DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.01.006

六种哺乳类动物肝细胞内溶酶体形态的比较研究

王启民 杨 恬 杨淑珍 孙 榆（组胚教研室）

施同舟 张桂香 可金星 李爱莲（电镜室）

提 要 本文用电镜、酸性磷酸酶ACPase组化和立体计量分析，对成年猴、狗、猫、兔、大鼠和小鼠肝细胞内溶酶体作了超微结构定性和定量的比较观测。

几种动物肝细胞的致密体超微结构相似，但数量和大小各有差别。消化泡以大鼠、小鼠、兔和猴的数量最多，狗和猫的较少。与此相反，大鼠、小鼠和兔的残体较少见，猫和猴的稍多，狗的残体为数最多，且见有在其旁的未消化物质正进入残体内进行消化。这几种哺乳类动物肝细胞内消化泡与残体所出现的差别，据推测可能与所食饲料的性质和动物种属不同有关。

鬃毛有衣小泡多位于细胞膜的深处。在狗和猴见到侧邻的两个肝细胞的一侧胞膜出芽，陷入胞质内，其末端膨大，似脱离而形成鬃毛有衣小泡。

6种哺乳类动物肝细胞内溶酶体的形态计量分析所得结果：体积密度中，以狗为最高，小鼠最低；数目密度中，猴最高，兔最低。

关键词 溶酶体—超微结构；酸性磷酸酶类—血液；哺乳动物

从形态学观点研究成年哺乳类动物肝细胞内溶酶体的文献较多[1-4][8]，但就所见，尚未见对不同种属哺乳类动物肝细胞内溶酶体作过比较性观察。本文进行了弥猴、狗、猫、兔、大白鼠和小白鼠的肝细胞内溶酶体的超微结构定性及定量的比较研究，兹报告于次。

材料和方法

所用动物计有猴（4）、狗（4）、猫（3）、兔（4）、大鼠（8）及小鼠（6）（括弧内为动物数），雌雄均有，均系杂种健康成年动物，饲以本校动物室配制的饲料，饮水不限。

一、常规电镜

分别采用乙醚、3%戊巴比妥钠麻醉后开腹或断头处死，取材时间均在上午9～10时。从前述6种动物肝右叶取得组织，分别修成约1 mm^3小块，固定在4℃、3%～4%戊二醛磷酸缓冲液内，以1%锇酸后固定，经不同梯度丙酮脱水，环氧树脂618包埋。LKB超薄切片机切厚$500\sim600\times10^{-10}$m超薄切片，醋酸铀和枸橼酸铅染色。DX_{4-10}及H300型电镜观察。

二、酸性磷酸酶电镜组化

为了确认所观察的各动物肝细胞内所含的溶酶体，6种动物的肝右叶组织块，分别于福尔马林-钙溶液中固定4 h，4 ℃，以Essner等改良的显示ACPase电镜组化法，依次经孵育、1%锇酸后固定等操作程序，制成ACPase组化超薄切片。去除硝酸铅作对照。

三、立体计量分析

应用立体计量法作定量分析，从取材至测量各步骤均按多阶随机取样进行。每种动物任选3～4只，每只动物从修毕的组织块中随机取3块固定，常规脱水包埋，每包埋块切出$500\sim600\times10^{-10}$m超薄切片，在同样放大倍数下（12000倍）随机照相4张。共取电镜照片240张。

在所得照片上利用测试板进行立体定量分析，测量方法和公式参照Weibel等的描述[5 6]。作者所用的测试板为方格型，测试点P_T为192，测试面积A_T为59.4cm^2。根据立体学公式：

$$Vvi = \frac{Pi}{F_T}$$

$$Nvi = \frac{1}{\beta} \cdot \frac{NAi^{\frac{3}{2}}}{Vvi^{\frac{1}{2}}} \cdot k$$

