

山羊胚胎肝脏发育的超微结构观察^{*}

蒲 鹏, 郑月茂, 卿素珠, 徐永平, 张 涌

(西北农林科技大学 生物工程研究所, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 运用透射电子显微镜对山羊胚胎期肝脏进行了超微结构观察。结果表明, 山羊肝细胞在胚胎早期就有明暗之分。胆小管在胚胎早期已经形成, 胆管由肝母细胞演化而来; 窦状隙随机发生; 肝脏造血以红细胞为主, 且随胚胎的发育, 造血功能逐渐降低。

[关键词] 山羊; 胚胎; 肝脏; 超微结构

[中图分类号] S827.1; S852.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)02-0019-03

肝脏是动物胚胎期较早形成的器官之一, 它不仅参与了糖类、脂类及蛋白质三大代谢过程, 胚胎期的肝脏还具有造血功能。有关胎儿肝脏发生的超微结构观察, 已报道的有人^[1~4]、猪、鼠^[5]等, 作者曾经对山羊胚胎期肝脏进行了组织学研究^[6]。本研究对山羊胚胎期肝脏进行超微结构观察, 旨在为进一步研究其生理功能和发育机理提供形态学资料。

1 材料与方法

1.1 材料来源

从屠宰场刚宰杀的妊娠期山羊中取出胎儿, 量其头臀长, 根据曹贵方^[7]的经验式估算胎龄, 立即通过脐静脉对新鲜胎儿样品用体积分数3%多聚甲醛-戊二醛溶液灌流固定, 运回实验室进行电镜制样。

1.2 电镜制样

取固定后的胚胎肝组织, 选取第5, 7, 9, ..., 21周胚胎肝组织制作切片: 用锋利的双面刀片切取组织块, 使其成为宽约0.2 cm, 厚度不超过0.1 cm的长条状, 体积分数2%戊二醛前固定4 h, 体积分数1%锇酸后固定1 h, 梯度丙酮脱水, Epon812树脂包埋, 超薄切片, 醋酸双氧铀-枸橼酸铅双染色, 透射电镜观察并照相。

2 结 果

2.1 肝细胞

早在第5周, 山羊胚胎肝细胞就有明、暗之分。暗肝细胞数量很多, 基质电子密度高, 体积较大, 粗

面内质网很发达, 滑面内质网不发达, 呈散在的囊泡状, 分布在远核区; 明肝细胞数量少, 基质电子密度低, 体积较小, 粗、滑面内质网都很不发达, 明、暗肝细胞的线粒体都呈球形。暗肝细胞含有丰富的酶原颗粒(图版1, ×6K); 核质比约为1:1, 核呈圆形, 有的可见到核仁, 胞质内可见一些电子密度高、边缘不整、大小不同的含铁血黄素颗粒, 一些细胞还可见到由单层粗面内质网包绕线粒体的现象。第6~21周, 肝明细胞和暗细胞在形态结构上各自没有太大的变化。

2.2 胆小管

胆小管在第5周已经形成, 管腔中可见肝细胞突出的微绒毛, 管腔较小。有的胆小管位于2个肝细胞之间, 有的位于3个肝细胞之间(图版2, ×4K)。胆管数量很少, 管腔也较小。有的肝细胞在胆小管的腔面形成一些酶原颗粒。以后, 随着胚胎的发育, 胆小管和胆管的管腔都逐渐扩大, 数量也随之增多。在胆小管附近常能观察到2个肝细胞之间的桥粒、粘合斑和缝隙连接。第11周见到由几个肝细胞的上皮形成的原始胆管(图版3, ×8K)。其内壁无内皮细胞和第斯氏隙, 也无血细胞, 管壁细胞与肝细胞等大。

2.3 窦状隙及造血灶

在第5周, 窦状隙散在分布, 数量相对较少, 腔隙也较小, 窦壁上皮间的孔隙比较大。肝细胞形成许多微绒毛伸入第斯氏隙并在腔面有丰富的酶原颗粒(图版4, ×3K)。以后, 随着胚胎的发育, 窦状隙的数量逐渐增多, 腔隙的宽度和长度都增大, 窦壁上皮间

