7]。后者细胞可超过母细胞的质量限制而持续生长,猪脂肪细胞的生长即属此类型,从本研究结果看,细胞直径、表面面积和体积分别增长了 8.7、38.5 和 80.5 倍。

在动物,除再生性细胞和癌细胞外,其它所有组织器官的生长,实质上都是有限生长。猪脂肪细胞的生长也不例外,只是本研究所用的试验猪尚未达到细胞生长的极限年龄罢了。但从细胞学参数在关中黑猪持续增大,而长白猪后期增大幅度变小的结果可以说明,关中黑猪脂肪细胞的生长极限来得较晚,而瘦肉型长白猪脂肪细胞的生长极限来得较早。

生物体一般在生长发育的早期,是以细胞的增殖为主,而在生长发育的后期则主要是细胞的肥大^[7]。但在动物,除细胞的肥大和增殖外,有时细胞外物质的积累也参与生长过程,如结缔组织的形成实际上也是一种生长形态。猪脂肪的形成同样遵循这一规律。从测定结果看,从初生~180 日龄,脂肪细胞参数在持续增大,显示了脂肪细胞的肥大过程。同时,无论从体积测定还是组织学观察,在生长发育早期有前体脂肪细胞的存在,证明也有脂肪细胞的增殖过程。据 Mersman 等(1986)的报道,猪脂肪组织中脂肪细胞的数目在 20~30 日龄以后就明显下降^[8]。因此,作者认为,猪脂肪细胞的生长主要是靠细胞的肥大作用,而增殖作用较小且主要发生在生长发育的早期。此外,本研究所发现的关中黑猪脂肪细胞参数随着年龄的增长在持续性地增大,而长白猪的变幅较小的事实说明,脂肪型猪种脂肪细胞的肥大作用强于瘦肉型猪种,同时,关中黑猪脂肪组织中小脂肪细胞较多的测定结果显示,脂肪型猪脂肪细胞的增殖过程也强于瘦肉型猪种。

多小室脂肪细胞数目较多,是导致脂肪型猪脂肪细胞学参数表现二相分布的主要原因。对此有几种解释,其中之一就是某些脂肪细胞的成熟速度很慢,经 70 d 甚至更长时间才变为单室细胞。另一种解释,是脂肪型猪脂肪细胞的分生能力较强。

本研究发现,类成纤维细胞(纺锤形细胞、嗜碱性细胞)在增殖期可变为前体脂肪细胞。据 Desnoyers(1980)和 Hausman(1985)分别用光镜和电镜观察,这些前体脂肪细胞在形态学上与成纤维细胞不尽相同^[1,9]。据 Klyde 和 Hirsch(1979)的研究,在日粮中供给脂

类物质的情况下,类成纤维细胞可转变为脂肪细胞^[10]。而类成纤维细胞之所以在胚胎期不能转变为脂肪细胞,是缺乏所需的诱导物所致。

本研究发现,在猪所有生长日龄,均能见到明显的前体脂肪细胞。这一结果与用鼠和人的离体脂肪细胞所得到的观察结果一致^[11]。这一现象多发生在结缔组织束的周围。这显示,结缔组织束是前体脂肪细胞转化的宿主,但在通常情况下,前体脂肪细胞,多小室脂肪细胞以及较小的单室脂肪细胞被较大的单室脂肪细胞所包围,因此,只有在结缔组织束迁移至脂肪细胞间隙的情况下,脂肪细胞的转化才可能发生。

在猪生长发育的早期,脂肪细胞之间及其周围有大量的间隙,因此基质较多。脂肪细胞的肥大可能主要受血管和这些间隙中结缔组织的影响。脂肪组织间质血管组分的变化可能先于并且最终导致脂肪细胞体积的变化。所以,对于脂肪组织间质血管组分发育的研究,将有助于进一步理解脂肪细胞的肥大作用。