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

计算出6种动物肝细胞内溶酶体的体积密度和数目密度。所有资料均经统计学处理，并作显著性检验。

本文结果是根据总数为1260张电镜照片进行定性及定量分析的。

结　　果

一、超微结构观察

初级溶酶体包括致密体和小有衣小泡。

致密体（Dense body）：在所观察的各动物肝细胞内，致密体其形状相似，多为圆形或卵圆形，但大小不同。可见几个至十几个致密体聚集，似有并合趋势。

在各动物肝细胞内的致密体多分布于胆小管旁及核周，会聚于胆小管旁称极性现象。在胆小管和肝血窦内可出现致密体。

所观察各动物的肝细胞内致密体的结构相同，外围界膜，基质内电子密度深而显均质性，偶可见颗粒状。致密体呈ACPase阳性反应。

小有衣小泡（Small coated vesicle）：这里指的一些小有衣小泡（图2－2）是文献所述的表现或作为初级溶酶体的小有衣小泡[3][7]。它们呈圆形或卵圆形，外围界膜，覆以本文标本显示欠清楚的鬃毛（bristle）。小有衣小泡多位于Golgi复合体附近（见图2左上插图），可聚集在一起，亦可分布于细胞溶质的其它部位。几种动物肝细胞内这种小有衣小泡在形态上未见有何不同。

消化泡（Digestive vacuole）：凡含有亮泡的次级溶酶体称消化泡。在所观察的大鼠、小鼠、兔和猴的肝细胞消化泡内，含有一个大小不同的亮泡切面者较多见，而狗和猫的以含2～3个亮泡者较多。

残体（Residue body）：电镜下所见几种动物肝细胞内出现的残体恰与前述消化泡相反。大鼠、小鼠和兔的肝细胞内残体甚少，猫和猴稍多，但在狗残体则大量出现，有时可堆积成群（图3），它们内含不同形状和大小的亮泡，夹着多少不一的嗜锇性强、ACPase阳性反应的不规则带状物质。有些残体旁可见未消化的泡状物，似为吞饮小泡（图3左上插图），它们正在纷纷进入残体，而进行消化，这表明这些残体仍进行着水解作用。

多泡体（Multivesicular body）：多泡体（图1）在大鼠肝细胞内较为多见，其它所观察的几种动物肝细胞中亦可见到。除亮、暗两种类型多泡体外，在大鼠肝细胞中可见居于亮、暗之间的中间类型。多泡体多分布于细胞的周边。

自噬泡（Autophagic vacuole）：在观察的标本中，可见有些切片肝细胞内出现自噬泡（图1）。它们的形态结构和数量不一。外围弧形、杯状、环形等内质网，内可含线粒体等细胞器、包含物及细胞溶质。致密体及小有衣小泡可进入自噬泡，有些结构已降解，难以识认。

鬃毛有衣小泡（Bristle coated vesicle）：

鬃毛有衣小泡即大有衣小泡（Large coated vesicle）。它们的直径较大于小有衣小泡，且鬃毛较多。鬃毛有衣小泡多位于胞膜附近，紧临肝血窦。6种哺乳动物肝细胞内的鬃毛有衣小泡在形态结构上未见有明显差别。在狗和猴的某些切片中，可见两相邻肝细胞的邻接面，一侧胞膜出芽，内陷入胞质内，它的一端通向细胞间隙，另端呈囊状膨大，似脱离而形成鬃毛有衣小泡（图4）。

微体内进入溶酶体：在微体内可见与其融合的致密体进入基质内（图1），Bruni等[8]曾在观察大鼠肝细胞超微结构作过描述。本文除见于大鼠外，亦见于小鼠。其它4种哺乳类动物肝细胞内则未见到。这种复合体可能具有降解微体的作用。

