

藏山羊与藏绵羊肺组织结构的对比研究

张晨^① 刘斯汝^① 蔡勇^② 李囿蓉^① 何灵芝^①
蔡建亮^① 罗文学^③ 阿依木古丽^{①*}

① 西北民族大学生命科学与工程学院 兰州 730030; ② 西北民族大学实验教学部 兰州 730030;

③ 天祝藏族自治县畜牧技术推广站 武威 73320

摘要: 为了探讨藏山羊 (*Capra hircus*) 与藏绵羊 (*Ovis aries*) 在高原低氧环境中肺组织结构的差异, 采用 Gomori 醛品红染色及 H.E 染色对藏山羊和藏绵羊肺组织进行对比研究。结果表明, 藏山羊与藏绵羊肺被膜厚度无显著差异 ($P > 0.05$), 但肺被膜中弹力纤维藏山羊显著多于藏绵羊 ($P < 0.05$)。肺泡面积藏山羊与藏绵羊无显著差异 ($P > 0.05$), 但肺泡隔宽度和肺泡隔中毛细血管的数量藏山羊显著高于藏绵羊 ($P < 0.05$)。肺细支气管黏膜皱襞厚度藏山羊与藏绵羊无显著差异 ($P > 0.05$), 但细支气管平滑肌厚度藏山羊显著高于藏绵羊, 细支气管黏膜上皮 1 mm^2 中杯状细胞数量藏山羊显著高于藏绵羊 ($P < 0.05$)。外径小于 $100 \mu\text{m}$ 的肺微动脉中, 藏山羊血管平滑肌占外径百分比显著高于藏绵羊 ($P < 0.05$), 而当外径大于 $100 \mu\text{m}$ 时, 两者间差异不显著 ($P > 0.05$)。

关键词: 藏山羊; 藏绵羊; 肺; 弹力纤维

中图分类号: S852.16+2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2019) 05-687-06

Comparison of Lung Microstructure between Tibetan Goat and Sheep

ZHANG Chen^① LIU Si-Ru^① CAI Yong^② LI You-Rong^① HE Ling-Zhi^①
CAI Jian-Liang^① LUO Wen-Xue^③ Ayimuguli^{①*}

① *Life Science and Engineering College of Northwest Minzu University, Lanzhou 730030;*

② *Experimental Teaching Department of Northwest Minzu University, Lanzhou 730030;*

③ *Tianzhu Tibetan Autonomous County Animal Husbandry Technology Station, Wuwei 733200, China*

Abstract: The Gomori and H.E staining were used to explore the difference in lung microstructure between Tibetan goat (*Capra hircus*) and Tibetan sheep (*Ovis aries*). The results showed that there was no significant difference in lung capsule thickness between these two species ($P > 0.05$), but the number of elastic fibers in Tibetan goat lung capsule was more than that in Tibetan sheep ($P < 0.05$) (Fig.1 and Table 1). There was no significant difference in alveolar area ($P > 0.05$), but the alveolar septum of Tibetan goat was significantly wider with much more capillaries than that of Tibetan sheep ($P < 0.05$) (Table 2). There was no significant

基金项目 中央高校基本业务费专项资金 (31920190024, 31920190020), 甘肃省高等学校科研项目 (2018B-027);

* 通讯作者, E-mail: 87032164@qq.com;

第一作者介绍 张晨, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物组织学与胚胎学; E-mail: 841371440@qq.com。

收稿日期: 2019-04-11, 修回日期: 2019-06-10 DOI: 10.13859/j.cjz.201905009

difference in the thickness of bronchioles plica, but the bronchiole smooth muscle of Tibetan goat was significantly thicker than that of Tibetan sheep ($P < 0.05$) (Fig.2 and Table 3). The average number of goblet cells in the bronchioles mucosa epithelium of Tibetan goat was significantly more than that in Tibetan sheep ($P < 0.05$) (Table 3). In addition, the percentage of vascular smooth muscle in the pulmonary arteriole with diameter less than 100 μm was significantly higher in Tibetan goat than that in Tibetan sheep ($P < 0.05$), while the difference was not significant when the pulmonary arteriole diameter was greater than 100 μm ($P > 0.05$) (Table 4).

