

无斑肥螈消化道五羟色胺免疫活性细胞的分布与形态学观察*

张盛周^① 陈冬生^① 张志强^① 吴孝兵^① 陈壁辉^① 吴经球^②

(①安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000; ②安徽省宿松县第二中学 宿松 246500)

摘要:用S-P免疫组织化学的方法对无斑肥螈消化道5-羟色胺(5-HTIR)免疫活性细胞的分布及形态进行了观察。结果表明,5-HTIR细胞从食道到直肠的消化道各段均有分布。其中,幽门部密度最高,十二指肠次之,直肠最低。5-HTIR细胞形态多样,有圆形、梭形、纺锤形或烧瓶形,梭形、纺锤形或烧瓶形细胞有较长的胞突,有时胞突可见明显分叉。同时讨论了5-HTIR细胞的分布特点、形态与功能的关系。

关键词:无斑肥螈;消化道;五-羟色胺细胞

中图分类号:Q954 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)03-13-04

* 安徽省重点学科基金及安徽师范大学青年科学基金(No.125282)资助课题;

第一作者介绍 张盛周,31岁,男,讲师,硕士;研究方向:两栖爬行动物学;

收稿日期:1999-11-28,修回日期:2000-05-16

Distribution and Morphology Observation of 5-Hydroxytryptamine Immunoreactive Cells in the Digestive Tract of *Pachytriton labiatum*

ZHANG Sheng-Zhou^① CHEN Dong-Sheng^① ZHANG Zhi-Qiang^①

WU Xiao-Bing^① CHEN Bi-Hui^① WU Jing-Qiu^②

(① College of Life Science, Anhui Normal University Wuhu 241000;

② The Second Middle School of Susong in Anhui Province Susong 246500, China)

Abstract: Distribution and morphology of 5-Hydroxytryptamine immunoreactive(5-HTIR) cells in the digestive tract of *Pachytriton labiatum* were investigated by immunohistochemical method. The result showed: 5-HTIR cells distributed throughout the digestive tract, from esophagus to rectum, with the highest density in the stomachus pyloricus, the second highest in the duodenum and the lowest in the rectum. 5-HTIR cells assume various forms, such as round, spindle or flask-shaped. Spindle and flask-shaped cells have processes in one or both ends, some process forks in the end. The characteristic of distribution and the relationship between morphology and function were discussed.

Key words: *Pachytriton labiatum*; Digestive tract; 5-Hydroxytryptamine immunoreactive(5-HTIR) cell

消化道五羟色胺免疫活性细胞(5-Hydroxytryptamine immunoreactive, 5-HTIR)属内分泌细胞类, 其分泌的5-HT对调节消化道功能发挥重要作用^[1]。随着免疫细胞化学技术不断完善, 已有学者用5-HT抗血清对不同脊椎动物消化道5-HTIR细胞进行了精确的定位^[2-8], 其在不同动物的消化道中分布型差异较大。无斑肥螈(*Pachytriton labiatum*)属两栖类有尾目, 栖居于山区小溪砾石下、枯叶下或石缝间, 主食水生无脊椎动物。其消化道5-HTIR细胞的密度分布和形态特点未见报道, 本文对此进行了研究, 为探求内分泌细胞在动物消化道中的分布规律积累新的资料, 丰富比较内分泌学知识。同时, 也可供两栖类消化生理学研究参考。

1 材料与方法

1.1 材料 无斑肥螈6只, 长8~10 cm。1999年6月采自安徽省黄山, 断头处死, 迅速按下列消化道各段取材: 食道、胃贲门部、胃体、胃幽门部、十二指肠、空肠、回肠和直肠。生理盐水洗净, 用无冰醋酸的Bouin's液固定18~24 h, 常

规脱水透明, 石蜡包埋, 切片(5~7 μm), 贴片。

1.2 主要试剂 免抗5-HT血清(ZYMED公司产品)工作浓度1:50, 链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(streptavidin peroxidase, S-P)免疫组织化学试剂盒购于北京中山生物技术公司。

