DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.06.007

低氧条件下豚鼠肺Clara细胞超微结构的观察和定量分析

武继祥* 王启民（组胚教研室）

提 要 本文观察了正常成年豚鼠Clara细胞的超微结构和模拟海拔高度5000m 24h、48h和72h后的改变，并对SER和某些细胞器作了定量分析。正常豚鼠Clara细胞顶部充满大量SER和分泌颗粒，GA较发达，表明该细胞为活跃的分泌细胞。低氧24h后Clara细胞呈现早期应激状态。低氧48h和72h后SER和GA高度囊性扩张，体积密度增加，分泌颗粒数目密度增加；但平均体积在72h组明显下降。这些结果表明低氧导致Clara细胞超微结构改变，功能亢进，分泌增强，提示该细胞可能参与表面活性物质的形成。

关键词 Clara细胞； 超微结构；低氧； 定量分析；豚鼠

Clara细胞为1种位于终末细支气管的分泌细胞，它易受环境因素的影响。低氧时大鼠和骆驼Clara细胞帽状突很明显[1][2]，但未见细胞改变的详细描述，更无定量资料。本文观察了正常豚鼠Clara细胞的超微结构和模拟海拔5000m高度24h、48h和72h后的改变，并对SER和某些细胞器作了定量分析，以期了解豚鼠Clara细胞的超微结构及低氧时这些结构的形态和定量的改变，探讨豚鼠Clara细胞的分泌功能和作用。

1 材料和方法

健康成年豚鼠24只，体重350g～400g，随机分为正常、低氧24h、48h和72h 4组，每组6只动物。低氧组置于低氧装置内，模拟海拔高度为5000m。麻醉后气管灌注固定，右肺尖叶取材，常规电镜制样。按郑富盛法对正常、低氧48h和72h 3组动物做立体计量分析，共获得电镜照片360张，随机放置方格形测量板获取数据和计算。所得结果用医学统计程序处理。

2 结果

2.1 Clara细胞超微结构

2.1.1 正常组：

Clara细胞呈低柱状，细胞顶部形成帽状胞突，并充满大量SER和丰富的分泌颗粒（图1）。Golgi器（GA）较发达。SER呈板层状或小泡状，常绕线粒体紧密排列。多数分泌颗粒为圆形或卵圆形，基质密度低；极少数圆形分泌颗粒电子密度高；另有少数Clara细胞含电子密度很高的多边形颗粒。偶见分泌颗粒与顶部胞膜相贴，并排入腔内。

2.1.2 低氧组Clara细胞超微结构的改变：

低氧24h后，Clara细胞各细胞器处于较活跃状态，SER和GA略有扩张，分泌颗粒边移（图2）。低

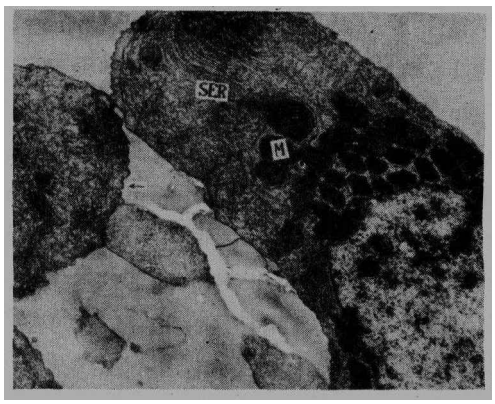


图1 正常Clara细胞，帽状突起。细胞顶部含SER多边形分泌颗粒，线粒体(M)，游离胞质团块（箭头）。×9 600

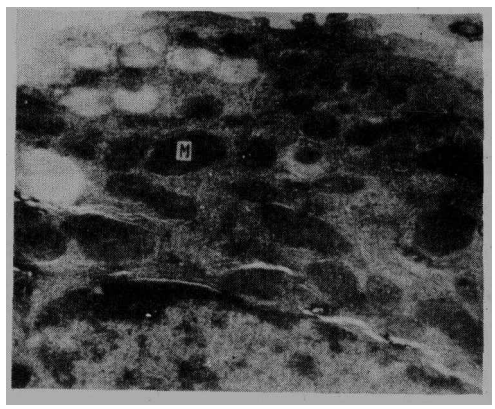


图2 低氧24h，分泌颗粒基质浅位置边移。SER围绕多边形颗粒呈同心圆排列。M：线粒体 ×15 000

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

氧48h和72h后，Clara细胞帽状突更明显，有些以缩窄的峡部与胞体相连，有些与胞体分离，形成游离胞质团块；SER和GA高度囊性扩张（图3）。分泌颗粒边移，大小不等，数量增多（图4）。