Key words: Tibetan goat; Tibetan sheep; Lung; Elastic fibers

藏山羊 (*Capra hircus*) 与藏绵羊 (*Ovis aries*) 是高原地区的重要经济动物, 是当地的支柱型畜种。资料显示, 大气中氧气的含量与海拔呈反比, 藏绵羊 (俞红贤 1999)、藏鸡 (*Gallus gallus domesticus*) (马纯等 2007)、藏猪 (*Sus domestica*) (白玛央宗等 2012)、牦牛 (*Bos grunniens*) (杨琨等 2012) 等高原动物均有着适应低氧环境的特殊生理结构。动物长期处于低氧低压环境, 极易出现肺动脉高压、右心肥厚等病理现象 (谭秀娟等 2018), 而不同的动物对高原环境的适应表现出不同的特点 (李梦真 2017)。藏山羊主要生活在海拔 4 000 m 左右的高原, 善于跳跃攀爬, 藏绵羊则生活在平均海拔 3 000 m 左右的高原, 相对安静 (戴芳等 2013)。本实验选择生活在不同海拔的藏山羊和藏绵羊, 对二者肺组织结构特点进行对比研究, 分析其对高原低氧环境适应的结构差异, 为高原动物基础研究提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与采样

1 岁左右健康藏山羊 (青海主月畜牧业屠宰场, 海拔 3 900 m) 和藏绵羊 (甘南鑫旺屠宰场, 海拔 2 900 m) 各 6 只。颈部放血致死, 检查胸腔内无可视病理变化, 取肺不同部位组织 1 cm^3 , 4%多聚甲醛 (0.1 mol/L, pH 7.4) 固定, 24 h 后更换固定液复固定, 备用。

1.2 染色

固定的组织块流水冲洗, 梯度酒精脱水,

常规石蜡包埋, 切片, 切片厚度 5 μm 。常规 H.E 染色。Gomori 醛品红染色法: 酸性氧化液氧化 5 min, 酸性漂白液处理 1 min, 醛品红染色 15 min, 橙黄 G 染色 30 s, 脱水透明, 中性树胶封片。Gomori 染色后弹力纤维呈蓝紫色, 杯状细胞呈蓝色。

1.3 测量与计算

随机取 10 张切片, 每张 400 倍视野随机取 10 个不同区域, 用 Image Proplus6.0 软件测量相关数据。H.E 染色切片测量肺被膜厚度、肺泡大小、1 mm^2 面积内肺泡与肺泡囊数量、肺泡隔厚度、细支气管皱襞厚度、细支气管平滑肌厚度, 并按马兴斌等 (2011) 方法测量微动脉外径、中膜平滑肌的厚度, 计算肺微动脉中膜肌层厚度占血管外径百分比。Gomori 醛品红染色切片测量肺被膜弹力纤维厚度, 按 (肺弹性纤维厚度/肺被膜厚度) $\times 100\%$ 计算肺被膜弹力纤维百分比; 测量细支气管黏膜 1 mm^2 面积内杯状细胞的数量。数据用平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 表示, 用 SPSS.22 软件 SSR 法统计分析, $P \geq 0.05$ 为差异不显著, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 一般结构

藏山羊与藏绵羊肺被覆浆膜 (图 1a, b), 主要由疏松结缔组织构成, 富含弹力纤维 (图 1c, d)。肺被膜厚度藏山羊与藏绵羊差异不显著 ($P > 0.05$) (表 1), 但藏山羊肺被膜中弹力纤维丰富且致密, 藏绵羊肺被膜弹力纤维含量

较少, 结构较为疏松, 肺被膜中弹力纤维藏山羊显著多于藏绵羊 ($P < 0.01$) (表 1)。

藏山羊与藏绵羊肺泡表面均覆以单层扁平上皮, 肺泡间隔中有大量毛细血管分布(图 1e, f)。藏山羊与藏绵羊肺泡大小、单位面积内肺泡数量均无显著差异(表 2), 但藏绵羊肺泡囊结构多见, 1 mm^2 面积内肺泡囊数量藏山羊少于藏绵羊 ($P < 0.05$)。肺泡隔厚度藏山羊显著高于藏绵羊 ($P < 0.05$), 肺泡隔中毛细血管藏山羊显著多于藏绵羊 ($P < 0.05$) (表 2)。

