

商城肥鲩肝及胰的解剖学与组织学观察

张方 陈旭 何志新

安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000

摘要:利用常规 H. E 和改良甲苯胺蓝染色方法(modified toluidine staining, MTB),对商城肥鲩(*Pachyhynobius shangchengensis*)肝、胆囊和胰的解剖学、组织学以及上述器官的肥大细胞进行了观察。结果表明,商城肥鲩的肝小叶不明显,肝索互相连接成网状,肝细胞核大,单核,少数 2~3 核,肝侧缘细胞胞体大,有的达 70 μm ,但核质比小。肝中存在大量的色素细胞。胆囊黏膜上皮为单层扁平或立方上皮,未见形成皱襞。胰中结缔组织不发达,细胞界限不清,胞核大。除肝的门管区、肝门静脉区和胰的胰管周围分布有较多的肥大细胞外,肝和胰中其他区域分布很少,胆囊壁内有较多的肥大细胞。

关键词:商城肥鲩;肝;胆囊;胰;解剖学;组织学

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)03-95-07

Anatomical and Histological Observation on the Liver and Pancreas of *Pachyhynobius shangchengensis*

ZHANG Fang CHEN Xu HE Zhi-Xin

College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

Abstract:The anatomy and histology of liver, gallbladder and pancreas in *Pachyhynobius shangchengensis* were studied by routine H. E staining and mast cells (MCs) in the above organs were observed by modified toluidine staining. The results indicated that hepatic lobules were not evident, and the liver bundles interconnected into reticular structure. The nucleoli of hepatic cells were large. Most hepatic cells were mononuclear, but small proportion of hepatic cells were binuclear and tri-nuclear. The cell body in the hepatic side was bulky, and some up to 70 μm , but the ratio of the nucleus-cytoplasm was small. There were lots of chromatophore cells in the liver. The epithelium cells of gall bladder were simple squamous or cuboidal epithelium, but plica could not be observed. The connective tissue in the pancreas was underdeveloped. The border of the pancreatic cells was not circumscribed and their nuclei were larger. There were more MCs distributed in portal area, in hepatic portal vein and around pancreatic duct, but less MCs in other areas of liver and pancreas. However, there were more MCs distributed in the gallbladder wall.

Key words:*Pachyhynobius shangchengensis*; Liver; Gallbladder; Pancreas; Anatomy; Histology

商城肥鲩(*Pachyhynobius shangchengensis*)属有尾目小鲩科肥鲩属^[1]。目前,对有尾两栖动物消化系统的研究主要集中在消化道,而对于消化腺的研究甚少^[2-4]。对山溪鲩(*Batrachupers pinchonii*)、大鲩(*Andrias davidianus*)和爪鲩(*Onychodactylus fischeri*)等两栖动物的消化腺研究表明,这些物种的胰与肝已明显分化,胰已成

为独立的器官且出现了明显的腺体结构,其中

基金项目 安徽师范大学博士启动基金项目(No. 160-750817),重要生物资源的保护及利用安徽省重点实验室基金资助;

第一作者介绍 张方,男,副教授;研究方向:动物生态及保护生物学;E-mail:biologyzhf@hotmail.com。

收稿日期:2011-11-27,修回日期:2012-02-27

大鲵、爪鲵胰呈一长条带状,山溪鲵胰分两叶^[2-4]。

在对商城肥鲵皮肤结构的研究中,吴淑辉等发现其结构中含有微血管,与大鲵皮肤结构相近,而吕九全等对商城肥鲵消化道的研究也显示商城肥鲵和大鲵的消化道结构相近,因此推断二者有较近的亲缘关系^[5-6]。为了给两者之间的起源关系提供更多的证据,本文拟对商城肥鲵的肝和胰进行解剖学及组织学观察,旨在从消化腺的角度进一步验证大鲵与商城肥鲵亲缘关系的远近。