据研究,巨型脂肪细胞含有两种主要的生理活性物质,即组织胺和肝素。肝素可以激活脂蛋白酯酶,而后者是控制脂细胞中甘油三酯合成速度的主要酶类。这是脂肪型猪脂肪形成较快的重要因素之一。当然,要最终确定巨型细胞在脂肪代谢中的作用,尚需作更深入的研究。

用 PAS 染色后,脂肪型猪的毛细血管壁不如瘦肉型猪那样明显。原因在于脂肪型猪脂肪细胞间质中 PAS 阳性物质含量较多,这种物质可以标记一种膨胀了的毛细血管基部丰富的层状体,这种层状体中含丰富的碳水化合物,因此可以使分子量较大的底物在毛细血管和脂肪细胞之间流动。而在瘦肉型猪,其间质组织中所具有的高度组织性的结缔组织不能使分子量较大的底物通过。据研究,脂肪型猪脂肪及组织对葡萄糖的吸收和利用能力是瘦肉型猪的 2 倍^[12]。此外,巨型细胞中所含的组织胺和肝素这样一类物质,能够提高血管壁的渗透压,也可以促进底物的流动。

致谢:承蒙西北农业大学动物医学系贾维真和张丽老师协助制作切片,兴平县种猪场协助动物试验,特致谢意!

参 考 文 献

- 1 Desnoyers F. Cellularity of adipose tissue in the fetal Pigs. *J Lipid Res* 1980(21): 301~307
- 2 Geri G. Relationships between adipose tissue characteristics of newborn pigs and subsequent performance. *J Anim Sci* 1990(68): 1922~1943
- 3 Meade C J, Ashwell M. Site differences in fat cells of New Zealand obese mice. *Metabolism*, 1980(29): 854~862
- 4 许振英主编. 中国地方猪种资源研究. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1989
- 5 杜卓民. 实用组织学技术. 北京: 人民出版社, 1982
- 6 Sjoström L. Microscopic fat cell size measurements on frozen cut adipose tissue in comparison with automatic determination of osmium fixed fat cells. *J Lipid Res*, 1971(12): 521~527
- 7 尤复翰主编. 细胞的发育. 南京: 江苏科学技术出版社, 1983
- 8 Mersman H J. Lipid metabolism in swine. *Swine in Cardiovascular Research*, 1986(1): 75~84
- 9 Hausman G J. Cellular and enzyme histochemical aspects of adipose tissue development in obese and lean pig fetuses. *J Anim Sci*, 1985(60): 1539~1547

- 10 Klyde B J. Increased cellular proliferation in adipose tissue of adult rats fed a high fat diet. *J Lipid Res*, 1979 (20):705~713
- 11 Romsos D R. Cellularity and in vitro fatty acid biosynthesis in adipose tissue of meal fed and nibbling rats. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1972(139):868~873
- 12 Martin R J. Comparison of the enzyme levels and in vitro utilization of various substrates for lipogenesis in pair fed lean and obese pigs. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1976(151):231~238

Cytological and Morphological Studies on Adipose Development in Swine

Yang Gongshe Qiu Huai Lu Xingzhong

(Department of Animal Science, Northwestern Agricultural University, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract The comprehensive analysis results obtained from the determination of the adipose tissue in obese (Guangzhong Black) and Lean (Landrace) pigs during birth-180 days old indicated that the adipocyte hypercrophy was mainly the effects of adipose tissue deposition. The significant differences in the adipocyte development mechanism existed between lean and obese pig breeds: (1) The adipocyte hypertrophy and hyterplasia of obese pigs were all stronger than those of the lean pigs. (2) The adipocyte developing rate of obese pigs was faster after 120 days old, while that of the lean pigs remained stable. (3) The adipocyte parameters (diameter, surface area and volume) in obese pigs was presented as biphasic distribution, not as the normal or Gaussian distribution.

Key words swine, adipose deposition, adipocyte parameter, morphology, mechanism

11