2.2 细支气管与肺微动脉结构

藏山羊与藏绵羊肺细支气管黏膜表面覆以单层纤毛柱状上皮, 其间有数量不等的杯状细

胞分布, 细支气管管壁有一层完整的平滑肌。相同直径的细支气管中平滑肌厚度藏山羊显著大于藏绵羊, 但其细支气管黏膜皱襞平均厚度无显著差异。细支气管黏膜上皮中 1 mm^2 内杯状细胞数量藏山羊显著高于藏绵羊 ($P < 0.05$) (表 3)。肺微动脉中膜为一层较厚的平滑肌, 平滑肌间有弹力纤维分布, 肺微动脉内弹性膜明显, 呈波浪状。肺微动脉外膜也分布有较多的弹力纤维。藏山羊肺微动脉中弹力纤维较为丰富(图 2)。当肺微动脉外径小于 $100 \mu\text{m}$ 时, 藏山羊肺微动脉中平滑肌厚度显著高于藏绵羊 ($P < 0.05$), 当管径大于 $100 \mu\text{m}$ 时, 两者间没有显著差异(表 4)。

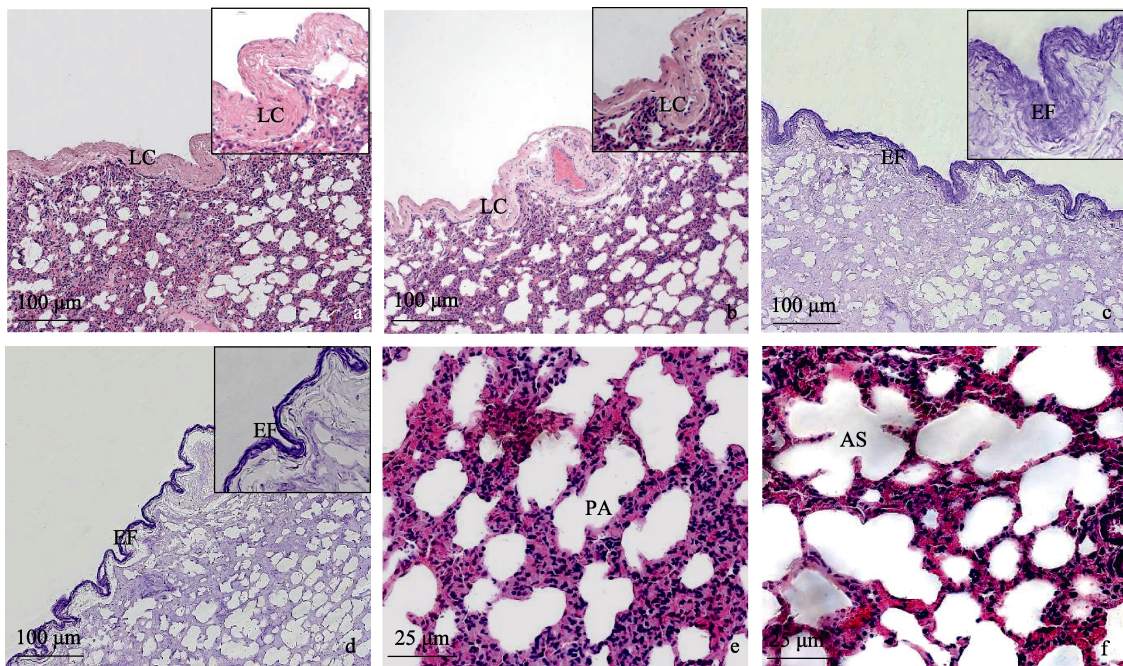


图 1 藏山羊与藏绵羊肺组织结构

Fig. 1 Lung microstructure of Tibetan goat and Tibetan sheep

a. 藏山羊肺被膜结构, H.E., $\times 100$ (右上示肺被膜, H.E., $\times 400$); b. 藏绵羊肺被膜结构, H.E., $\times 100$ (右上示肺被膜, H.E., $\times 400$); c. 藏山羊肺弹力纤维, Gomori, $\times 100$ (右上示弹力纤维, Gomori, $\times 400$); d. 藏绵羊肺弹力纤维, Gomori, $\times 100$ (右上示弹力纤维, Gomori, $\times 400$); e. 藏山羊肺泡与肺泡隔结构, H.E., $\times 400$; f. 藏绵羊肺泡与肺泡隔结构, H.E., $\times 400$ 。

a. Lung capsule of Tibetan goat, H.E., $\times 100$ (upper right H.E., $\times 400$); b. Lung capsule of Tibetan sheep, H.E., $\times 100$ (upper right H.E., $\times 400$); c. Elastic fibers of Tibetan goat lung, Gomori, $\times 100$ (upper right Gomori, $\times 400$); d. Elastic fiber of Tibetan sheep lung, Gomori, $\times 100$ (upper right Gomori, $\times 400$); e. Alveoli and alveolar septum in Tibetan goat, H.E., $\times 400$; f. Structure of alveoli and alveolar septum in Tibetan sheep, H.E., $\times 400$ 。

LC. 肺被膜; EF. 弹力纤维; AS. 肺泡囊; PA. 肺泡。LC. Lung capsule; EF. Elastic fiber; AS. Alveolar sac; A. Alveolar.

表 1 藏山羊和藏绵羊肺被膜及弹力纤维比较

Table 1 Lung capsule tissue structure and elastic fiber thickness of Tibetan goat and Tibetan sheep

