

北方山溪鲵精巢间质细胞的超微结构研究^{*}

王宏元, 张育辉

(陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710062)

[摘 要] 通过电镜观察研究了北方山溪鲵精巢内间质细胞的超微结构。结果显示, 在精子排空后, 间质细胞具有发达的滑面内质网、管状嵴线粒体和大量的脂滴。说明北方山溪鲵在繁殖期排精后, 生精小叶周围的间质细胞具有类固醇激素分泌能力。

[关键词] 北方山溪鲵; 精巢; 间质细胞; 超微结构; 类固醇激素分泌

[中图分类号] Q 959.5⁺2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)07-0005-04

北方山溪鲵(*Batrachuperus tibetanus*)属有尾目(Caudata)小鲵科(Hynobiidae), 为体外受精类型动物, 生活在较高海拔的山区溪流中, 其生精小叶和间质组织在其繁殖周期中变化明显, 其精子发生类型属不连续型^[1-2]。不连续型精子发生的有尾两栖类在精子发生的早期阶段, 只有少量的间质组织包绕生精小叶, 间质组织内间质细胞呈纤维状。待精子从生精小叶排出时, 生精小叶周围的间质组织则增大转变为发达的腺组织^[2-4], 腺组织的形成与繁殖周期密切相关。而连续型精子发生的斑点鲰(*Torpedo marmorata*), 在精子发生时, 其生精小叶周围的间质细胞具有类固醇激素分泌细胞的典型特征; 当成熟精子从生精小叶中排出时, 其周围间质细胞的类固醇激素分泌能力反而下降^[5]。说明不连续型精子发生类型动物和连续型精子发生类型动物, 生精小叶周围间质细胞的类固醇激素分泌机能差异较明显。为了进一步探讨腺组织的形成与类固醇激素合成和精子发生类型的关系, 本试验通过电镜观察研究了北方山溪鲵精巢腺组织内间质细胞的超微结构特点, 旨在为丰富生殖内分泌学基础理论及北方山溪鲵繁殖及保护奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 雄性成体北方山溪鲵共4尾, 体重27~30 g, 于2004-02~03采自陕西周至县板房子乡(东经107°58'15", 北纬33°47'03"), 海拔

1 600~1 900 m。

1.1.2 试剂与仪器 Bouins液, 自配; 戊二醛和锇酸均为美国sigma公司产品; 伊红和苏木精均为美国Amresco公司产品; 酒精和二甲苯均为天津试剂厂产品。

Leica 2型光学显微镜, 德国徕卡公司产品; Nova超薄切片机, 瑞典LKB公司产品; 日立H-600型电子透射显微镜, 日本日立公司产品。

1.2 北方山溪鲵精巢光镜样品的制备与观察

对北方山溪鲵乙醚麻醉后进行解剖, 取出精巢, Bouins液固定。常规方法制备石蜡切片, 切片厚度为5~8 μm, H. E染色后于Leica 2型光学显微镜观察, 并用LeicaQwin V3图像系统摄像。

1.3 北方山溪鲵精巢电镜样品制备与观察

对北方山溪鲵乙醚麻醉后进行解剖, 取出精巢, 迅速切成1 mm³的小块, 将其置体积分数3%戊二醛磷酸缓冲液中固定3 h, 再置于体积分数1%锇酸溶液中固定30 min后, 常规脱水, Epon812包埋, 最后用Nova超薄切片机切片, 切片厚度为50 nm, 将切片用醋酸双氧钼-枸橼酸铅双染后, 在日立H-600型电子透射显微镜下观察、摄像。

2 结果与分析

2.1 北方山溪鲵精巢的光镜观察结果

光镜观察发现, 在精子成熟阶段, 北方山溪鲵精巢的生精小叶内充满了成熟的精子, 生精小叶周围的间质组织较少, 其中分布少量的间质细胞(图版

* [收稿日期] 2005-09-19

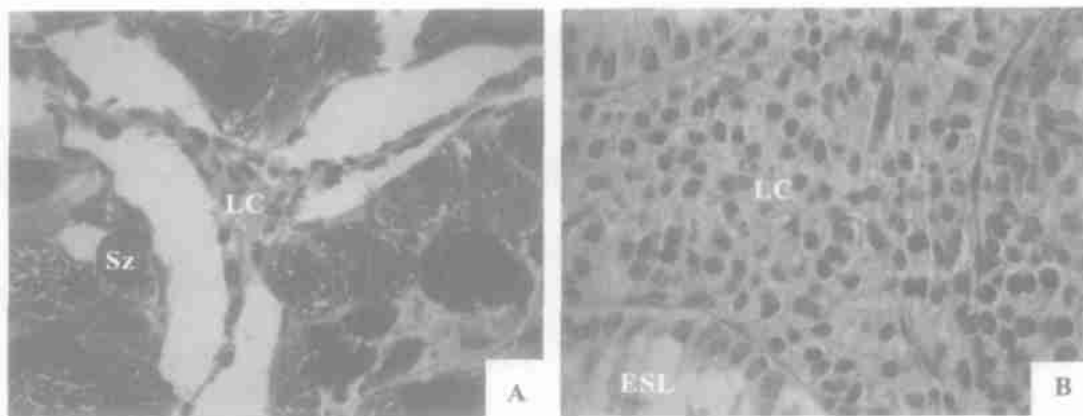
[基金项目] 陕西省自然科学基金项目(2001SM 26); 陕西师范大学青年基金项目