二、立体计量分析

6种动物肝组织中肝细胞溶酶体的体积密度和数目密度所测结果列表如下：

表　肝细胞中溶酶体的体积密度和数目密度

动物	体积密度 V_{vly}(%)	数目密度 N_{vly}($\times 10^{10}$个/cm^3)
猴	1.49±0.21	16.44±1.72
狗	3.34±0.30	7.11±0.67
猫	1.03±0.11	6.06±0.48
兔	1.35±0.32	6.02±0.86
大鼠	1.19±0.14	12.69±1.38
小鼠	0.95±0.08	11.05±1.86

注：各数值表示均数±标准误

显著性检验结果表明：体积密度V_V中，狗的最高，为3.34%，除与猴（1.49%）之间p值<0.05外，与其它4种动物差异均非常显著（$p<0.01$）；小鼠V_V值最低（0.95%），与兔差异显著（$p<$

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

0.05），与猴和狗差异非常显著（$p<0.01$）。

肝细胞溶酶体数目密度（N_V）中，猴的最高（16.44×10^{10}个/cm^3），大鼠次之，兔最低（6.02×10^{10}个/cm^3），猴与狗、猫和兔差异均非常显著（$p<0.01$）。

讨　论

如前所述一些小有衣小泡表现或作为初级溶酶体[3][7]，若如此它们应含有ACPase及其它水解酶。作者所制备的ACPase切片标本中仅在与Golgi囊连续的小有衣小泡呈ACPase阳性反应。这结果与Friend等在大鼠输精管内显示小有衣小泡的ACPase反应是相符的[7]。他们认为小有衣小泡所覆被的鬃毛在pH酸性条件下被污损，因而辨识不出来小有衣小泡，故难以确定其ACPase反应。

作者观察此6种动物肝细胞超薄切片，多见肝细胞消化泡内具有一个大小不同的亮泡切面的特征，故以此标准，作了比较观察，视其有无区别。结果表明：大鼠、小鼠和兔所含这类消化泡较多；猴和猫的较少，狗的这类消化泡则更少。与此相反，大鼠、小鼠和兔的残体所见甚少，猫和猴的稍多，但狗的残体则大量出现。如我们已熟知的事实，在残体仍可继续降解大分子物质。这种现象在我们观察狗的肝细胞标本中明显可见，为图4左上插图所示，象是吞饮小泡正纷纷进入残体内进行消化。这样活跃地进行物质被水解的现象，称之为残体似欠妥。本文研究结果表明，不同种属的哺乳类动物，它们的肝细胞内消化泡与残体的形态结构是有差别的。如大鼠、小鼠和兔的肝细胞内消化泡多而较明显，残体则较少；狗的肝细胞内消化泡少，而欠明显，残体多，而且功能活跃；猫和猴的居于它们之间。据作者推测，我们所观察的6种哺乳动物肝细胞内消化泡与残体之间显示有差别的这可能与所食饲料的性质和动物种属不同有关。

从我们观察多泡体形态结构和ACPase反应来看，与Bruni[8]及Rolzim[9]所描述多泡体呈多形性和变形现象是一致的。Novikoff认为致密体和一些小有衣小泡所含的ACPase可进入多泡体。吞饮小泡能带着蛋白质或其他物质在多泡体内进行水解。

在我们观察的狗和猴肝细胞的邻接面一侧胞膜出芽，内陷于胞质内，一端芽枝通向细胞间隙，另端膨大，似脱落而形成鬃毛有衣小泡。Tamume曾报告在蝙蝠的Kupffer细胞虫样体的界膜有时陷掉成为鬃毛有衣小泡[10]。关于狗和猴的邻侧肝细胞胞膜内陷可形成鬃毛有衣小泡，尚未见有文献报道。