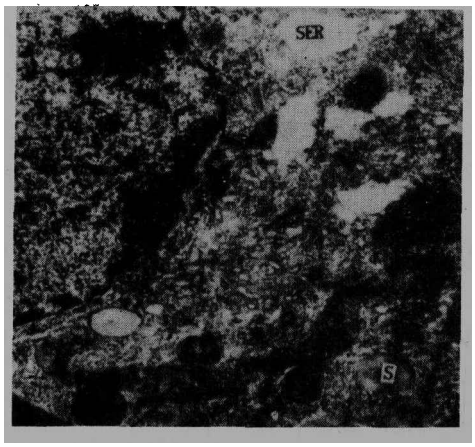


图3 低氧48h，SER高度囊性扩张，基质电子密度低，电子密度高的分泌颗粒(S)。×48 700

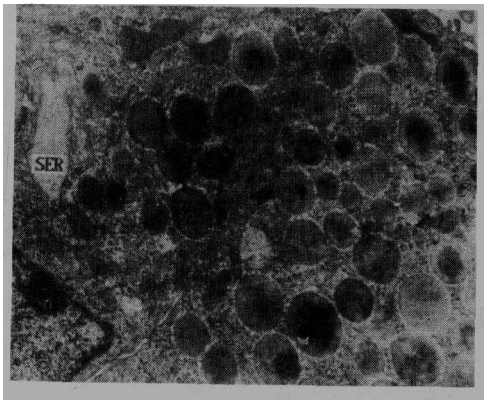


图4 低氧72h，分泌颗粒数量增多，位置边移，SER扩张，含细颗粒基质。×15 000

2.2 立体计量结果

本文仅对正常、低氧48h和72h 3组作了定量分析，结果见表1、2：

表1、正常和低氧组豚鼠Clara细胞SER、分泌颗粒、Golgi复合体和板层样包含体体积密度（$\bar{X}\pm 1$ SE%）

组　别	SER	分泌颗粒	Golgi复合体	LL△
正常组	33.62±1.23	4.68±0.84	0.50±0.15	0.98±0.23
低氧48h组	48.43±1.42**	4.24±1.03	0.85±0.22	1.32±0.37
低氧72h组	45.46±1.32**	4.31±0.69	0.52±0.20	1.84±0.35

△：LL：Lamellat inclusion body

**：示方差分析结果$P<0.001$　相差非常显著

表2、正常和低氧组豚鼠Clara细胞分泌颗粒数目密度和平均体积（$\bar{X}\pm 1$ SE）

组　别	数目密度（个/μm^3）	平均体积（μm^3）
正常组	24.87±5.15	0.23±0.04*
低氧48h组	27.72±7.61	0.20±0.03*
低氧72h组	37.13±5.49	0.12±0.01

*：示方差分析结果$P<0.05$　相差显著

3 讨论

3.1 Clara细胞超微结构与分泌功能

豚鼠Clara细胞的超微结构表明该细胞为活跃的分泌细胞，具有很强的分泌功能，其分泌颗粒有3种形式。多数分泌颗粒与粘液颗粒相似[3]；少数颗粒电子密度高，这类颗粒未见文献提到，Pack[8]称小鼠Clara细胞的这种颗粒为“浆液性”颗粒。豚鼠Clara细胞还含有1种特殊的多边形颗粒，含均匀电子密度极高的结晶状物质。Plopper[4]在很高的放大倍数下，

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

发现这种结晶状物质呈现60Å～80Å的晶格排列，很象生理状态下磷脂和水的混合体。

Clara细胞分泌颗粒的性质和作用至今仍有分歧。Niden[5]等认为Clara细胞分泌表面活性物质，但此见解与多数实验结果相异[6]。近年来多数学者[7]认为Clara细胞分泌颗粒含蛋白质和磷脂，参与表面活性物质的形成。本文观察结果提示豚鼠Clara细胞3种形式的分泌颗粒可能含不同的分泌产物，具多方面作用，可能参与表面活性物质的分泌，形成小气道液态分泌物，对维持纤毛功能，保持小气道通畅具重要作用。

3.2 低氧下Clara细胞超微结构的改变

本文观察结果显示：低氧24h后Clara细胞各细胞器处于早期应激状态，低氧48h和72h后SER和GA高度囊性扩张，体积密度明显增加（表1、图5），表明Clara细胞对低氧有明显的反应。大鼠Clara细胞对低氧也有反应[1]。低氧下Clara细胞超微结构的改变（表2、图6）提示低氧导致Clara细胞功能亢进，分泌颗粒大量释放，同时高度扩张的SER和GA加速合成分泌产物，形成大量新的体积小的分泌颗粒，以维持Clara细胞在低氧下的功能。