^{*} [收稿日期] 2002-11-21

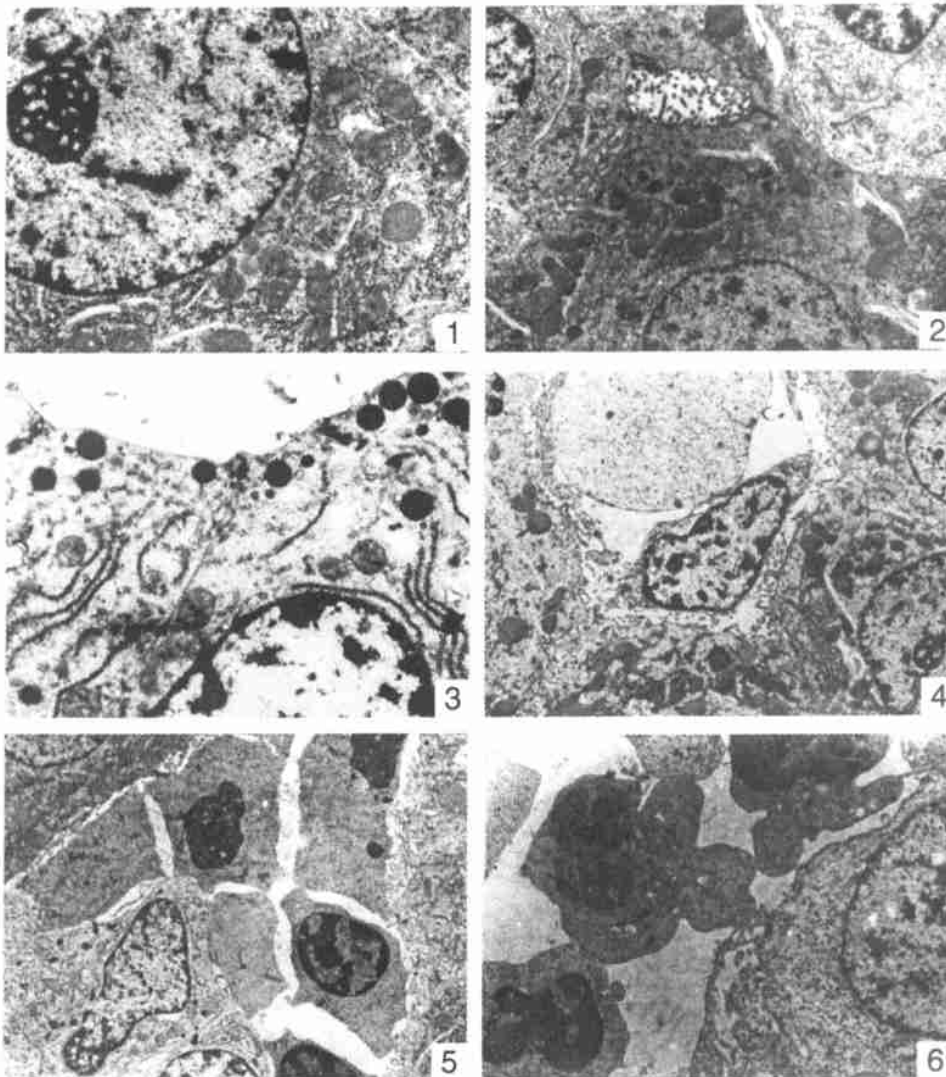
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39830280)

[作者简介] 蒲 鹏(1971-), 男, 陕西乾县人, 助理研究员, 主要从事胚胎工程和发育生物学研究。

的孔隙逐渐缩小。

在第 5 周,多数血窦中含有大量不成熟的红细胞,体积比肝细胞小,其胞浆均质色淡,有的不含细胞器,有的含有裂解的细胞器碎片,细胞核浓缩,小于肝细胞的细胞核,没有核膜,有的呈圆形或椭圆

形,有的呈马蹄形;成熟的红细胞较少,无核,胞质中无细胞器,电子密度比肝细胞的胞质高;血窦中还能见到枯否氏细胞(图版 5, $\times 3K$),其细胞和核的形状多呈长的不规则形状,胞浆中有丰富的粗面内质网、线粒体和溶酶体;窦壁上皮细胞也清晰可见。



图版 1~ 6 山羊胚胎肝脏发育的超微结构

图版 1. $\times 6K$, 第 5 周, 暗肝细胞, 含有丰富的线粒体和粗面内质网; 图版 2. $\times 4K$, 第 9 周, 胆小管, 肝细胞在其腔面有丰富的酶原颗粒和微绒毛; 图版 3. $\times 8K$, 第 11 周, 肝细胞围成的胆管, 肝细胞在其腔面含有酶原颗粒; 图版 4. $\times 3K$, 第 9 周, 不连续的窦状隙上皮细胞、红细胞及肝细胞, 肝细胞形成许多微绒毛伸入第斯氏隙并在腔面有丰富的酶原颗粒; 图版 5. $\times 3K$, 第 5 周, 窦状隙中的枯否氏细胞, 红细胞及幼稚型血细胞; 图版 6. $\times 5K$, 第 11 周, 凋亡的造血细胞, 核发生裂解、浓缩; 细胞器消失; 细胞形状不规则。

Plate 1- 6 U l t r a m i c r o s c o p i c s t r u c t u r e o f l i v e r o f g o a t ' s e m b r y o