Friend等证明鬃毛有衣小泡具有摄取和运送蛋白质等物质的功能[7]。

哺乳类动物肝细胞溶酶体数量的比较性研究报告很少。本文的立体计量结果（N_V及V_V）与以往文献中报告的各种动物的数值大致相似，但尚未见到猴及狗的立体计量资料。

参考文献

1. Novikoff AB. Lysosomes and related particles, edited by Jean Brachet et al. The cell, Academic Press, NY, 1961; Ⅱ: 423
2. Deams WH, et al. Electron microscopy of the vacuolar apparatas, cited from Dingle JF and Fall HB, eds. Lysosomes in Biology and Pathology, North hall. publishing Co. Amnsterdam, 1969:84～112
3. Copenhover WN, et al. Bailey's textbook of Histology. 16th ed. the Williums Wilkins Company, USA 1971:31～35
4. Novikoff AB. Lysosomes, cited from the liver:Biology and Pathobiology, edited by Avins I, et al. Raven Press, NY 1982: 9～25
5. Weibel ER, et al. In "Principles and techniques of microscopy" (MA Hayat ed.) Van Hostrand Reinhold Company, NY, 1973: 239～283
6. Elias H, et al. A Guild to Practical Stereology. Karger, Basal, 1983
7. Friend S Daniel and Farquhar MG. Function of coated vesicles during protein

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

absorption in the rat vas deferens. J Cell Biol 1967; 35:357～376
8. Bruni C and Porter KR. The fine structure of the parenchymal cell of the normal rat liver. Am J Path 1965; 46:691～729
9. Rolzim L, et al. The fine structure of the multivesicular body and the relationship to the ultrastructure constituent of the central nervous system. J Neuropath Exper Neural 1967; 26:225～247
10. Tamume Yutake. Fine structure of the Kupffer cell in the rat with special reference to the wormlike structure. Arch Histol Jap 1978; 41:113～127

A Comparative Study of Hepatocyte Lysosomes in Six Kinds of Mammals

Wang Qimin, et al (Department of Histology and Embryology, Third Military Medical College)

A qualitative and quantitative comparison of the ultrastructure of the hepatocyte lysosomes of adult monkeys, dogs, cats, rabbits, rats, and mice were carried out.

The dense bodies in the hepatocytes in the animals studied were similar in their ultrastructure but different in their number and size. The digestive vacuole was more numerous in rats, mice, rabbits and monkeys than in dogs and cats. But the residue body was scarcely found in rats, mice and rabbits, a little more in cats and monkeys, and quite a lot in dogs. Besides, some undigested globular substances were found just entering into the residue bodies to be digested. The difference of the digestive vacuoles and residue bodies in the hepatocytes of these mammals are probably due to the species difference and the different kinds of food eaten.

In dogs and monkeys, bristle coated vesicles were formed by the budding out of the adjacent cell membrane of two hepatocytes with one end of the budding invaginating into the cytoplasm and the other end enlarged and pinching out.

The results of morphometric analysis of lysosomes of the hepatocytes were different in the 6 kinds of mammals studied. The volume density of lysosomes of the hepatocytes was the highest in dogs and the lowest in mice, and the numerical density was the highest in monkeys and the lowest in rabbits.