自 Ehrlich 等 1878 年首次在大白鼠 (*Rattus norvegicus*) 结缔组织中发现肥大细胞 (mast cell, MC) 并命名之后^[7],国内对高等脊椎动物的肥大细胞研究比较深入,而对低等脊椎动物肥大细胞的研究相对较少^[8-10],其中对有尾两栖类的研究更为少见^[11]。何志新等曾对商城肥鲵的肝和胰肥大细胞分布进行过初步观察^[11],发现两者中肥大细胞很少且主要集中在血管和腺体周围。我们对肥大细胞在两器官内的分布特点进行了进一步的观察,以期发现肥大细胞在两器官中更为详细的分布特点,为肥大细胞在动物腺体内的分布提供更多的证据。

1 材料与方 法

成体健康商城肥鲵 8 条,雌雄各半,雌性体长为 151.2 ~ 179.8 mm,雄性体长 153.0 ~ 189.5 mm,2010 年 4 月采自安徽省金寨县窝川林场(115°41' E,31°15' N)海拔 600 ~ 1 200 m 的山涧溪流中。双毁髓处死、解剖,取出肝、胰、胆囊,分成两份,一份入 Bouin 液固定 24 h,一份入 Carnoy 液固定 8 h,常规石蜡连续切片,厚 6 μm ,H. E 与改良甲苯胺蓝染色(modified toluidine staining, MTB)。改良甲苯胺蓝染色方法是:切片常规脱蜡到水,入甲苯胺蓝染液染 30 s,30% PBS 乙醇分色,快速脱水、透明、中性树胶封片。Olympus DP71 显微镜数码成像系统下观察、测量、拍照。

2 结 果

2.1 肝 商城肥鲵的肝是体内最大的消化腺,

呈红褐色,位于消化道腹面,长条形,长约 3.0 cm,最宽处约 1.2 cm。前端略窄后端略宽,横断面大致呈开口较大的倒置“V”形,肝前端约 4/5 不分叶,后端向左分出一叶,向右分出两叶。

商城肥鲵的肝分为被膜和肝实质两大部分,被膜厚约 40 μm ,为肝表面被覆的一层致密结缔组织。肝小叶间未见明显的结缔组织,所以在 H. E 染色的切片上分辨不清相邻肝小叶间的界限,只能依靠相邻门管区间的距离作大致判断,肝小叶大小不均匀。肝小叶中肝细胞索以中央静脉为中心呈不甚明显的放射状排列,远离中央静脉处互相联接,交织成网状(图版 I:a)。网眼间隙中的肝血窦内可见数量不等的红细胞。在肝组织内可见门管区(图版 I:b),内有小叶间静脉、小叶间胆管、小叶间动脉。小叶间静脉管腔大,壁薄,圆形或肾形,少数形状不规则;小叶间动脉结构不明显,不易辨别;小叶间胆管管壁为单层立方或单层柱状上皮细胞,细胞排列紧密,界限不清晰,细胞核大,将近占据整个细胞,圆形或椭圆形,位于细胞中部,长轴与细胞长轴平行,胞质着色较深。小叶间胆管常数个分布在小叶间静脉周围,管壁平滑肌不发达。肝小叶中的中央静脉管腔大,管壁较薄,由一层不连续的内皮细胞组成,腔内充满红细胞,外无平滑肌,只有少量结缔组织,形状为不规则的圆形、椭圆形、三角形等。肝细胞呈多边形,体积大,界限不甚清晰;一般单核,偶为 2 ~ 3 核,胞核圆而大,居中,核膜清晰,常见 1 ~ 2 个明显的核仁;胞质嗜酸性,有空泡,可能是切片制作过程中细胞中的糖原和脂质消失之原因。肝两侧缘肝细胞较特殊,胞体特大,甚至有的直径超过 70 μm ,胞核染色深(图版 I:c)。在肝实质内有大量的色素细胞,大小不一,一般多个聚集在一起,少数单个存在。作者根据观测到的现象依据细胞组织学特征划分 4 类肝细胞(表 1)。

