

蝮蛇消化道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位

鲍明升^① 黄徐根^② 吴孝兵^{②*}

(^① 蚌埠医学院细胞生物学教研室 蚌埠 233003; ^② 安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000)

摘要 应用 5-羟色胺 (5-Hydroxytryptamine, 5-HT) 特异性抗血清对蝮蛇 (*Sphenomorphus iudicus*) 消化道 5-HT 细胞的分布及形态进行了免疫组织化学研究。结果表明, 5-HT 阳性细胞在蝮蛇消化道各段均有分布, 其中以胃幽门部位分布密度最高, 食道与直肠部位其次, 空肠部位分布密度最低。消化道各段 5-HT 细胞形态多样, 有圆形、椭圆形、梭形、楔形、不规则形, 其中梭形细胞多具有胞突。文中对蝮蛇消化道 5-HT 细胞的分布、形态与功能相适应的特点进行了讨论。

关键词: 蝮蛇; 消化道; 5-羟色胺细胞; 免疫组织化学

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2005)03-20-05

Immunohistochemical Localization of 5-HT Cells in the Digestive Tract of *Sphenomorphus iudicus*

BAO Ming-Sheng^① HUANG Xu-Gen^② WU Xiao-Bing^②

(^① Department of Cell Biology, Bengbu Medical College, Bengbu 233003;

^② College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract Distribution and morphology of 5-hydroxytryptamine (5-HT) cells in the digestive tract of *Sphenomorphus iudicus* were investigated with specific anti-5-HT antiserum by using immunohistochemical method. The results showed that 5-HT positive cells distributed throughout the digestive tract with the highest density in the pylorus, and the second highest density in the oesophagus and rectum, and the lowest density in the jejunum. The 5-HT cells were in various shapes, such as round, oval, spindle-like, wedge-like or irregular in shape. Most spindle-like cells had processes. The results suggest that the distribution and morphology of 5-HT cells in the digestive tract are likely consistent with their function in *S. iudicus*.

Key words: *Sphenomorphus iudicus*; Digestive tract; 5-Hydroxytryptamine cells; Immunohistochemistry

消化道不仅是脊椎动物体内重要的消化器官,也是体内最大的内分泌器官,其中含有大量的内分泌细胞^[1]。消化道 5-HT 细胞属内分泌细胞类,其分泌的 5-HT 对调节消化功能具有重要作用^[2]。爬行动物在整个脊椎动物中居于承上启下的特殊地位,对爬行类动物胃肠道内分泌细胞的研究,国内外已有一些报道^[3~10],但分歧较大。蝮蛇 (*Sphenomorphus iudicus*) 属爬行纲 (Reptilia) 石龙子科 (Scincida) 动物,对蝮蛇消化道 5-HT 细胞的分布和形态特点的研究迄今未见报道。本文拟对蝮蛇消化道 5-HT 细胞进行研究,以期探讨爬行类消

化道 5-HT 细胞的分布规律,为爬行类消化生理学研究提供形态学基础资料,并丰富爬行类消化道比较内分泌学的内容。

基金项目 安徽省自然科学基金 (No. 01043501), 重要生物资源保护与利用安徽省重点实验室专项基金,安徽省学术与技术带头人专项基金,安徽省优秀青年基金 (No. 04043049), 安徽师范大学青年基金;

* 通讯作者, E-mail: wuxb@mail.ahnu.edu.cn;

第一作者介绍 鲍明升,男,讲师,研究方向:细胞化学和细胞分子生物学。

收稿日期: 2004-11-03, 修回日期: 2005-03-14

1 材料与方 法

1.1 材料 螻蛄 5 条,采自滁州琅琊山,头体长为 (14 ± 1.5) cm。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。

1.2 主要试剂 兔抗 5-HT 血清为美国 ZYMED 公司产品(ZA-0231),工作浓度 1:100。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 取 1.1 节中的实验材料用生理盐水洗净,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 5~6 μ m 贴片。常规石蜡切片脱蜡至水后,3% H_2O_2 甲醇溶液孵育 10 min,消除内源性过氧化物酶活性。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,封闭非特异性反应

部位。倾去血清,滴加兔抗 5-HT 抗血清,4 $^{\circ}$ C 过夜。PBS 浸洗 3 次 \times 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 15 min。PBS 浸洗 3 次 \times 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 15 min。PBS 浸洗 3 次 \times 5 min。DAB- H_2O_2 显色,苏木精复染,自来水洗净。脱水、透明、封片。免疫组织化学法阴性对照,分别用正常山羊血清和 PBS 代替一抗,其余步骤同上。

1.4 细胞计数 在 Olympus BX-51 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。测内分泌细胞的分布密度(个/400 倍视野),用单向 ANOVA 比较。

2 结 果

2.1 5-HT 细胞分布特点 5-HT 细胞在螻蛄消化道的分布见表 1。而所有对照实验结果均为阴性。

表 1 螻蛄消化道 5-HT 细胞的分布密度(个/400 倍视野)

Table 1 Distribution and density of 5-HT cells in digestive tract of *Sphenomorpha indicus*(unit/400 times visual field)