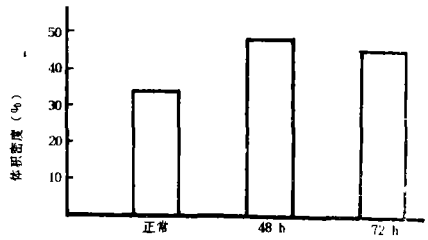


图5 正常和低氧组SER体积密度比较

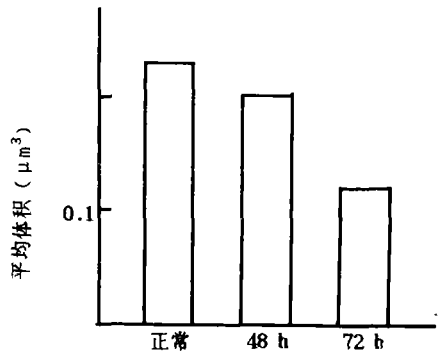


图6 正常和低氧组分泌颗粒

低氧为何导致Clara细胞功能亢进，目前尚无满意的解释。Castillo[9]发现急性低氧时肺表面张力增加，提示急性低氧引起表面活性物质缺乏。放射自显影显示Clara细胞的SER含有二软脂酰卵磷脂，为表面活性物质的成份[10]。因此低氧引起的表面活性物质缺乏，必然引起Clara细胞功能亢进，排出大量分泌产物。急性低氧时肺Ⅱ型细胞也出现类似改变，表现为板层体大量排空，提示Clara细胞和肺Ⅱ型细胞共同参与了表面活性物质的形成。Clara细胞的分泌产物可能还有利于维持低氧下纤毛的功能，保持小气道通畅。

参 考 文 献

1. Smith P, et al. The Clara cell. Thorax 1974; 29:147～163
2. Heath D, et al. Clara cell in the llama. Exp Cell Biol 1976; 44:73～82
3. Pack RJ. The cell of tracheobronchial epithelium of themmouse:a quantitative light and eletron microscope study. J Anat 1981; 132:71～84
4. Plopper CG, et al. Ultrastructure of the nonciliated bronchiolar epithelial (Clara) cell of mamalian lung I:A comparison of rabbit, guinea-pig, hamster and mouse. Exp Lung Res 1980; 1:139～145
5. Niden AH. Bronchiolar and large alveolar cell in pulmonary phospholipid metablism. Science 1967; 158:1323
6. Kuhn C. Ciliated and Clara cells. Lung Cells in Disease 91～108

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

7. Cutz E, et al. Ultrastructure and cytochemistry of Clara cells Am J Pathol 1971; 62:127-141
8. 何权瀛。肺表面活性物质与小气道功能之间的关系。国外医学：呼吸系统分册 1983；3(4):158～160
9. Castillo Y. Pulmonary surfactant in acutely hypoxic mice. Lab Invest 1969; 21:61～64
10. Etherton JE, et al. Autoradiographical and morphological evidence for apocrine secretion of dipalmitoyl lecithin in the terminal bronchiole of mouse lung. Am J Anat 1973; 138:11～36

(收稿：1989.09.02；修回：1990.06.07)

The Observation and Quantitative Analysis of the Ultrastructure of Clara cell in the Lung of Guinea-pig at the Condition of Hypoxia

Wu Jixiang and Wang Qimin (Department of Histology and Embryology, Third Military Medical College)

By using the transmission electron microscopy, the ultrastructure of the Clara cell of the normal adult guinea-pig and its change under the simulated elevation of 5 000m after 24 h, 28 h and 72 h are studied. Meanwhile the quantitative analysis of the SER and some organelles are carried out. Clara cell of the normal guinea-pig contains abundent SER and secretory granules with a prominent Golgi apparatus. The facts suggest that Clara cell has the secretory characteristics. After 24 h hypoxia, Clara cells appear the early states of response. After 48 h and 72 h the SER and Golgi apparatus appear highly exaggerated. Their volume density is increased and the numeral density of secretory granules also increased. The average volume of the secretory granules decreased apparently in 72 h groups. These results show that the hypoxia cause the ultrastructural changes and enhance the evidence that Clara cells may participate the formation of the surfactant.

Key words: Clara cell; ultrastructure; hypoxia quantitative analysis; guinea-pig

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net