	被膜厚度 (平均值 ± 标准差) Thickness of capsule (Mean ± SD) (μm)	被膜弹力纤维厚度 (平均值 ± 标准差) Film elastic fiber thickness (Mean ± SD) (μm)	弹力纤维百分比 Percentage of elastic fiber (%)
藏绵羊 Tibetan sheep	40.47 ± 1.82*	16.23 ± 1.05**	40.11
藏山羊 Tibetan goat	44.18 ± 1.03	34.22 ± 1.65	77.45

* 表示藏山羊与藏绵羊差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示肺藏山羊与藏绵羊差异极显著 ($P < 0.01$)。

* indicates significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.01$).

表 2 藏山羊与藏绵羊肺泡及肺泡隔比较 (平均值 ± 标准差)

Table 2 Alveolar and alveolar Septum in Tibetan goat and Tibetan sheep (Mean ± SD)

	肺泡面积 Alveolar area (μm ²)	肺泡隔宽度 Alveolar septum width (μm)	毛细血管数量 Capillaries number (个/mm ²)	肺泡囊数量 Number of alveolar sacs (个/mm ²)	肺泡数量 Number of alveolar (个/mm ²)
藏山羊 Tibetan goat	1 273.5 ± 104.5	15.2 ± 2.9*	98.0 ± 4.0*	9.2 ± 2.2*	19.4 ± 4.6*
藏绵羊 Tibetan sheep	1 288.2 ± 108.4	21.4 ± 2.6	113.0 ± 3.0	11.2 ± 4.2	23.6 ± 5.5

* 表示藏山羊与藏绵羊差异显著 ($P < 0.05$)。

* indicates significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.05$).

表 3 藏山羊与藏绵羊细支气管比较 (平均值 ± 标准差)

Table 3 Bronchioles Differences between Tibetan goat and Tibetan sheep (Mean ± SD)

	细支气管平滑肌厚度 Bronchiole smooth muscle thickness (μm)	细支气管黏膜厚度 Bronchiole mucosa thickness (μm)	杯状细胞数量 Numbers of goblet cells (个/mm ²)
藏山羊 Tibetan goat	27.35 ± 3.02	112.41 ± 8.23	1 954.0 ± 159.0
藏绵羊 Tibetan sheep	22.29 ± 2.57*	111.28 ± 9.86	1 453.0 ± 134.0**

* 表示藏山羊与藏绵羊差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示肺藏山羊与藏绵羊差异极显著 ($P < 0.01$)。

* indicates significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.01$).