[作者简介] 王宏元(1974-), 男, 山西闻喜人, 讲师, 主要从事两栖动物生殖内分泌研究。

[通讯作者] 张育辉(1956-), 男, 陕西兴平人, 教授, 主要从事两栖动物生殖内分泌研究。E-mail: yu-huizhang@163.com

I-A)。而在精子排出后,生精小叶周围的间质组织内间质细胞的数量明显增加。间质细胞核呈圆形或卵圆形,核仁明显(图版 I-B)。这些排空生精小叶周

围发达的间质细胞构成了腺组织,在其内可观察到大量的毛细血管。



图版 I 北方山溪鲵精巢的显微结构

A. 成熟的生精小叶($\times 400$); B. 排空的生精小叶($\times 400$); Sz 成熟精子; LC. 间质细胞; ESL. 排空生精小叶

Plate I Microstructure of glandular tissue in testis of stream salamander *B. atrachuperus tibetanus*

A. Spermatozoa filled mature lobules ($\times 400$); B. Evacuated seminiferous lobules ($\times 400$)

Sz Spermatozoa; LC. Leydig cell; ESL. Evacuated seminiferous lobules

2.2 北方山溪鲵精巢间质细胞的电镜观察结果

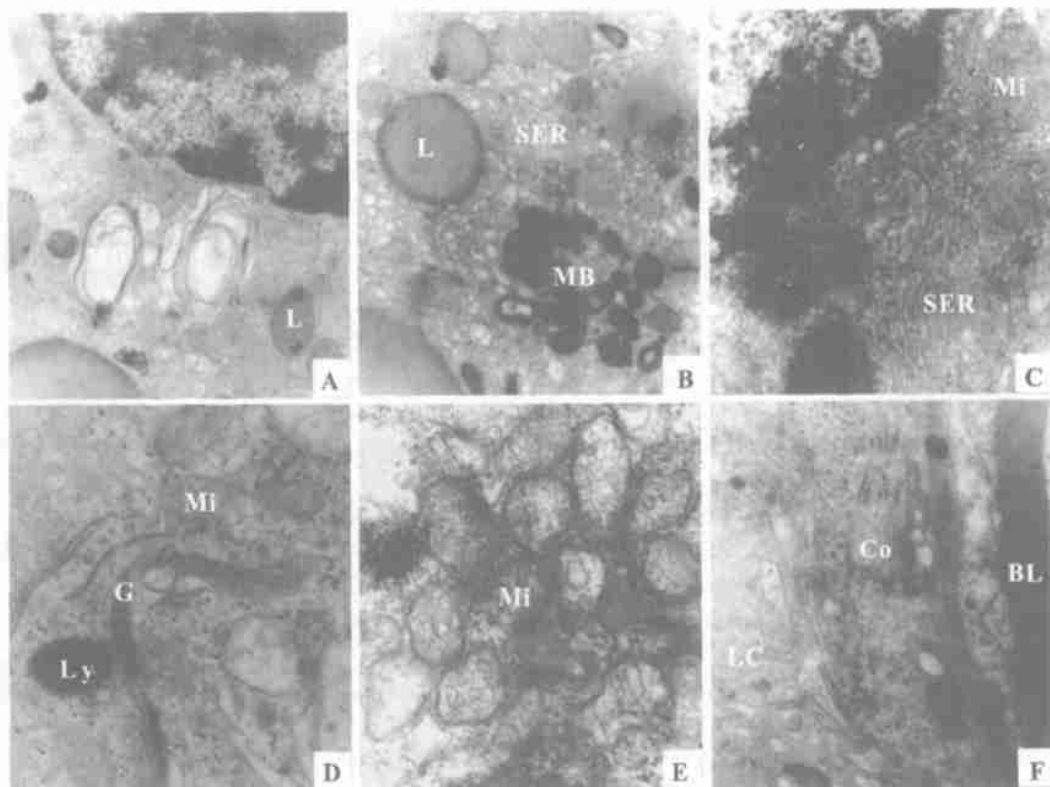
电镜观察发现,北方山溪鲵精巢腺组织内的间质细胞核外形不规则,核表面常有凹陷,胞核内常染色质较丰富,异染色质较少,其中以分布在核膜周边的异染色质相对较多,呈团块状。在间质细胞的胞质内,含有丰富的、大小不一的脂滴和少量的髓样小体(图版 II-A)。脂滴周围的滑面内质网非常发达,形成大量的圆形滑面小泡或管状小囊泡;滑面内质网常临近具管状嵴的线粒体,形状为椭圆形或不规则形状;在线粒体的基质内,常有不规则的致密小颗粒(图版 II-B,C)。此外在间质细胞的胞质内也可见正在发育的由 3~4 层扁平的囊泡组成的高尔基复合体、少量的溶酶体(图版 II-D)和少量的早期自体吞噬泡。这些自体吞噬泡内有退化的线粒体(图版 II-E)、糖原颗粒和一些滑面内质网片段。早期自体吞噬泡可以逐渐转变为晚期自体吞噬泡的膜样髓样小体。在间质细胞临近毛细血管处,存在大量的胶原纤维。在间质细胞与毛细血管之间,间质细胞伸出许多胞质突起与胶原纤维紧密连接(图版 II-F)。