1.3 免疫组织化学方法 常规石蜡切片脱蜡至水。3% H₂O₂甲醇溶液孵育5 min, 蒸馏水洗净, PBS浸泡5 min, 滴加正常山羊血清(1:10)室温孵育10 min。吸去血清, 滴加一抗, 4℃过夜。PBS洗涤3次×5 min, 滴加即用型生物素标记的二抗(羊抗兔IgG抗血清), 室温孵育1 h。PBS洗涤3次×5 min, 滴加即用型链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶, 室温孵育1 h。PBS浸洗3次×5 min, DAB-H₂O₂显色, 自来水洗净, 脱水, 透明, 封片。阴性对照, 分别以正常羊血清和PBS代替一抗, 其余步骤同上。

1.4 细胞计数 在Olympus BH-2型显微镜下观察、拍照, 并对每个部位的切片随机取10个400倍视野计数, 取平均值($\bar{X} \pm SD$), 表示内分泌细胞的分布密度。

2 结 果

2.1 5-HTIR 细胞的密度分布 5-HTIR 细胞在消化道各部位的分布密度分别为, 食道: 0.60 ± 0.70 ; 胃贲门部: 1.60 ± 0.52 ; 胃体: 1.40 ± 0.52 ; 胃幽门部: 3.20 ± 1.40 ; 十二指肠: 1.70 ± 0.48 ; 空肠: 1.40 ± 0.93 ; 回肠: 0.70 ± 0.67 ; 直肠: 0.30 ± 0.48 。胃幽门部最高(图版 I:1), 十二指肠居次, 直肠最少(图版 I:2)。

2.2 5-HTIR 细胞的形态 5-HTIR 细胞形态多样, 大致可分为: ① 圆形(或椭圆形), 主要位于上皮基部和胃腺腺上皮中(图版 I:3); ② 梭形(或长梭形), 主要位于上皮细胞之间, 细胞两端有较长的胞突, 分别通向消化腔和固有膜(图版 I:4, 5); ③ 纺锤形(或钟形)和烧瓶形, 亦主要位于上皮细胞之间, 但细胞仅一端有较长胞突, 通向消化腔或固有膜(图版 I:6~9), 胞体基部膨大, 可见分泌颗粒(图版 I:6, 7), 有的胞突中有囊状膨大(图版 I:8), 有的胞突有明显的分叉(图版 I:9)。

3 讨 论

5-HTIR 细胞广泛存在于各类脊椎动物消化道中^[2~8], 但其在各类动物消化道中分布型差异较大。食道 5-HTIR 细胞仅见于两栖类和爬行类^[2~4]。本研究的无斑肥螈食道中亦有少量 5-HTIR 细胞。多数动物 5-HTIR 细胞集中于胃幽门部, 如小鼠^[2]、黄喉水龟^[2]、蟾蜍^[2], 或十二指肠中, 如犏牛^[5]、虎皮鹦鹉^[2]、扬子鳄^[4]。也有少数例外, 如大熊猫^[6]在空肠最多, 北京鸭^[7]多分布于盲肠和直肠。无斑肥螈 5-HTIR 细胞在胃幽门部最多, 十二指肠次之, 与多数动物相一致, 这很容易理解, 因为胃幽门部和十二指肠是消化道行使消化功能的重要部位。

爬行类^[2, 4]、鸟类^[2, 7]和哺乳类^[2, 5]的肠道 5-HTIR 细胞从十二指肠至回肠逐渐减少, 直肠又有所回升; 鱼类^[2]直肠依然减少。无斑肥螈与鱼类类似。

从细胞外形上看, 现一般将消化道内分泌细胞分为两大类^[1, 9]: 一类是开放型细胞, 该类

细胞的突出特点是都有较长的胞突通向消化腔; 另一类是闭合型细胞, 该类细胞多呈圆形, 与消化腔无直接联系。也有人认为闭合型细胞是由于切片所致而缺少胞突, 实际上, 几乎所有胃肠胰内分泌细胞都属于开放型^[9]。无斑肥螈的梭形、纺锤形或烧瓶形 5-HTIR 细胞都有较长的胞突伸向消化腔, 显然属开放型细胞。胃腺部圆形或椭圆形 5-HTIR 细胞虽然与消化腔无直接联系, 但与腺管腔有联系, 从这一点看, 支持了“所有胃肠内分泌细胞都属于开放型”的观点。一般认为^[1, 9], 开放型细胞可通过其较长的胞突直接感受消化腔内内容物的刺激, 有“胃肠味觉细胞”之称; 闭合型细胞主要感受局部内环境的变化和消化腔内容物压力的刺激。无斑肥螈胃腺部 5-HTIR 细胞与腺腔有直接联系, 表明其可直接感受腺腔内的刺激。