3 讨论

在高原低氧环境下,高原动物表现出了众多对于环境的适应特征。实验发现,藏山羊和藏绵羊肺表面被膜厚度无显著差异 ($P > 0.05$),但肺被膜中弹力纤维藏山羊显著多于藏绵羊,这可能与藏山羊生活在氧浓度更低的高原有关。研究发现 (Mesit et al 2011),肺被膜中丰富的弹力纤维可以显著提高肺的回缩力,有利于肺残气的排出,进而有益于肺腔负压的形成,最终提高肺的通气效率。

周大鹏等 (2009) 研究发现,生活于高原地区藏獒 (*Canis familiaris*) 肺组织中有大量半

闭合肺泡,在安静状态下这些肺泡呈休眠状态,而在运动时可以开张充盈,用以加强肺换气效率,因此其实际测得单位面积内肺泡数量较普通犬只少。而何俊峰等 (2009) 研究发现,成年高原动物较同种类平原或低海拔动物的肺泡数多且肺泡面积小。这可能与动物种属特性相关。本实验结果表明,藏山羊与藏绵羊肺泡平均大小无显著差异,但 1 mm² 内肺泡数量藏绵羊显著多于藏山羊,因此推测藏山羊与藏獒肺具有相似的结构,具体还需进一步研究。本实验发现,1 mm² 内肺泡囊数量藏绵羊显著高于藏山羊。Allen 等 (1984) 表示,这样的结构使得动物肺泡中气体涡流现象显著降低,进而提

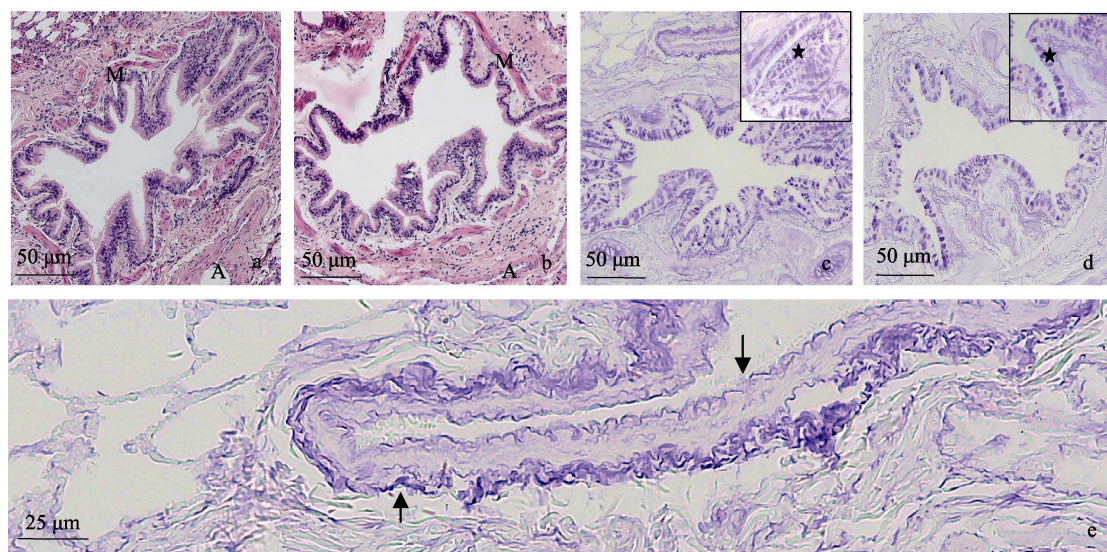


图 2 藏山羊与藏绵羊肺细支气管与微动脉结构

Fig. 2 Bronchioles and arteriole of Tibetan goat and Tibetan sheep lung

a. 藏山羊细支气管结构, H.E., $\times 200$; b. 藏绵羊细支气管结构, H.E., $\times 200$; c. 藏山羊细支气管弹性纤维与杯状细胞, Gomori, $\times 200$;
d. 藏绵羊细支气管弹性纤维与杯状细胞, Gomori, $\times 200$; e. 藏山羊肺微动脉弹性纤维结构, Gomori, $\times 400$ 。

