

猫儿山小鲵肝的组织结构

陈毓^{①②} 许爱兰^② 崔甄甄^{①②} 黄华苑^{①②*}

① 珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室 广西师范大学 桂林 541004;

② 广西珍稀濒危动物生态学重点实验室 广西师范大学 桂林 541004

摘要: 通过常规石蜡切片技术对 2 例猫儿山小鲵 (*Hynobius maoershanensis*) 肝进行组织学观察。结果显示, 猫儿山小鲵肝分为两叶, 右叶稍大于左叶。肝组织结构主要由被膜、中央静脉、门管区和肝细胞组成。门管区的小叶间静脉和小叶间胆管清晰可见, 但小叶间动脉不易观察。肝内结缔组织少, 肝小叶之间界限不清。肝细胞索围绕中央静脉呈放射状排列, 但放射状不明显。肝实质中含有大量清晰的棕黑色色素团, 可能与此物种对低氧环境的适应有关。

关键词: 猫儿山小鲵; 肝; 组织学

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 05-593-06

Histological Structure of the Liver in *Hynobius maoershanensis*

CHEN Yu^{①②} XU Ai-Lan^② CUI Zhen-Zhen^{①②} HUANG Hua-Yuan^{①②*}

① Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection (Guangxi Normal University),

Ministry of Education, Guilin 541004; ② Guangxi Key Laboratory of Rare and Endangered Animal Ecology,

Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

Abstract: *Hynobius maoershanensis* belongs to Hynobiidae, and is endemic to Maoershan Natural Reserve in Guangxi Province, China. It is restrictedly inhabited in alpine swamp at an altitude of 2,000 m with a small population size. We investigated the histological structure of liver, using anatomical methods and paraffin sectioning technique. The total length, head length, head width, tail length, body weight and liver weight were measured. An Olympus BX-63 automatic fluorescence microscope was used to analyze the liver histological structure. The results showed that the histological structure of the liver in *H. maoershanensis* was similar to that of other amphibians, which could be divided into the right and left lobe (Fig. 1a). Glisson capsule, central veins, portal areas and hepatic cells constituted the liver structure (Fig. 2a, b). The hepatocyte cords were arranged in an indistinct radial pattern around the central vein (Fig. 2c, d). Moreover, interlobular veins, bile ducts in portal areas were clearly found (Fig. 2e). The boundaries of liver lobules were unclear due to the underdevelopment of connective tissues (Fig. 2c-g). Many brown-black melanin granules could be seen in liver parenchyma (Fig. 2a, b). Our findings suggest that the brown-black melanin granules in the liver

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31860609), 广西自然科学基金项目 (No. 2018GXNSFAA138114);

* 通讯作者, E-mail: hhy-121@163.com;

第一作者介绍 陈毓, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物学; E-mail: chen_y_117@163.com。

收稿日期: 2019-12-09, 修回日期: 2020-07-12 DOI: 10.13859/j.cjz.202005007

parenchyma of *H. maoershanensis* might be an adaptation to the low-oxygen environment.

Key words: *Hynobius maoershanensis*; Liver; Histology

肝是动物体内最大的消化腺，是机体解毒重要器官（江辉等 2006）。在低等脊椎动物的肝或其他内脏组织中均发现色素细胞的存在（Frangioni et al. 2005）。一般认为，动物肝内的黑色、棕褐色色素细胞，是因肝中的巨噬细胞（Kuffer 细胞）吞噬了外源性物质、坏死的细胞碎片，并在消化处理这些异物的过程中形成了黑色素体，从而转变成黑色素巨噬细胞（Agius et al. 2003, Leknes 2007）。黑色素巨噬细胞属于皮外色素系统（Breathnach 1988），可以单个或聚集成团存在（Christiansen et al. 1996），具有吞噬活性（Sichel et al. 1997）。色素细胞分布在鱼类的肾、脾或肝组织中，对细菌的攻击能够起到一定的防御作用（Borucinska et al. 2009）。在两栖动物肝或脾中也发现色素细胞的存在，推测是抵抗陆地病原体最古老的先天免疫防御方式之一（Christiansen et al. 1996）。爬行动物肝中的色素细胞具有免疫和体温调节的作用（Rund et al. 1998, Barni et al. 2002）。可见，色素细胞在鱼纲、两栖纲、爬行纲的一些动物的肝中均存在，但在不同物种中所体现的功能不完全一致。