食道 Oesophagus	胃贲门 Cardia	胃体 Fundus	胃幽门 Pylorus	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	直肠 Rectum
7.1 ± 3.1^b	4.1 ± 1.5^c	3.2 ± 1.7^e	$11.32.7^a$	3.0 ± 0.9^c	1.6 ± 1.0^d	3.1 ± 1.1^c	7.0 ± 2.4^b

表中数据均采用平均值 \pm 标准差 ($n = 10$) 表示,该行数据经平方根转换 [$x' = (x + 1/2)/1/2$],符合正态分布,用单向 ANOVA 比较,上标不同的平均值间差异显著, $a > b > c > d$ (Duncan's 检验, $P < 0.05$)。

Data are expressed as mean \pm SD ($n = 10$), and are normal distributed by square root transformation [$x' = (x + 1/2)/1/2$]. Means with different superscripts are statistically different, $a > b > c > d$ (Duncan's test, $P < 0.05$).

螻蛄消化道各段均有 5-HT 细胞分布,①胃幽门部位分布密度最高(图版 I:5),与消化道其他各段相比差异显著 ($P < 0.05$);②食道(图版 I:1)与直肠部位分布密度其次;③胃贲门、胃体、十二指肠和回肠又次之,与②之间差异显著;④空肠部位分布密度最低,与消化道其他各段相比差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 5-HT 细胞的形态学特点 消化道各段 5-HT 细胞形态多样:圆形、椭圆形、梭形、楔形及不规则形。食道 5-HT 细胞多呈梭形、楔形,其中梭形细胞有较短胞突(图版 I:2),阳性细胞分布于食道上皮基部。胃 5-HT 细胞多呈圆形、楔形、不规则形(图版 I:4,5),部分细胞无胞突,部分细胞则有较短胞突伸向邻近细胞或胃

腺(图版 I:3,5),胃 5-HT 细胞多分布于胃腺中,在胃小凹上皮中亦有少量分布。十二指肠和空肠 5-HT 细胞呈梭形(图版 I:7),且在十二指肠中有长梭形 5-HT 细胞,其胞体端位于上皮基部,细长的胞突则伸向肠腔(图版 I:6);回肠和直肠 5-HT 细胞多呈椭(卵)圆形(图版 I:8,9),肠道 5-HT 细胞多分布于肠上皮基部。

3 讨 论

5-HT 细胞在爬行动物消化道中分布最为广泛,且在爬行类消化道各段均有分布^[3~10]。在其他脊椎动物消化道中亦广泛分布 5-HT 细胞^[11~15]。对螻蛄的研究结果亦支持上述结论:在螻蛄的消化道各段均有 5-HT 细胞分布。5-HT

细胞在脊椎动物消化道中大量而广泛的分布提示其在动物消化过程中具有重要作用。目前认为该类细胞所分泌的 5-HT 能刺激胃肠粘液分泌、平滑肌收缩和血管扩张,对消化功能有很强的调节作用^[2]。

在不同爬行动物消化道中 5-HT 细胞分布型差异较大^[3~10]。蝮蛇消化道中 5-HT 细胞在胃幽门部分布密度最高,食道和直肠部其次,而以空肠部分布密度最低。蝮蛇胃幽门部 5-HT 细胞分布密度最高,这同乌梢蛇(*Zoocys dhumnades*)、黄喉水龟(*Mauremys multica*)、金氏胎生蜥(*Egernia kingii*)、北草蜥(*Takydromus septentrionalis*)、石龙子(*E. chinensis*)等爬行动物中报道的结果相一致^[5~7,10,11]。胃幽门部位是动物实现消化功能的重要场所,5-HT 细胞在蝮蛇胃幽门部位的高密度分布与其分泌 5-HT 以调节该部位对食物的消化功能相关。蝮蛇食道部位 5-HT 细胞分布密度较高,与扬子鳄(*Alligator sinensis*)^[3]、乌梢蛇^[5]相似,均具有吞食动物性食物的习性,分泌较多 5-HT 与帮助未咀嚼的食物顺利下行有关。蝮蛇肠道中 5-HT 细胞在小肠段分布密度较低,而以直肠分布密度最高,其分布型与下列爬行动物肠道中 5-HT 细胞分布型差异较大。扬子鳄肠道中 5-HT 细胞在十二指肠分布密度最高,空肠至直肠段分布密度逐渐上升,但分布密度均小于十二指肠段^[3]。乌梢蛇、眼镜蛇(*Naja naja*)、草蜥肠道中 5-HT 细胞自十二指肠至直肠分布密度逐渐降低^[5,7]。有研究者认为,5-HT 细胞在爬行动物肠道中分布型差异与动物所栖息的水陆环境相关^[5]。小肠中尤其是十二指肠和空肠是动物实现消化与吸收功能的重要场所,多数营养物质的消化吸收在此处完成。蝮蛇小肠中 5-HT 细胞分布密度较低,因此造成蝮蛇对食物的消化吸收不良,使大量的食物残渣排进肠道后段。蝮蛇直肠中分布较高密度的 5-HT 细胞与其分泌 5-HT 促进直肠的运动以利食物残渣的排遗有关(在作者解剖蝮蛇时,发现在其直肠中尚残留不少食物残渣)。