生理学实验表明, 消化道内分泌细胞可能直接向消化腔内释放激素^[10]。本研究中见到的梭形、纺锤形或烧瓶形的 5-HTIR 细胞有较长胞突伸入消化腔, 进一步证实其可能具有直接向消化腔内进行分泌的外分泌功能, 有的胞突中有囊状膨大, 有报道认为这种囊状膨大与贮藏分泌物有关^[11]。

梭形、纺锤形或烧瓶形 5-HTIR 细胞有较长的胞突, 有的胞突还有明显的分叉, 与神经元相似, 这为 Pearse 的散在的神经内分泌学说^[12]也适用于低等脊椎动物提供了形态学依据。

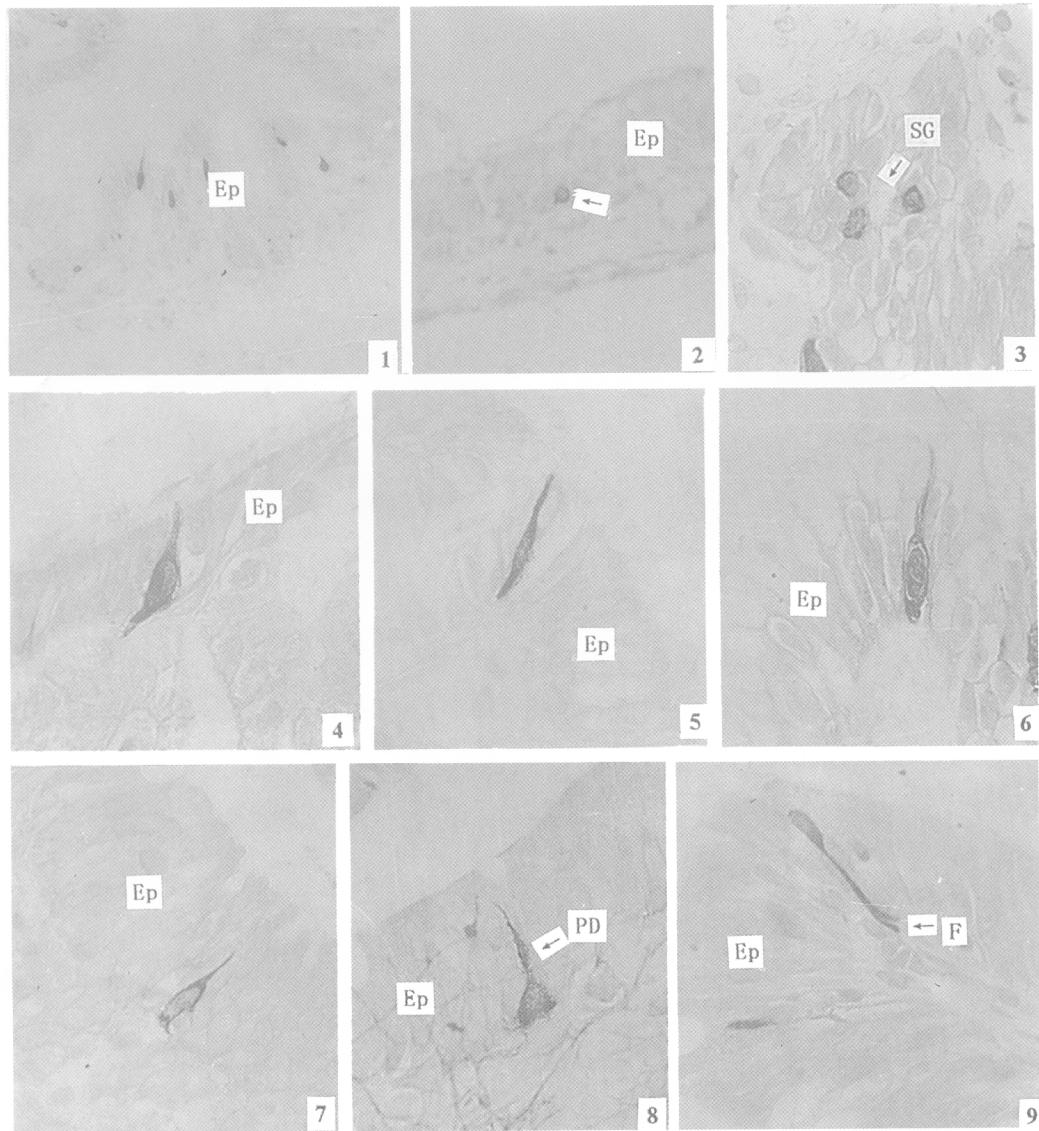
参 考 文 献

- [1] 周舒, 娄艾琳主编. 5-羟色胺的生理和病理生理. 北京: 人民卫生出版社, 1988. 77~81.
- [2] 唐晓斐, 郑一守. 不同脊椎动物消化道内 5-羟色胺免疫染色细胞的分布. 动物学研究, 1991, 12(3): 293~298.
- [3] El-Saly, M., E. Wilander, M. Lundqvist. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomed. Res.*, 1985, 6(6): 371~375.
- [4] 吴孝兵, 张盛周, 陈壁辉等. 扬子鳄消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究. 动物学报, 1999, 45(2): 155~161.
- [5] 方之平, 孙宝田, 谢云芳等. 新疆犏牛胃肠胰系统免疫活性细胞的免疫组织化学研究. 解剖学报, 1994, 25(1): 78~81.

- [6] 杨贵波,陈茂生,邓泽沛等.大熊猫胃肠道内分泌细胞分布型的研究.兽类学报,1995,15(1):4~10.
- [7] 邓泽沛,周占祥,山田纯三.北京鸭消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究.动物学报,1994,40(4):383~389.