两栖动物水陆兼栖，繁殖期间下水交配产卵，水的含氧量低于陆地，其如何适应低氧环境呢？有学者认为，肝内色素细胞是两栖动物适应低氧环境的体现（禾彩红等 2014），如东方蝾螈（*Synops orientalis*）（谢朝晖等 2011）、大凉疣螈（*Tylototriton taliangensis*）（李蓓等 2013）成体生态类型为水栖型，肝内的色素细胞可能是它们适应水中低氧环境的表现。

猫儿山小鲵（*Hynobius maoershanensis*）属两栖纲有尾目（Urodela）小鲵科（Hynobiidae）小鲵属（周放等 2006），主要分布于海拔约 2 000 m 的猫儿山自然保护区（北纬 25°48′ ~ 25°58′，东经 110°20′ ~ 110°35′）（蒋得斌 2006）。猫儿山小鲵喜好在静水型水域生活和

产卵（费梁等 2010），种群数量极低，被列为濒危物种（蒋志刚等 2016）。目前只在猫儿山的三江源、山顶湖、野人湖三个沼泽地及周围地带发现猫儿山小鲵的分布。成鲵营陆栖生活，仅繁殖期下水交配产卵（费梁等 2010），其余阶段难以寻觅，其具体的陆栖方式还未知晓。两栖动物是水生向陆生过渡的一个类群，躯体器官、系统均具有相应的变化，以适应水陆兼栖的生活方式（刘凌云等 2009）。猫儿山小鲵栖息环境为高海拔低氧沼泽，肝组织结构是否会发生相应的改变以适应这种特殊的生境尚未知。为探讨猫儿山小鲵肝组织结构与其生活环境的适应机制，本研究对猫儿山小鲵肝进行组织学观察，旨在丰富小鲵科物种组织学研究，为两栖动物有尾目的比较组织学提供资料，同时也为保护猫儿山小鲵奠定基础。

1 材料与方法

猫儿山小鲵成体样本 2 只（1 雌，1 雄），来自广西猫儿山国家级自然保护区管理局。雌性个体，体重（body weight, BW）10.712 g，体全长（total length, TL）12.90 cm，头长（head length, HL）1.12 cm，头宽（head width, HW）1.30 cm，尾长（tail length, TL）1.63 cm，肝重（liver weight, LW）1.340 g；雄性个体，体重 12.138 g，体全长 14.60 cm，头长 1.50 cm，头宽 1.34 cm，尾长 1.50 cm，肝重 1.521 g。经常规大体解剖取出肝，置于 Bouin's 固定液中固定，修剪组织块大小体积为 3 cm × 4 cm，石蜡包埋，5 ~ 7 μm 连续切片，H.E 染色，光学显微镜观察，奥林巴斯 BX-63 显微镜照相。

2 结果

2.1 解剖学观察

猫儿山小鲵肝位于腹腔前部，心下端，长度约占腹腔 1/2，整体呈暗褐色，前段略窄，

向后逐渐变宽。肝分为左右两叶，右叶略长且偏大，左叶稍短和偏小，表面可见呈树枝状分布的血管（图 1a）。胆囊位于右叶末段，近圆形（图 1）。

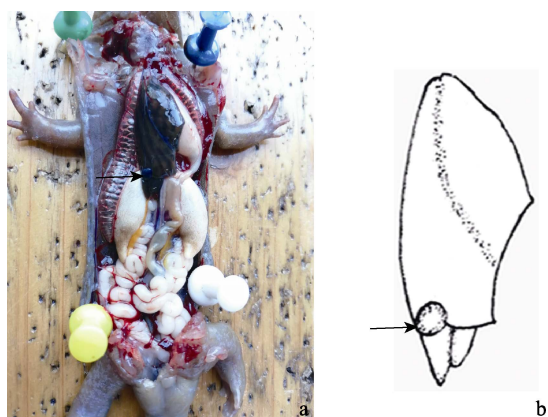


图 1 猫儿山小鲵解剖学结构 (♂)

Fig. 1 The anatomical structure of *Hynobius maoershanensis* (♂)

a. 内脏器官; b. 肝和胆囊示意图。箭头示胆囊。

a. The internal organs; b. Liver and gall bladder. The arrow indicates the gall bladder.