3 讨论

在有尾两栖类精巢中,腺组织具有类固醇激素合成的能力已被多项研究^[6-8]证实。本研究也发现,北方山溪鲵精巢腺组织的间质细胞具有典型的类固醇激素分泌细胞超微结构特征:即发达的滑面内质

网,管状嵴线粒体,大量的脂滴;同时,在北方山溪鲵间质细胞内有少量的线粒体自体吞噬泡和髓样小体。自体吞噬泡可以转化为髓样小体。一般认为髓样小体和自体吞噬泡的大量出现预示着细胞的退化。自体吞噬泡在类固醇激素分泌细胞中比较常见,其降解的细胞器一般是与类固醇激素合成密切相关的线粒体和内质网等,其活动的强度与类固醇激素的合成水平存在负相关关系^[9]。说明北方山溪鲵精巢间质细胞内的自体吞噬泡可以调节类固醇激素的分泌,不宜简单理解为间质细胞的退化。

体内受精类型有尾两栖类的精巢在春季和秋季均产生腺组织,同时其血浆中雄激素在春季和秋季各有 1 次峰值^[4,10]。说明精巢中腺组织的形成和血浆中雄激素水平峰值的产生密切相关。王宏元等^[11]在体外受精类型北方山溪鲵秋季的精巢上未观察到腺组织,输精管内也无成熟精子。Hasumi 等^[11]测定了体外受精类型日本黑小鲵(*Hynobius nigrescens*)雄激素水平的周年变化,结果发现,日本黑小鲵雄激素水平只在春季繁殖期有 1 次峰值。本研究结果发现,北方山溪鲵在春季繁殖期(2~3 月),精巢内排空生精小叶的周围有发达的腺组织。这表明,体外受精的有尾两栖类动物可能只在春季繁殖期排精,随后间质组织增生并分化为腺组织,腺组织产生一年一度的雄激素水平峰值。



图版 II 北方山溪鲵精巢间质细胞的超微结构

- A. 胞核周围的脂滴和髓样小体($\times 10\ 000$); B. 胞质内脂滴和滑面内质网($\times 10\ 000$); C. 胞内线粒体和滑面内质网($\times 20\ 000$); D. 胞内的高尔基复合体($\times 25\ 000$); E. 胞内退化的线粒体($\times 30\ 000$); F. 间质细胞和毛细血管之间的胶原纤维($\times 15\ 000$); MB. 髓样小体; L. 脂滴; SER. 滑面内质网; Mi. 线粒体; Ly. 溶酶体; G. 高尔基复合体; LC. 间质细胞; Co. 胶原纤维; BL. 基膜

Plate II Ultrastructure of Leydig cell in testis of stream salamander *Batrachuperus tibetanus*

- A. Lipid droplets adjacent to the nucleus of Leydig cell ($\times 10\ 000$); B. Lipids and smooth endoplasmic reticulum in cytoplasm of Leydig cell ($\times 10\ 000$); C. Mitochondria and smooth endoplasmic reticulum in cytoplasm of Leydig cell ($\times 20\ 000$); D. Golgi complex appear in cytoplasm of Leydig cell ($\times 25\ 000$); E. Mitochondria degenerate in cytoplasm of Leydig cell ($\times 30\ 000$); F. Collagens appear between Leydig cell and capillary ($\times 15\ 000$); MB. Myelin body; L. Lipid; SER. Smooth endoplasmic reticulum; Mi. Mitochondria; Ly. Lysosome; G. Golgi complex; LC. Leydig cell; Co. Collagens; BL. Basal lamina