- [8] 方之平,潘黔生,赵雅心.鲇、乌鳢和大口黑鲈消化道粘膜中内分泌细胞的定位及比较.见:中国动物学会编.中国动物科学研究(中国动物学会成立 65 周年论文集).北京:林业出版社,1999.1 031~1 035.
- [9] 潘黔生,方之平.鱼类胃肠胰内分泌系统 APUD 细胞研
究的现状.水生生物学报,1995,19(3):275~282.
- [10] 黄威权,黄宗明,王文超.大鼠胃肠道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布及形态学观察.解剖学报,1987,18(4):422~425.
- [11] 方之平,潘黔生.四种无胃真骨鱼肠道嗜银细胞的分布及形态学.见:中国动物学会编.中国动物学会成立 60 周年论文集.北京:科学出版社,1994.47~52.
- [12] 孙克继.关于 APUD 系统研究的进展与争议.见:何泽涌编.组织学与胚胎学进展.北京:人民卫生出版社,1987.130~133.

ZHANG Sheng-Zhou et al . : Distribution and Morphology Observation of 5-Hydroxytryptamine Immunoreactive Cells in the Digestive Tract of *Pachytriton labiatum*

Plate I



1. 幽门较多的 5-HTIR 细胞 $\times 200$; 2. 直肠偶见的 5-HTIR 细胞(↑) $\times 400$; 3. 胃腺圆形 5-HTIR 细胞 $\times 800$; 4. 胃上皮梭形 5-HTIR 细胞 $\times 800$; 5. 食道长梭形 5-HTIR 细胞 $\times 800$; 6. 胃上皮纺锤形 5-HTIR 细胞 $\times 800$; 7. 空肠钟形 5-HTIR 细胞 $\times 800$; 8. 回肠烧瓶形 5-HTIR 细胞 $\times 800$; 9. 十二指肠具有分叉胞突的 5-HTIR 细胞 $\times 800$

Ep:上皮; F:分叉; PD:膨大; SG:胃腺