2.2 组织学观察

猫儿山小鲵肝组织结构主要由被膜、中央静脉、门管区和肝细胞组成（图 2a, b）。被膜是覆在肝表面的一层结缔组织（图 2a, b）。中央静脉管壁薄，多呈圆形，少数为椭圆形且管腔较大，大多数肝细胞聚集成团状不完全地包围在中央静脉周围，且放射状不清晰（图 2c, d）。门管区的小叶间静脉管腔大且形状不规则；小叶间动脉管腔较小不易观察；小叶间胆管管腔小且呈圆形，由一层立方上皮细胞组成（图 2e）。肝内结缔组织较少，故肝小叶之间的界限不明晰（图 2c ~ g）。肝细胞单核，呈多面型或多边形。肝血窦分布在肝细胞团或细胞索之间，多数呈弯曲或有弧度的条带状。肝实质中存在较多棕褐色、棕黑色的色素颗粒或颗粒聚集成的色素团，在被膜中也发现色素团，形状多样，体积大小不一（图 2a, b）。

3 讨论

脊椎动物肝形态呈单叶进化到两叶型的趋势（李红岩等 2010）。版纳鱼螈（*Ichthyophis bannanica*）肝呈长条状，腹侧分裂成多个小肝叶，并不分叶（李家洲等 2010）；尾斑瘰螈（*Paramesotriton caudopunctatus*）（禾彩红等 2014）和中国大鲵（*Andrias davidianus*）（方展强 2006）肝分两叶；虎纹蛙（*Hoplobatrachus rugulosus*）（陈学棋等 2003）、西藏蟾蜍（*Bufo tibetanus*）（曾麟等 2011）肝为左中右三叶。猫儿山小鲵肝分为左右两叶，与大多数的两栖动物肝分为两叶的特征相一致（邵晨等 2005）。肝小叶是肝的基本结构和功能单位（彭克美 2009），肝内结缔组织少、肝小叶分界不清楚是低等脊椎动物肝的共同特征（谢朝晖等 2011，李蓓等 2013）。猫儿山小鲵肝内结缔组织较少，肝小叶的分界不明显，这与东方蝾螈相似，符合低等脊椎动物肝的特性（谢朝晖等 2011）。

低氧或缺氧条件会刺激动物肝内色素细胞大量生成（Frangioni et al. 2003）。冠欧螈（*Triturus camifex*）的缺氧实验表明，肝黑色素分布的区域从 5% ~ 7% 增加到 24%（Frangioni et al. 2005）。缺氧动物肝组织中的巨噬细胞（Kuffer 细胞）通过红细胞亚铁离子激活络氨酸酶合成黑色素，具有抵抗细胞内源性或外源性毒素作用（Barni et al. 1999）。东方蝾螈（谢朝晖等 2011）、成体大凉疣螈（李蓓等 2013）和尾斑瘰螈（禾彩红等 2014）肝内存在黑色素团，被认为是低氧环境下保护性适应的结果。猫儿山小鲵生活领域位于海拔约 2 000 m 的高山沼泽地带（周放等 2006），所处环境海拔高，空气含氧量低，其肝内含有较多清晰可见的棕黑色色素团，此现象符合色素团的产生与其自我保护和更好地适应低氧环境有紧密联系的猜测，但仍需进一步研究。