P1. $\times 6K$, 5th week, a dark hepatic cell, which has much mitochondria and rough endoplasmic reticulum. P2. $\times 4K$, 9th week, a bile canaliculus, which is composed by 3 hepatic cells which formed much microvilli and zymogenic granule in the side of the bile canaliculus. P3. $\times 8K$, 11th week, a bile duct composed by several hepatic cells which formed much micro-villus and zymogenic granule in the side of the bile canaliculus. P4. $\times 3K$, 9th week, a incontinuous epithelium of the sinusoid, a red cell and a hepatic cell which formed much microvilli in the Disse gap and zymogenic granule in the side of the bile canaliculus. P5. $\times 3K$, 5th week, a Kupffer cell, a red cell and a infant red cell of the sinusoid. P6. $\times 5K$, 11th week, 3 languid haematogenous cells, in which the nuclear has lacerated or concentrated, cytoplasmic organelles disappeared and the shape of the whole cell become irregular in the extreme.

第 5 周的造血灶数量很多, 其中有大量不成熟的红细胞, 灶中成熟的红细胞很少, 在造血灶中可见

各期造血红细胞及由巨噬细胞伸入造血细胞间与造血灶周围的胞质突。也能观察到可以形成血小板的

巨核细胞。以后,随着胚胎的发育,血窦中不成熟的红细胞数量逐渐减少,成熟的红细胞数量逐渐增多。到出生时,血窦中不成熟的红细胞几乎消失。11周的造血灶中开始出现凋亡的造血细胞,核发生裂解浓缩;细胞器消失;细胞形状不规则(图版6,×5K)。

3 讨 论

3.1 关于明、暗肝细胞

肝细胞到底有没有明、暗之分曾经是个有争议的问题。现在多数人认为肝细胞有明、暗之分^[4,8]。吴淑兰等^[4]利用电镜对人中晚期胚胎肝脏进行观察,认为人胚肝细胞确实有明、暗之分。笔者观察到的山羊胚胎肝脏细胞与吴淑兰等人观察到的形态结构相同。Elias^[9]认为,这是肝上皮细胞的来源不同所致。吴淑兰等认为它们可能是不同分化阶段的肝细胞。笔者观察最早的是第5周的胚胎肝脏,还没有充分的证据能证明这2种细胞的来源,这有待进一步研究。笔者也观察到一些细胞具有Zamboni^[10]所描述的由单层粗面内质网包绕线粒体的现象。这可能说明此肝细胞处于旺盛的功能期。

3.2 胆小管的形成和肝内胆管的来源

对位于2个或2个以上肝细胞间的胆小管及其超微结构已有报道^[4],本次观察结果与上述报道一致。山羊早在第5周就已形成散在分布的胆小管。Elias^[9]对2个或2个以上肝细胞间的胆小管研究后认为,人在胚胎期,肝细胞成团或厚细胞板存在。笔者同意Elias的观点。一般的观点认为,肝外胆管是由肝憩室演化而来,而肝内胆管是由界板细胞形成。但对界板细胞的来源却有2种不同看法:Elias^[9]认为来源于肝憩室,而Ateman^[11]认为由肝母细胞而来。Ateman^[11]用肝细胞和结缔组织制成的组织培养物中观察到肝细胞生成立方上皮并排列成管状结

构,进而证明肝内胆管来源于肝母细胞。本实验中观察到由肝细胞组成的原始胆管,因此倾向于后一观点。

3.3 窦状隙及造血灶

王群等^[5]通过免疫荧光染色发现,在肝脏发育的早期阶段,只有少量小的肝窦样结构出现,且随机分布。以后,这些管腔延长并相互连接,最终形成成熟的窦状隙。本研究与王群等人的结果相同,在山羊胚龄第5周的窦状隙内皮细胞少且不连续,内皮细胞间的空隙比较大。以后,随胚龄的增加而增多,内皮细胞间的空隙逐渐减小。从第5周起直到出生,血窦中都有枯否氏细胞存在,它有吞噬作用。这说明在胚胎早期免疫器官还没有形成之前,肝脏执行着重要的免疫功能。

刘凯等^[3]发现,在人胚龄16周的造血灶中开始出现凋亡的造血细胞,并且其数量随胚龄的增加而增多。本研究发现,在山羊胚龄11周的造血灶中开始出现凋亡的造血细胞。这可能是由于物种不同的缘故。吴淑兰等^[4]认为,人胚肝开始造血是在妊娠的第3个月。笔者对山羊胚胎的研究发现,早在第5周的造血灶就有大量不成熟的红细胞,灶中成熟的红细胞很少。这说明山羊胚胎期肝脏造血始于第5周前的某个时期。血窦中不成熟红细胞的数量逐渐减少,而成熟红细胞的数量逐渐增多。这说明2个问题:首先,肝脏在胚胎早期是造血的重要器官;其次,红细胞的发育必须经过一个中间形态即不成熟的红细胞。Thomas^[12]、吴淑兰等^[4]通过研究证明,肝血窦内的不成熟红细胞是通过血窦壁上的裂孔而入,其中的粒细胞是由外源血流循环而来,本次观察发现血窦内存在的是红细胞和幼稚型血细胞,没有观察到粒细胞,与上述论点相符。