肝内肥大细胞数量少,主要集中分布在中央静脉、门管区、肝门静脉旁,一般为紫红色,具有异质性,除了典型的圆形和椭圆形外,还有许多特殊的形态,如精子状、变形虫状等。

表 1 商城肥鲩 4 类肝细胞的比较

Table 1 The comparison of four kinds of liver cells in *Pachyhynobius shangchengensis*

| | 暗肝细胞 Dark liver cells | 亮肝细胞 Bright liver cells | 普通双核肝细胞 Binuclear hepatocyte | 巨型肝细胞 Giant liver cells |
|--------------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| 分布特点 Distribution characteristics | 占肝实质大部分 | 成团散在分布 | 偶见 | 肝两侧缘 |
| 细胞大小(μm) Cell size | 20 ~ 30 | 20 ~ 30 | 30 ~ 40 | 30 ~ 70 |
| 胞质特点 Cytoplasmic characteristics | 嗜酸性强 | 嗜酸性较强 | 嗜酸性较强 | 嗜酸性较弱 |
| 胞核特点 Nuclear characteristic | 核仁明显 | 核仁明显 | 核仁明显 | 染色深,掩盖核仁 |
| 核质比 Nucleoplasmic index | 大 | 大 | 较大 | 小 |

暗肝细胞胞质染色比亮肝细胞深。The cytoplasm of dark liver cells is dyed darker than the bright liver cells.

2.2 胆囊 胆囊位于左右肝叶分叶处的下面,近圆形,直径约 0.3 cm,充满胆汁时呈黄绿色。胆囊后方有 2 个口,入口通过肝管接收胆汁,出口通向胆胰管。胆囊壁薄,囊壁从内到外依次为黏膜层、肌层和外膜三层。黏膜层分为上皮、固有层、黏膜肌层。黏膜上皮为单层扁平或立方上皮,未见明显皱襞。固有层不发达,由疏松结缔组织构成,分布小血管和小淋巴管处囊壁增厚,在胆囊颈处固有层内见黏液腺。黏膜肌层见环形平滑肌,似无纵行平滑肌。胆囊肌层不发达。胆囊最外层为浆膜,由扁平上皮细胞组成。胆囊壁内有较多的肥大细胞(图版 I:d),紫红色,椭圆形、条形者居多,分布于平滑肌间和血管旁。

2.3 胰 商城肥鲩的胰外形呈扁平的长条形,长约 17 mm,新鲜时为淡黄色,固定后变成乳白色。位于胃和十二指肠的背面,胆囊的左侧,两侧薄中部厚,与消化道接触的面向内凹,展开时为片状,宽约 4 mm,整体形态与肝相似,但不分叶,胰管紧贴胰中部内凹处纵贯胰体全长。穿出胰后与胆管合并成胆胰管,接入十二指肠。十二指肠乳头距胃幽门约 11 mm。

胰(图版 I:e)表面有一层较薄的疏松结缔组织被膜,由于小叶间结缔组织不发达,胰小叶分界不明显。胰实质分为内分泌部和外分泌部,外分泌部系浆液性的复管泡状腺,腺泡为囊泡状。腺细胞界限不甚清楚,胞质颗粒嗜碱性,染色较深,细胞核处于细胞的中下部,圆形或椭

圆形,染成蓝紫色,核轮廓清晰,内有 1~2 个明显的核仁。腺腔较小,可见闰管延伸至腺泡腔内形成的泡心细胞。导管可分为闰管、小叶内导管和小叶间导管。闰管由单层扁平上皮组成。胰腺的内分泌细胞数量较少,零散分布在腺泡间或数个聚集成胰岛,与其周围的腺泡界限分辨不清。胰内肥大细胞很少,主要集中于被膜、胰岛、腺泡及其导管周围,呈蓝紫色、红色、紫红色,但在胰管及其周围的结缔组织中发现有大量的肥大细胞(图版 I:f)。