鱼类内脏器官中的色素团常被用作环境污染的生物标志物（Borucinska et al. 2009）。生物标志物是指细胞在生理和形态上的变化，这些

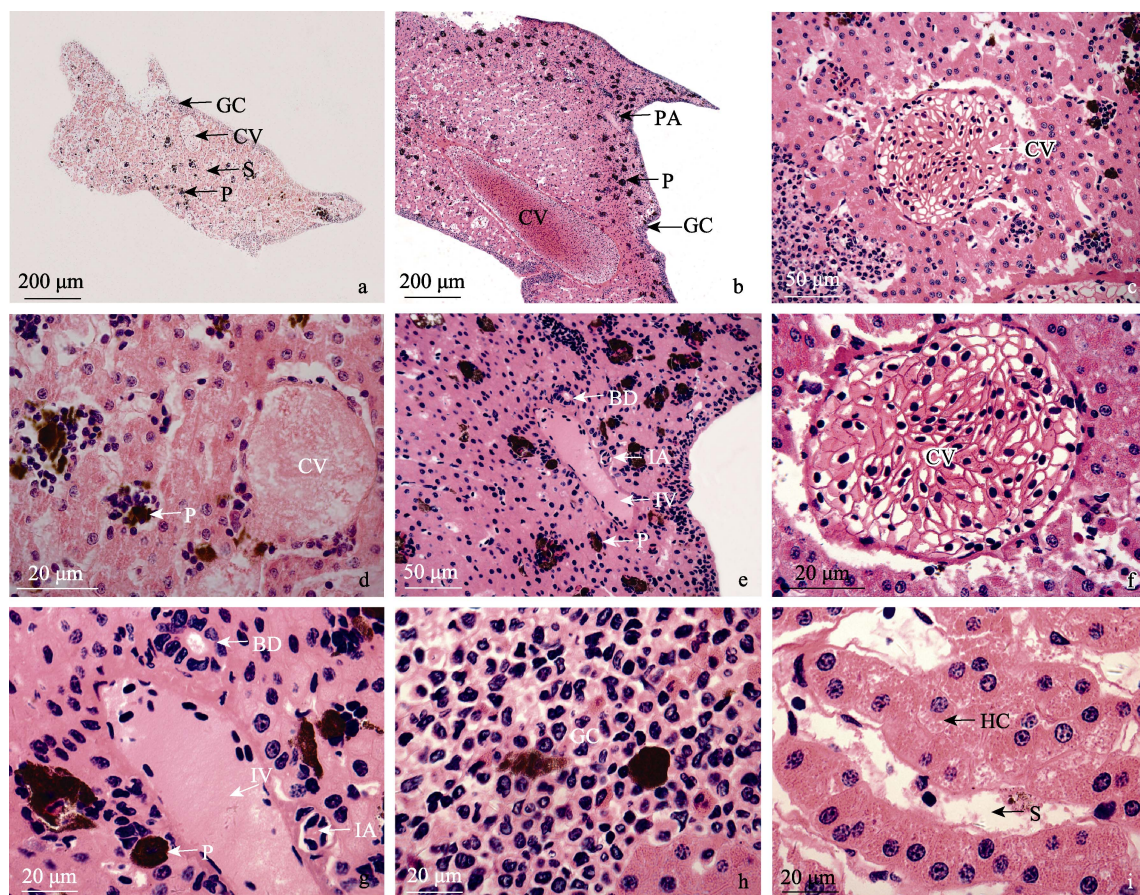


图2 猫儿山小鲵肝组织学结构

Fig. 2 The liver histological structure of the *Hynobius maoershanensis*

a, b. 肝组织结构 (♀, ♂); c, d. 中央静脉 (♂, ♀); e. 门管区; f. 中央静脉; g. 小叶间静脉、小叶间动脉和小叶间胆管; h. 被膜; i. 肝细胞和肝血窦。

a, b. Liver histological structure (♀, ♂); c, d. Central veins of liver (♂, ♀); e. Portal areas in liver; f. Central veins of liver; g. Interlobular veins, interlobular artery and bile ducts in portal areas; h. Glisson capsule in liver; i. Hepatic cell and sinusoid of liver.