a. Bronchiole of Tibetan goat, H.E., $\times 200$; b. Bronchiole of Tibetan sheep, H.E., $\times 200$; c. Bronchiole elastic fibers and goblet cells of Tibetan goat, Gomori, $\times 200$; d. Bronchiole elastic fibers and goblet cells of Tibetan sheep, Gomori, $\times 200$; e. Lung arteriole elastic fiber structure of Tibetan goat, Gomori, $\times 400$ 。

A. 肺微动脉; M. 细支气管平滑肌; ★. 杯状细胞; ↑ 显示微动脉外层弹性纤维; ↓ 显示微动脉内层弹性纤维。

A. Pulmonary microartery; M. Bronchiole smooth muscle; ★. Goblet cell; ↑ Outer elastic fiber of arteriole; ↓ Inner elastic fiber.

表 4 藏山羊与藏绵羊肺微动脉中肌层占血管外径百分比 (%)

Table 4 Percentage of myometeral layer in pulmonary arteriole diameter of Tibetan goat and Tibetan sheep (%)

	血管直径 Arteriole diameter (μm)			
	< 50	50 ~ 100	101 ~ 200	201 ~ 400
藏山羊 Tibetan goat	40.15 \pm 5.24	32.4 \pm 8.85	21.2 \pm 1.98	18.78 \pm 6.32
藏绵羊 Tibetan sheep	30.21 \pm 6.24**	25.3 \pm 9.24*	19.8 \pm 2.55	18.66 \pm 5.63

* 表示藏山羊与藏绵羊差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示肺藏山羊与藏绵羊差异极显著 ($P < 0.01$)。

* indicates significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference between Tibetan goat and Tibetan sheep ($P < 0.01$).

高气体交换效率。本实验中, 藏山羊肺泡隔显著厚于藏绵羊, 同时肺泡隔毛细血管含量藏山羊显著多于藏绵羊。Duffin (2014) 认为肺泡隔中丰富的毛细血管可显著提高肺泡换气效率, 这与俞红贤 (1999) 等对藏绵羊与小尾寒羊肺的研究结果一致。魏青 (2007) 等研究发现, 牦牛气血屏障平均厚度显著大于平原牛 (*B. taurus*), 这是成年高原牦牛有效利用氧, 减小

气体交换阻力, 提高低氧适应能力的组织学结构特点。藏山羊较厚的肺泡隔中是否也有较厚的气血屏障, 需要进一步研究。

有研究表明, 由于生活习性不同, 在相同条件下藏山羊在单位时间的耗氧量显著高于藏绵羊 (Deng et al. 2018)。实验发现, 藏山羊细支气管平滑肌厚度显著高于藏绵羊相同直径细支气管的平滑肌厚度 ($P < 0.05$), 推测较厚的

平滑肌赋予细支气管更强的收缩和扩张能力, 从而使得肺具有更好的通气效率。另外, 较厚的细支气管平滑肌可以增加肺泡气体排出阻力, 因而延长了气体在肺泡中的留存时间, 从而显著提高肺泡气体交换效率 (Moore et al. 2018)。Marfatia 等 (1975) 研究发现, 高原地区空气较平原地区干燥, 而干燥气体会对支气管、细支气管、肺泡等造成一定程度的损伤, 且通气量越大其损伤越显著, 气体经过支气管、细支气管时, 由支气管杯状细胞分泌大量黏液来减缓气体流速及加湿气体等 (Mishra et al. 2008), 而黏液的分泌量与杯状细胞数量相关。研究发现, 藏绵羊细支气管黏膜单位面积中的杯状细胞数量较普通平原羊高 (王晓亮 2013), 而部分平原地区的动物支气管杯状细胞较少, 甚至消失 (Singh et al. 1982)。同样, 本实验中藏山羊细支气管黏膜上皮中杯状细胞显著多于藏绵羊, 这种结构更有利于藏山羊适应低氧且相对干燥的高原地区。另外, 本研究发现, 当肺微动脉血管外径大于 100 μm 时藏山羊与藏绵羊肺微动脉中膜肌层占血管外径百分比无显著差异, 但随着血管外径变小, 藏山羊微动脉中膜肌层占血管外径百分比显著大于藏绵羊, 这可能与两个品种的羊生活海拔及环境氧浓度不同相关, 其具体机制需进一步研究。