3 讨 论

H. E 切片中组织细胞内的糖元与脂质大多消失,本实验中观察到的肝细胞胞质内的空泡和空隙应为脂质与糖元分布所在,因此可推断生活状态下的商城肥鲩肝内贮存有丰富的糖类和脂质。

肝是脊椎动物特有的器官,作为动物体内最大的消化腺,肝具有参与代谢,解毒造血等重要功能,何晓燕等通过对几种脊椎动物肝的解剖比较,认为肝组织的发达程度是脊椎动物进化的标志之一^[12]。商城肥鲩的肝细胞索由在中央静脉周围向四周发散的单行或双行肝细胞组成,各条肝细胞索分支互相连接形成网络结构,整体上属于肝板的一部分。商城肥鲩肝血窦(静脉窦)夹在肝细胞索之间,横穿肝板,形状不甚规则。窦壁非常薄,在普通光镜下分辨不清它的显微结构,因扁平的内皮细胞界限不

清晰,所以整体大约呈一条半透明的带。商城肥鲩的肝细胞呈现明显的多态性,肝两侧的肝细胞胞体特大,核质比小,细胞质染色淡,嗜酸性的胞质微粒分布均匀,特别出现了多核(3~4个)现象,疑为合胞体。鱼类胡子鲩(*Clarias fuscus*)的肝和胰^[13]彼此密切相连又相混(肝胰脏),外观上用肉眼根本分辨不清楚。与它不同的是,商城肥鲩胰结构明显,能够分泌胰液与胆汁混合注入十二指肠,进一步消化食物,提高了对食物的利用率,这种肝和胰分开且在结构上进一步的完善体现了两栖类动物较鱼类高等的进化地位。

脊椎动物肝形态呈单叶型到两叶型的进化趋势^[14]。版纳鱼螈(*Ichthyophis bannanica*)属两栖纲鱼螈目,肝为长条状,腹侧分裂成数个肝小叶,肝细胞排列呈泡状或团状^[15]。有尾目小鲩科山溪鲩属的山溪鲩,肝基本上是单叶的,只在后端有很少的一部分分为左右两叶,肝细胞排列呈腺泡状,只在肝边缘出现类似肝小叶结构^[3]。商城肥鲩肝、胰分开,肝分两叶的结构表明两栖纲有尾目进化地位高于鱼螈目。费梁先生通过骨骼的比较认为,肥鲩属和小鲩属在小鲩科中较为原始^[16],本文通过消化腺观察对比认为,肥鲩属在小鲩科的进化地位应当高于山溪鲩属。

观察还发现,商城肥鲩肝细胞形成肝板围绕中央静脉放射状排列,胰分为内分泌部和外分泌部,与大鲩的肝、胰结构基本相似^[4],所以从消化腺的角度验证了吕九全等^[6]有关大鲩和商城肥鲩亲缘关系的推测。综合现有资料我们发现,小鲩科的商城肥鲩、云斑小鲩(*Hynobius nebulosus*)和隐鳃鲩科大鲩的消化系统结构相近^[3-6,17],故推测该二科具有相近的亲缘关系。这点与 Duellman 等关于小鲩科和隐鳃鲩科同属一个自然类群,可能起源于共同祖先的观点一致^[18]。

商城肥鲩的胆囊壁由黏膜、肌层与外膜组成,这与鱼类^[13]、爬行类^[19]、鸟类^[20-21]、哺乳类和人类^[22]的胆囊结构基本一致,有贮藏与浓缩胆汁的作用,但黏膜层未观察到皱襞,可能与