Marina 等^[5]用电镜观察了连续精子发生类型的斑点鲰的精巢认为,在精子发生时,其周围的间质细胞具有类固醇激素分泌细胞的典型特征,而待成熟精子从生精小叶中排出时,其周围间质细胞的类固醇激素分泌能力反而下降。在连续型精子发生类型的脊椎动物中,间质细胞是类固醇激素的最主要来源,而在不连续型精子发生类型的动物中,支持细胞是合成类固醇激素的主要细胞^[5]。北方山溪鲵属不连续型精子发生的脊椎动物,精巢内支持细胞的类固醇激素分泌特征明显^[12]。而在生精小叶排精后,支持细胞退化,其周围腺组织类固醇激素分泌的能力则增强。这表明对不连续型精子发生的脊椎动

物而言,间质细胞的分化或腺组织的出现,可能支持细胞类固醇激素合成能力降低有补偿作用。

Cauty 等^[13]对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)精巢内间质细胞的超微结构进行了观察发现,间质组织体积的增大是由于间质组织中产生胶原纤维所致,认为这些胶原纤维可以在精子排出生精小叶后增加精巢的稳定性。本研究发现,在北方山溪鲵精巢腺组织毛细血管和间质细胞间有胶原纤维存在,而在间质细胞间未观察到胶原纤维,笔者推测胶原纤维可能是间质细胞合成的。北方山溪鲵腺组织毛细血管和间质细胞间的胶原纤维是否可以增加精巢的稳定性,还需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 王宏元, 张育辉. 北方山溪鲵精巢显微结构的年周期变化[J]. 动物学研究, 2004, 25(6): 484-490
- [2] 王宏元, 王小平, 张育辉, 等. 北方山溪鲵精巢生精小叶与间质区在繁殖周期中的显微结构变化[J]. 动物学杂志, 2005, 40(3): 72-76
- [3] Fraile B, Paniagua R, Rodriguez M C, et al Annual changes in the number, testosterone content, and ultrastructure of glandular tissue cells of the testis in the marbled newt *Triturus marmoratus*[J]. J A nat, 1989, 167: 85-94
- [4] Norris D O, Norman M F, Pancak M K, et al Seasonal variations in spermatogenesis, testicular weights, vasa deferentia and androgen levels in neotenic male tiger salamanders, *Ambystoma tigrinum* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1985, 60: 51-57.
- [5] Marina P, Annamaria L, Barbara D, et al Fine structure of leydig and sertoli cells in the testis of immature and mature spotted ray *Torpedo marmorata*[J]. Mole Reprod Devel, 2002, 63: 192-201.
- [6] Pudney J A. Overall view of the organization of the vertebrate gonad and the structure of steroidogenic cells[M]//Chester-Jones L, Ingelton P M, Phillips J G, et al Fundamentals of comparative vertebrate endocrinology. New York: Plenum Press, 1987: 71-83
- [7] Pudney J, Canick J A, Mak P, et al The differentiation of Leydig cells, steroidogenesis, and the spermatogenic wave in the testis of *Neoturus maculosus*[J]. Gen Comp Endocrinol, 1983, 50: 43-66
- [8] Saez F J, Madrid J F, Aparicio R, et al Carbohydrate moieties of the interstitial and glandular tissues of the amphibian *Pleurodeles waltl* testis shown by lectin histochemistry[J]. J A nat, 2001, 198: 47-56
- [9] Yi J, Tang X M. Functional implication of autophagy in steroid-secreting cells of the rat[J]. A nat Reco, 1995, 242: 137-146
- [10] Specker J L, Moore F. Annual cycle of plasma androgens and testicular composition in the rough-skinned newts, *Taricha granulosa*[J]. Gen Comp Endocrinol, 1980, 42: 297-303
- [11] Hasumi M, Iwasawa H, Nagahama Y. Seasonal changes in plasma concentration of sex steroids in the salamander *Hynobius nigrescens*[J]. Gen Comp Endocrinol, 1993, 90: 51-57.
- [12] 王宏元, 张育辉. 北方山溪鲵精巢支持细胞的显微与超微结构观察[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2004, 32(1): 86-89
- [13] Cauty C, Loir M. The interstitial cells of the trout testis (*Oncorhynchus mykiss*): ultrastructural characterization and changes throughout the reproductive cycle[J]. Tissue Cell, 1995, 27: 383-395

Ultrastructure of leydig cell in testis of stream salamander *Batrachuperus tibetanus*

WANG Hong-yuan, ZHANG Yu-hui

(College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract: An ultrastructural investigation revealed the Leydig cell in the glandular tissue after the sperm evacuated from seminiferous lobules. The results showed that SER, many lipid droplets, mitochondria with the tubular cristae were found in the cytoplasm of Leydig cell. It was concluded that Leydig cell, adjacent to the evaluated lobules, possessed typical organization of steroid-secreting cell.

Key words: *Batrachuperus tibetanus*; testis; leydig cell; ultrastructure; steroid-secreting