[参考文献]

- [1] 张 眉,廖清奎,罗春华,等. 中期孕胎儿肝脏与骨髓红细胞系统造血的比较研究[J]. 解剖学杂志, 1996, 19(4): 334- 337.
- [2] 徐邦生,夏 平. 人胚胎食管和肝的组织发生[J]. 南通医学院学报, 1998, 18(2): 161- 162.
- [3] 刘 凯,高英茂,马金龙,等. 人类胚胎肝脏组织发生的形态学观察[J]. 山东医科大学学报, 1997, 35(2): 108- 111.
- [4] 吴淑兰,曹玉纯,王仲涛,等. 对胎儿肝脏的研究[J]. 解剖学报, 1981, 12(3): 310- 314.
- [5] 王 群,张国军,胡大为,等. 胎鼠肝脏发育过程中肝窦的形成与成熟[J]. 细胞生物学杂志, 1999, 21(2): 79- 82.
- [6] 蒲 鹏,徐永平,卿素珠,等. 山羊胚胎肝脏组织发生的形态学观察[J]. 动物医学进展, 2002, (6): 86- 88.
- [7] 曹贵方. 山羊体形与形态发生及其结构与组织变化[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 1998.
- [8] 何素云. 胎儿肝脏的组织发生[J]. 解剖学报, 1983; 14(2): 205- 207.
- [9] Elias H. Morphology of the Liver[M]. New York and London: Academic Press, 1969.
- [10] Zamboni L. Electron microscope studies of blood embryogenesis in humans: I. The ultrastructure of the fetal liver[J]. Ultrastructure Res, 1965, 12: 509.
- [11] Ateman K. The 'dark' and 'light' cells of the Liver[J]. Anat Rec, 1960, 136: 157.
- [12] Thomas D B. Fetal hemopoiesis II. hepatic hemopoiesis in the human fetus[J]. Br J Haematol, 1964, 10: 193.

(下转第24页)

[参考文献]

- [1] 中国科学院北京植物研究所. 中国高等植物图鉴(3) [M]. 北京: 科学出版社, 1974
- [2] 苟占平, 杨永建, 赵汝能. 甘肃鹅绒藤属药用植物资源调查[J]. 中草药, 2001, 32(1): 69- 71.
- [3] 国家中药管理局中华本草编委会. 中华本草(6) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996
- [4] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [6] 吕燕萍, 梁资富, 宋京都, 等. 老瓜头的止咳、祛痰及平喘作用[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(4): 242- 243
- [7] 农兴发, 樊亦里, 周 军. 老瓜头提取物的初步药理研究[J]. 中草药, 1987, 18(12): 21- 23

Chemical constituents of volatile oil from *Cynanchum kam anovii*

ZHAO Bao-yu¹, DENG Shan-dan¹, Hasibatu², LIANG Jie-li¹, DA Neng-tai²,
DONG Qiang¹, JIANG Ming-zhi¹, CAO Guang-rong¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Inner Mongolia A Lashanzuoqi Veterinary Station, A Lashanzuoqi, Inner Mongolia 750300, China)

Abstract: The volatile oil from *Cynanchum kam anovii* was analyzed and determined by GC-MS. 45 compounds were got and identified in oil, their content is 87.80% of the identified compounds. The main constituents are: aliphatic saturated hydrocarbon (33.59%); unsaturated aliphatic acid (19.47%); esters (18.55%); aliphatic unsaturated hydrocarbon (9.68%). The content (18.65%) of 9, 12-Octadecadienoic acid is the highest.

Key words: *Cynanchum kam anovii*; volatile oil; GC-MS

(上接第 21 页)

Ultramicroscopic observation of hepatic structure of goat's embryo

PU Peng, ZHENG Yue-mao, QING Su-zhu, XU Yong-ping, ZHANG Yong

(Institute of Bioengineering, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The ultramicroscopic structure of liver of goat's embryo was studied in the paper by electron microscope. The results are as follows: There are two types of cells, light hepatic cell and dark. In an early embryo, a bile canaliculus has been found. A bile duct is evolved from original hepatic cell. A sinusoid takes shape momentarily. A liver creates red cell mainly, which decreases gradually with the developing of embryo.

Key words: goat; embryo; liver; ultramicroscopic structure