解剖时胆囊充盈胆汁有关。

商城肥鲩的胰是其体内重要的消化腺和内分泌腺。尾崎久雄^[23]将硬骨鱼类的胰腺区分为3种类型,即密致型——呈一个紧凑形状;弥漫型——以叶状分开潜入体腔各处;散在型——分散在体腔全表面。Torrey^[24]认为脊椎动物胰腺通常可分为低级形式的弥漫型和高级形式的紧凑型2种。赵万鹏等^[25]因鳖(*Trionyx sinensis*)的胰腺沿十二指肠周围延伸,并扩展至回肠肠系膜等处而将鳖的胰腺归入弥漫型。从商城肥鲩胰腺的解剖学特点来看,长条形的胰主要紧贴于胃的背侧,小段延伸到十二指肠外,应属于紧凑型。在两栖类中,从最原始的蚓螈目版纳鱼螈的胰^[15]到相对较为高等的有尾目和无尾目动物的胰为紧凑型^[2-4,26],以及爬行类鳖的胰为弥漫型^[25]来看,脊椎动物胰的类型未必与动物本身的进化高低有必然的关联。

何志新等曾对商城肥鲩的肝和胰肥大细胞的分布进行过初步观察^[11],发现两者中肥大细胞很少,而且又主要集中在血管和腺体周围,本实验进一步的观察发现,在商城肥鲩的肝门静脉和胰管周围结缔组织、胆囊壁中分布有数量可观的肥大细胞,进一步证实了肥大细胞有沿血管、淋巴管和腺体分布的倾向,以及局部募集现象。这一分布特征可能和肥大细胞行使免疫功能有关。

致谢 感谢安徽省金寨县林业局窝川林场工作人员在捕获商城肥鲩时所提供的帮助。

参 考 文 献

- [1] 费梁,瞿文元,吴淑辉. 我国小鲩科一新属新种的描述. 动物学研究,1985,6(4): 389-404.
- [2] 赵艳艳,王丽文,梁传成,等. 爪鲩消化系统的解剖学和组织学初步研究. 四川动物,2005,24(3): 290-295.
- [3] 李仲杰,安书成. 山溪鲩消化系统组织学的初步研究. 浙江大学学报:理学版,2001,28(6): 692-697.
- [4] 肖汉兵,刘鉴毅,林锡芝,等. 大鲩消化系统的解剖学观察. 动物学杂志,1995,30(6): 33-36.
- [5] 吴淑辉,吕九全. 商城肥鲩皮肤的组织学观察. 河南师范大学学报:自然科学版,1994,22(3): 109-112.
- [6] 吕九全,路纪琪,牛红星,等. 商城肥鲩消化道的解剖学

- 观察. 动物学杂志, 2000, 35(2): 19-22.
- [7] Ehrlich P. Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung. Leipzig, Germany: University of Leipzig (PhD Thesis), 1878.
- [8] 姚红艳, 高登慧, 许乐仁, 等. 雌性牛蛙卵巢·输卵管组织中肥大细胞的形态学研究. 安徽农业科学, 2008, 36(11): 4530-4531.
- [9] 于洪川, 魏智清, 张书起, 等. 蟾蜍和牛蛙皮肤肥大细胞的形态学研究. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2005, 26(3): 268-270.
- [10] 张伟妮, 林旋, 林树根, 等. 虎纹蛙消化道肥大细胞的组化性质. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2010, 39(2): 186-189.
- [11] 何志新, 张方. 应用不同固定及染色方法确定商城肥鲩肥大细胞的分布. 动物学杂志, 2011, 46(3): 84-90.
- [12] 何晓燕. 脊椎动物肝组织结构比较. 吉林大学学报: 医学版, 2004, 30(6): 859.
- [13] 栾雅文, 刘翠敏, 郭志荣. 胡子鲶 (*Claris fuscus* Lacepede) 肝脏、胆囊以及胰脏组织学的初步研究. 内蒙古大学学报: 自然科学版, 2001, 32(4): 439-442.
- [14] 李红岩, 张士瑾. 文昌鱼肝盲囊与脊椎动物肝脏起源. 遗传, 2010, 32(5): 437-442.
- [15] 李家洲, 李桂芬, 黄鹤, 等. 版纳鱼鲷肝、胆囊及胰的解剖学和组织学. 解剖学杂志, 2010, 33(2): 244-247.
- [16] 费梁, 叶昌媛. 小鲩科的地理分布特点、分化中心及亲缘关系的探讨(两栖纲: 蝶螈目). 动物学报, 1984, 30(4): 385-392.
- [17] Osman A H K, Pfeiffer C J, Asashima M. Liver ultrastructure and a new cell type in the Japanese newt, *Cynops pyrrhogaster*. Eur J Morphol, 1991, 29(4): 255-270.
- [18] Duellman W E, Trueb L. Biology of Amphibians. New York: McGraw Hill Book Co, 1986: 408-410.
- [19] 华田苗, 陈士超, 陈壁辉, 等. 扬子鳄胆囊的组织学研究. 解剖学杂志, 2001, 24(2): 125-127.
- [20] 罗克. 家禽解剖学与组织学. 福州: 福建科学出版社, 1983: 286-287.
- [21] 朱平, 姜叙诚. 丹顶鹤胆囊的显微观察. 动物学杂志, 1998, 33(6): 26-28.
- [22] 李继承. 组织学与胚胎学. 杭州: 浙江大学出版社, 2003: 181-182.
- [23] 尾崎久雄; 吴尚忠, 译. 鱼类消化生理: 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 1983: 300-306.
- [24] Torrey T W. Morphogenesis of the Vertebrates. New York: John Wiley & Sons, 1979: 350-351.
- [25] 赵万鹏, 赵宏霞, 员冬梅. 鳖胰腺和胆囊组织学的初步观察. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 2006, 19(3): 300-302.
- [26] 邵晨, 洪焯明. 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, 2005, 18(2): 197-200.