Kev words: Lysosomes/ultrastructure; Acid phosphatases/blood; Mammals

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

六种哺乳类动物肝细胞内溶酶体形态的比较研究

（正文见第23页）

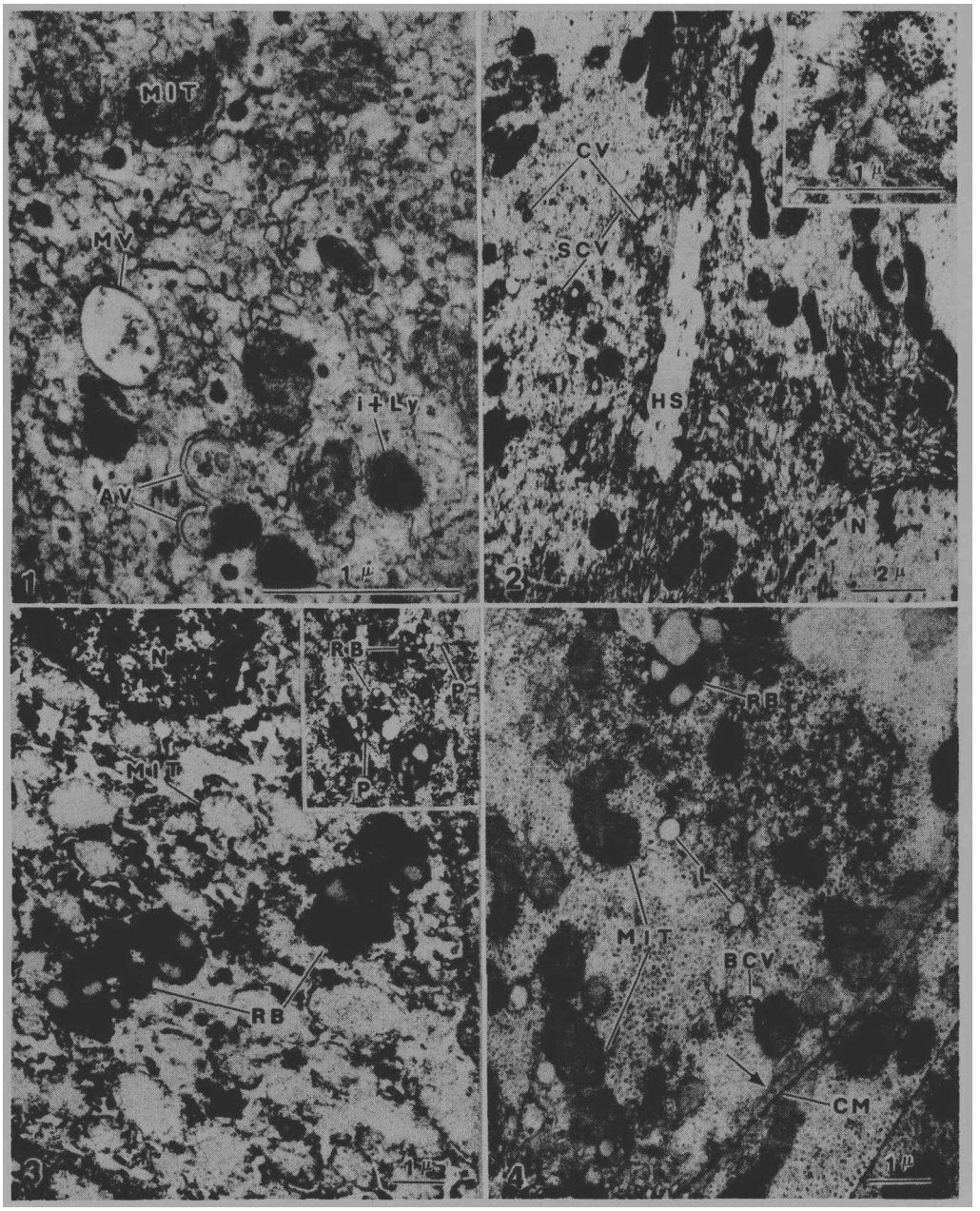


图1　大鼠部分肝细胞超微结构，显示溶酶体及其它细胞器。MV 多泡体；AV自噬泡；MIT 线粒体；i+Ly 微体内进入溶酶体。×26 000。　图2　猫的肝细胞部分超微结构。显示 SCV 小有衣小泡；BCV 髅毛有衣小泡；HS 肝血窦；N胞核。×5 000。插入图示狗肝细胞内有衣小泡形态结构。×20 000。　图3　狗肝细胞酸性磷酸酶 ACPase 反应。显示残体大而多。RB 残体；N 胞核；MIT 线粒体。×6 000。插入图示狗肝细胞内残体旁未消化泡状物P（可能为吞饮小泡），纷纷进入其内。×12 000。　图4　狗肝细胞邻接处电镜图。箭头示两细胞膜的一侧出芽，内陷入胞质，芽枝一端通向细胞间隙，另端膨大、似形成髅毛有衣小泡 BCV。CM 胞膜；MIT 线粒体；RB残体；L脂滴。×12 000。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net