BD. 小叶间胆管; CV. 中央静脉; GC. 被膜; HC. 肝细胞; IA. 小叶间动脉; IV. 小叶间静脉; P. 色素团; PA. 门管区; S. 肝血窦。

BD. Bile duct; CV. Central vein; GC. Glisson capsule; HC. Hepatic cell; IA: Interlobular artery; IV. Interlobular vein; P. Pigmentation; PA. Portal areas; S. Sinusoid.

变化可能与所处的环境受污染相关 (Hinton et al. 1990)。Borucinska 等 (2009) 对三种鲨鱼肝、脾和肾中色素细胞的数量分布和形态特征进行研究, 并结合体重和尾长的比值, 判定鲨鱼的健康状况。Johnson 等 (1999) 证实色素细胞在爬行动物的体温调节中起着重要作用。猫儿山自然保护区的主峰海拔高达 2 141.5 m, 山顶年平均温度约 7 °C, 极端最低温度为

- 19 °C (蒋得斌 2006)。猫儿山小鲵只在海拔 2 000 m 左右的地区分布, 此高度接近主峰海拔, 其栖息地环境的温度相对较低, 肝内的色素团是否与爬行动物一样具有调节机体温度的作用, 以适应低温生境? 另外, 随着猫儿山自然保护区大力发展旅游行业, 游客将垃圾随意丢弃, 造成猫儿山小鲵栖息地环境质量下降, 猫儿山小鲵肝内存在色素团, 是否与环境污染

有关? 有待进一步探究。

冬眠是两栖动物对不利环境条件的一种适应, 低温是诱导动物冬眠的主要因素(刘凌云等 2009)。Barni 等(2002)运用形态细胞化学法检测 *Rana esculenta* 肝色素细胞成分的细胞动力学和代谢变化, 结果显示其冬眠期间巨噬细胞(Kuffer 细胞)拥有最高的增殖活性, 并伴有明显的合成色素细胞现象; 但在冬眠后, 巨噬细胞增殖活性低。肝色素细胞具有可塑性, 在冬眠期和非冬眠期两个阶段中的含量不同, 尤其在冬季含量最高; 而冬眠期间肝色素含量增加是不同机制的结果, 涉及到冬眠前色素细胞的增加、肝细胞形态和功能变化等因素(Barni et al. 1999, 2002)。猫儿山小鲵冬季(12月至翌年3月)为繁殖期, 成鲵进入静水塘或林下水塘内交配产卵(费梁等 2010)。本实验样本采自猫儿山小鲵繁殖期, 期间平均气温约为 7.62 °C, 平均水温约为 5.78 °C。其肝实质中存在大量棕黑色或黑色色素团, 是否与两栖类在冬季期间肝内巨噬细胞(Kuffer 细胞)活性高, 促使较多色素细胞生成来提高肝的解毒效果相关, 还需进一步研究。