图 版 说 明

商城肥鲩肝和胰的组织学及肥大细胞观察:标尺 = 50 μm

a:肝小叶,示中央静脉,肝细胞索,箭头所指为色素细胞, $\times 200$; b:肝门管区,示小叶间胆管的平滑肌和内皮细胞(箭头所指), $\times 400$; c:肝侧缘的肝小叶,示四核合胞体(箭头所指), $\times 400$; d:胆囊壁内的肥大细胞, $\times 400$; e:胰小叶,示腺泡和胰岛,箭头所指为闰管, $\times 400$; f:胰管周围分布的肥大细胞,箭头所示黑色部分为色素细胞,紫红色部分为肥大细胞, $\times 400$ 。

Explanation of Plate

The observation of histology and mast cells(MCs) in liver and pancreas of *Pachyhynobius shangchengensis*; Bar = 50 μm

a: Hepatic lobule: central vein, hepatic cords, chromatophore cells (marked by the black arrow), $\times 200$; b: Hepatic portal area: Smooth muscle and endothelial cells of interlobular bile duct (marked by the black arrow), $\times 400$; c: Hepatic lobule in each side of liver, four-nucleus syncytium (marked by the black arrow), $\times 400$; d: MCs in the gallbladder wall, $\times 400$; e: Pancreatic lobule: acini, pancreatic island and intercalated duct marked by the black arrow, $\times 400$. f: MCs close to pancreatic duct (purple areas), chromatophore cells (marked by the black arrow), $\times 400$.

PN:色素细胞; HC:肝细胞索; CV:中央静脉; IV:小叶间静脉; IB:小叶间胆管; IA:小叶间动脉; GN:巨型肝细胞; EP:黏膜上皮; MC:肥大细胞; CN:泡心细胞; I:胰岛; A:腺泡; BN:浆液性腺泡; PD:胰管; AR:动脉。