参 考 文 献

- Allen C J, Jones N L, Killian K J. 1984. Alveolar gas exchange during exercise: a single-breath analysis. *Journal of Applied Physiology: Respiratory Environmental & Exercise Physiology*, 57(6): 1704–1709.
- Deng J, Feng J, Li L, et al. 2018. Polymorphisms, differentiation, and phylogeny of 10 Tibetan goat populations inferred from mitochondrial D-loop sequences. *Mitochondrial DNA Part A*, 29(3): 439–445.
- Duffin J. 2014. The fast exercise drive to breathe. *The Journal of Physiology*, 592(3): 445–451.
- Marfatia S, Donahoe P K, Hendren W H. 1975. Effect of dry and humidified gases on the respiratory epithelium in rabbits. *Journal of Pediatric Surgery*, 10(5): 583–592.
- Mesit J, Guha R K, Furlong W P, et al. 2011. Simulation of Lung Respiration Function Using Soft Body Model. 2010 Fourth UK Sim European Symposium on Computer Modeling and Simulation in Pisa, Italy. IEEE.
- Mishra N C, Rirsimaah J, Langley R J, et al. 2008. Nicotine primarily suppresses lung Th2 but not goblet cell and muscle cell responses to allergens. *Journal of Immunology*, 180(11): 7655–7663.
- Moore C, Horton E, Benseler N, et al. 2018. The effects of 100% oxygen on breathing pattern are not limited to young children. *European Respiratory Journal*, 51(1): 170–2055.
- Singh K, Mariappa D. 1982. Histological studies of the conducting and the respiratory divisions of the buffalo lung. *Indian Veterinary Journal*, 58(2): 99–183.
- 白玛央宗, 商鹏, 刘金凤. 2012. 等藏猪肺组织与高原低氧适应性的初步研究. *湖北农业科学*, 51(13): 2776–2779.
- 戴芳, 王丽, 王涛, 等. 2013. 实验动物呼吸系统主要器官比较组织学研究. *中国比较医学杂志*, 23(4): 10–14.
- 何俊峰, 余四九, 崔燕. 2009. 不同年龄高原牦牛肺脏的组织结构特征. *畜牧兽医学报*, 40(5): 748–755.
- 李梦真. 2017. 青藏高原动物对环境的适应机制研究进展. *青海科技*, 24(3): 56–59.
- 马纯, 何灵杰, 杨孔. 2007. 藏鸡对高原环境的适应. *四川动物*, 26(4): 961–963.
- 马兴斌, 崔燕, 何俊峰, 等. 2011. 成年牦牛支气管动脉的组织结构观察. *中国兽医科学*, 41(3): 303–307.
- 谭秀娟, 何庆. 2018. 高原肺动脉高压发病机制研究进展. *心血管病学进展*, 39(4): 674–677.
- 王晓亮. 2013. 藏羊和滩羊支气管树支气管动脉铸型方法的建立及其整体结构研究. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文.
- 魏青. 2007. 不同发育阶段高原牦牛和平原黄牛肺泡显微结构的研究. 西宁: 青海大学博士学位论文.
- 杨琨, 余四九, 何俊峰, 等. 2012. 牦牛胎儿肺脏发育的形态学研究. *兽类学报*, 32(4): 346–355.
- 俞红贤. 1999. 藏羊肺组织形态测量指标及其与高原低氧的关系. *中国兽医科技*, 29(7): 15–16.
- 周大鹏, 刘建国, 王芳, 等. 2009. 藏獒肺组织对高原低氧环境的适应特性. *甘肃农业大学学报*, 44(4): 25–28.