参 考 文 献

- Agius C, Roberts R J. 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*, 26(9): 499–509.
- Barni S, Bertone V, Croce A C, et al. 1999. Increase in liver pigmentation during natural hibernation in some amphibians. *Journal of Anatomy*, 195(1): 19–25.
- Barni S, Vaccarone R, Bertone V, et al. 2002. Mechanisms of changes to the liver pigmentary component during the annual cycle (activity and hibernation) of *Rana esculenta* L. *Journal of Anatomy*, 200(2): 185–194.
- Borucinska J D, Kotran K, Shackett M, et al. 2009. Melanomacrophages in three species of free-ranging sharks from the northwestern Atlantic, the blue shark *Prionace glauca*(L.), the shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, and the thresher, *Alopias vulpinus* (Bonnaterre). *Journal of Fish Diseases*, 32(10): 883–891.
- Breathnach A S. 1988. Extra-cutaneous melanin. *Pigment Cell Research*, 1(4): 234–237.
- Christiansen J L, Grzybowski J M, Kodama R M. 1996. Melanomacrophage aggregations and their age relationships in the yellow mud turtle, *Kinosternon flavescens* (Kinosternidae). *Pigment Cell Research*, 9(4): 185–190.
- Frangioni G, Borgioli G, Bianchi S. 2003. Melatonin, melanogenesis, and hypoxic stress in the newt, *Triturus carnifex*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 296(2): 125–136.
- Frangioni G, Santoni M, Bianchi S, et al. 2005. Function of the hepatic melanogenesis in the newt, *Triturus carnifex*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 303(2): 123–131.
- Hinton D E, Lauren D J, Holliday T L, et al. 1990. Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. *Biomarkers of Environmental Contamination*, 28(2): 17–57.
- Johnson J C, Schwiesow T, Ekwall A K, et al. 1999. Reptilian melanomacrophages function under conditions of hypothermia: observations on phagocytic behavior. *Pigment Cell Research*, 12(6): 376–382.
- Leknes I L. 2007. Melano-macrophage centres and endocytic cells in kidney and spleen of pearl gouramy and platyfish (Anabantidae, Poeciliidae: Teleostei). *Acta Histochemica*, 109(2): 164–168.
- Rund C R, Christiansen J L, Johnson J C. 1998. In vitro culture of melanomacrophages from the spleen and liver of turtles: comments on melanomacrophage morphology. *Pigment Cell Research*, 11(2): 114–119.
- Sichel G, Scalia M, Mondio F, et al. 1997. The amphibian Kupffer cells build and demolish melanosomes: an ultrastructural point of view. *Pigment Cell Research*, 10(5): 271–287.
- 陈学棋, 江剑平, 林玮. 2003. 虎纹蛙消化腺组织学观察. 福建师范大学学报: 自然科学版, 19(2): 117–120.
- 方展强. 2006. 中国大鲵肝脏的超微结构. *四川动物*, 25(2): 228–230.
- 费梁, 叶昌媛, 江建平. 2010. 中国两栖动物彩色图鉴. 四川: 四川科学技术出版社, 46.

- 禾彩红, 高登慧, 欧德渊, 等. 2014. 尾斑瘰螈主要消化器官组织结构观察. 动物学杂志, 49(1): 83–86.
- 江辉, 刘进辉, 陈开健, 等. 2006. 疑似新种——湖南花垣小鲵肝脏组织切片观察. 经济动物学报, 10(1): 27–30.
- 蒋得斌, 王绍能. 2006. 广西猫儿山自然保护区生物多样性保护及对策研究 // 马克平. 中国生物多样性保护与研究进展VII: 第七届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文集. 北京: 气象出版社, 385–391.
- 蒋志刚, 江建平, 王跃招, 等. 2016. 中国脊椎动物红色名录. 生物多样性, 24(5): 500–551.
- 李蓓, 史一珏, 龙梅, 等. 2013. 成体大凉疣螈肝脏的组织形态学观察. 四川动物, 32(3): 398–401.
- 李红岩, 张士瑾. 2010. 文昌鱼肝盲囊与脊椎动物肝脏起源. 遗传, 32(5): 437–442.
- 李家洲, 李桂芬, 黄鹤, 等. 2010. 版纳鱼螈肝、胆囊及胰的解剖学和组织学. 解剖学杂志, 33(2): 244–247.
- 刘凌云, 郑光美. 2009. 普通动物学. 4 版. 北京: 高等教育出版社, 371–390.
- 彭克美. 2009. 动物组织学及胚胎学. 北京: 高等教育出版社, 150–151.
- 邵晨, 洪煌明. 2005. 金华地区虎纹蛙消化道形态解剖学观察. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 28(2): 197–200.
- 吴雨函, 熊荣川, 雷飞宙, 等. 2012. 凹耳臭蛙消化系统解剖学及组织学观察. 四川动物, 31(4): 583–588.
- 谢朝晖, 胡建业, 梁运鹏, 等. 2011. 东方蝾螈肝脏形态学与组织学观察. 四川动物, 30(4): 578–580.
- 曾麟, 刘绍龙, 王宁宁. 2011. 西藏蟾蜍消化系统组织学观察. 四川动物, 30(2): 224–230.
- 周放, 蒋爱伍, 蒋得斌. 2006. 中国两栖类一新种 (有尾目, 小鲵科). 动物分类学报, 31(3): 670–674.