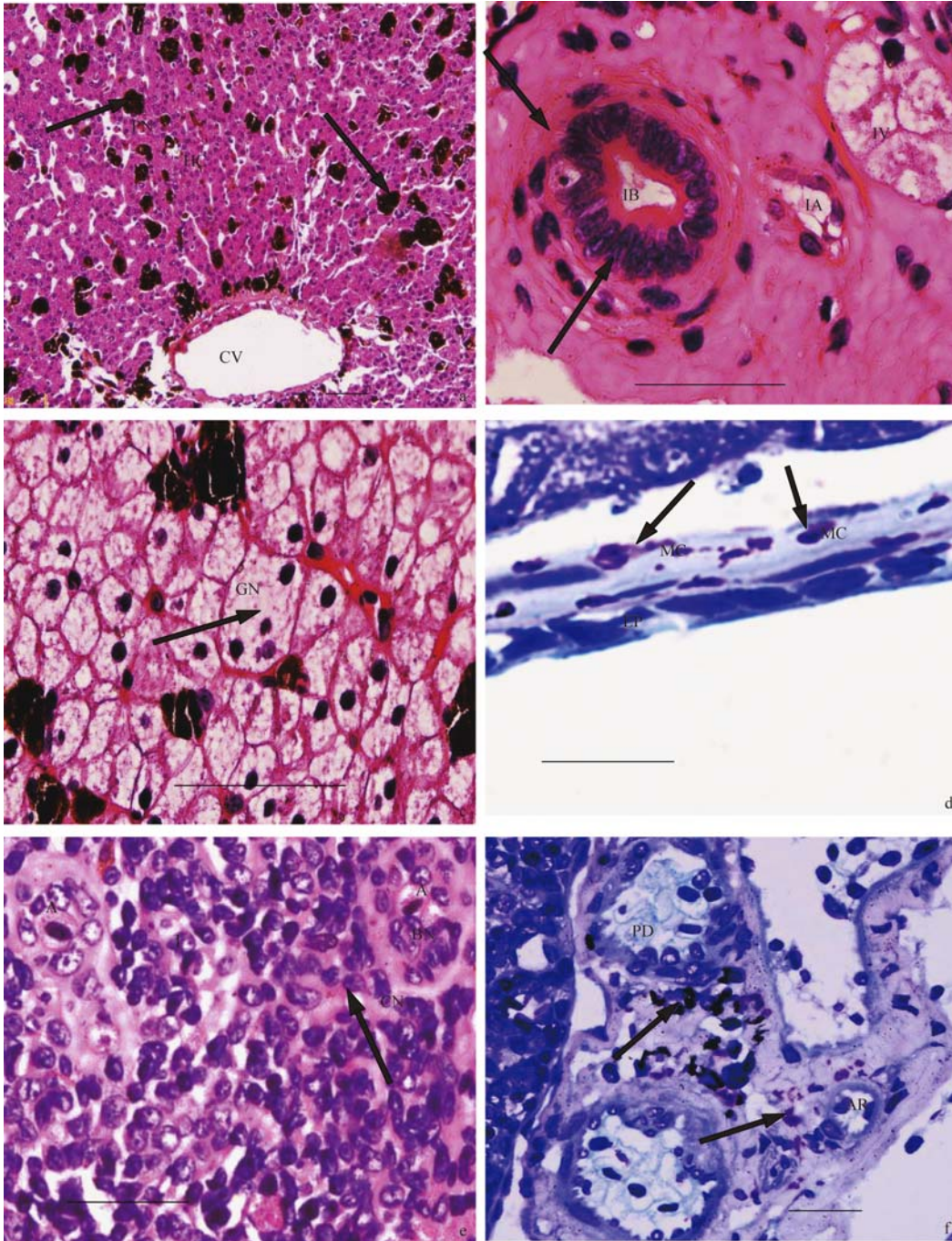
PN: Pigmental cells of liver; HC: Hepatic cords; CV: Central vein; IV: Interlobular vein; IB: Interlobular bile duct; IA: Interlobular artery; GN: Giant liver cell; EP: Mucosal epithelium; MC: Mall cell; CN: Centroacinar cell; I: Pancreatic island; A: Acini; BN: Serous cell. PD: Pancreatic duct; AR: Artery.

张 方等:商城肥鲩肝及胰的解剖学与组织学观察

图版 I

ZHANG Fang *et al.*: Anatomical and Histological Observation on the Liver and Pancreas of *Pachyhynobius shangchengensis*

Plate I



图版说明见文后