蝮蛇消化道 5-HT 细胞形态可分为三类:一

类为梭形有胞突细胞,可能直接感受消化腔内容物的刺激向消化腔内释放激素^[12]。本实验在蝮蛇食道、十二指肠、空肠部位观察到梭形细胞有胞突伸向消化腔,进一步证实其向消化腔内进行分泌的外分泌功能。第二类为圆形、不规则形有较短胞突的细胞,主要分布在胃腺中,其较短胞突或伸向胃腺腔中或伸向邻近细胞,这类细胞可能通过旁分泌方式分泌 5-HT 以发挥其对周围细胞的局部调节作用^[1]。第三类为圆形、椭圆形、楔形细胞,这类细胞没有明显的胞突,通常被称为闭合形消化道内分泌细胞^[1],有学者认为,这类细胞也可能由于切片角度不同所致^[11]。其在蝮蛇消化道各段均有分布,尤其在回肠和直肠中较多分布,该类细胞可能是感受局部组织内环境变化的刺激而分泌激素至血液中,所分泌的 5-HT 作为循环着的激素而起作用^[11]。

参 考 文 献

- [1] 王志均,梅懋华,朱文玉. 胃肠激素. 北京: 科学出版社, 1985, 1~15.
- [2] Solcia E, Capella C, Vassallo G, et al. Endocrine cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol*, 1975, **A2**: 223~286.
- [3] 吴孝兵, 张盛周, 陈璧辉等. 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, **A5**(2): 155~161.
- [4] 张志强, 张盛周, 吴孝兵. 竹叶青消化道内分泌细胞的免疫组织化学定位. *动物学报*, 2001, **A7**(6): 601~608.
- [5] 张志强, 张盛周, 吴孝兵. 两种蛇消化道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位及比较. *动物学杂志*, 2001, **36**(6): 11~14.
- [6] 黄徐根, 吴孝兵, 张志强等. 两种爬行动物胃肠道内分泌细胞的免疫组织化学比较研究. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2003, **12**(4): 433~440.
- [7] El-Salhy M, Grimelius L. The endocrine cells of the gastrointestinal mucosa of a squamate reptile, the grass lizard (*Mabuya quinquetaeniata*). A histological and immunohistochemical study. *Biomedical Research*, 1981, **2**(6): 639~658.
- [8] Morescalchi A M, Gaccioli M, Faraldi G, et al. The gastroenteric-pancreatic neuroendocrine system in two reptilian species: *Chalcides chalcides* and *Zoonosaurus madagascariensis* (Sauridae). *Eru J Histochem*, 1997, **A1**(1): 29~40.
- [9] Arena P C, Richardson K C, Yamada J. An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the King's skink (*Egernia kingii*). *J Anat*, 1990, **170**: 73~85.

- [10] El-salhy M, Wilander E, Lundqvist N. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomedical Research*, 1985, **6**(6): 371 ~ 375.
- [11] 唐晓雯, 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.
- [12] 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.
- [13] 张盛周, 陈冬生, 张志强等. 无斑肥螭消化道五羟色胺免疫活性细胞的分布与形态学观察. *动物学杂志*, 2001, **31**(3): 13 ~ 16.
- [14] 黄徐根, 吴海龙, 吴孝兵等. 日本林蛙胃肠道内分泌细胞的免疫组织化学. *动物学杂志*, 2004, **34**(2): 19 ~ 25.
- [15] 张盛周, 吴孝兵, 陈壁辉. 虎纹蛙消化道两种内分泌细胞的免疫组织化学定位. *解剖学杂志*, 2002, **25**(3): 275 ~ 278.

图 版 说 明

1. 食道较多的 5-HT 细胞 × 200 ; 2. 食道梭形 5-HT 细胞 × 400 ; 3. 胃贲门圆形有短胞突的 5-HT 细胞 × 400 ; 4. 胃体楔形 5-HT 细胞 × 400 ; 5. 胃幽门最高密度的 5-HT 细胞 × 200 ; 6. 十二指肠长梭形 5-HT 细胞 × 400 ; 7. 空肠梭形 5-HT 细胞 × 400 ; 8. 回肠椭圆形 5-HT 细胞 × 400 ; 9. 直肠椭圆形 5-HT 细胞 × 400。

Ep : 上皮, SG : 胃腺, L : 消化道腔。

Explanation of Plate

1. A lot of 5-HT cells in the oesophagus × 200 ; 2. Shuttle shape 5-HT cells in the oesophagus × 400 ; 3. Round 5-HT cells with short cell process in the cardia × 400 ; 4. Wedge 5-HT cells in the fundus × 400 ; 5. 5-HT cells with the highest density in the pylorus × 200 ; 6. Long Shuttle shape 5-HT cells in the duodenum × 400 ; 7. Shuttle shape 5-HT cells in the jejunum × 400 ; 8. Oval 5-HT cells in the ileum × 400 ; 9. Oval 5-HT cells in the rectum × 400.

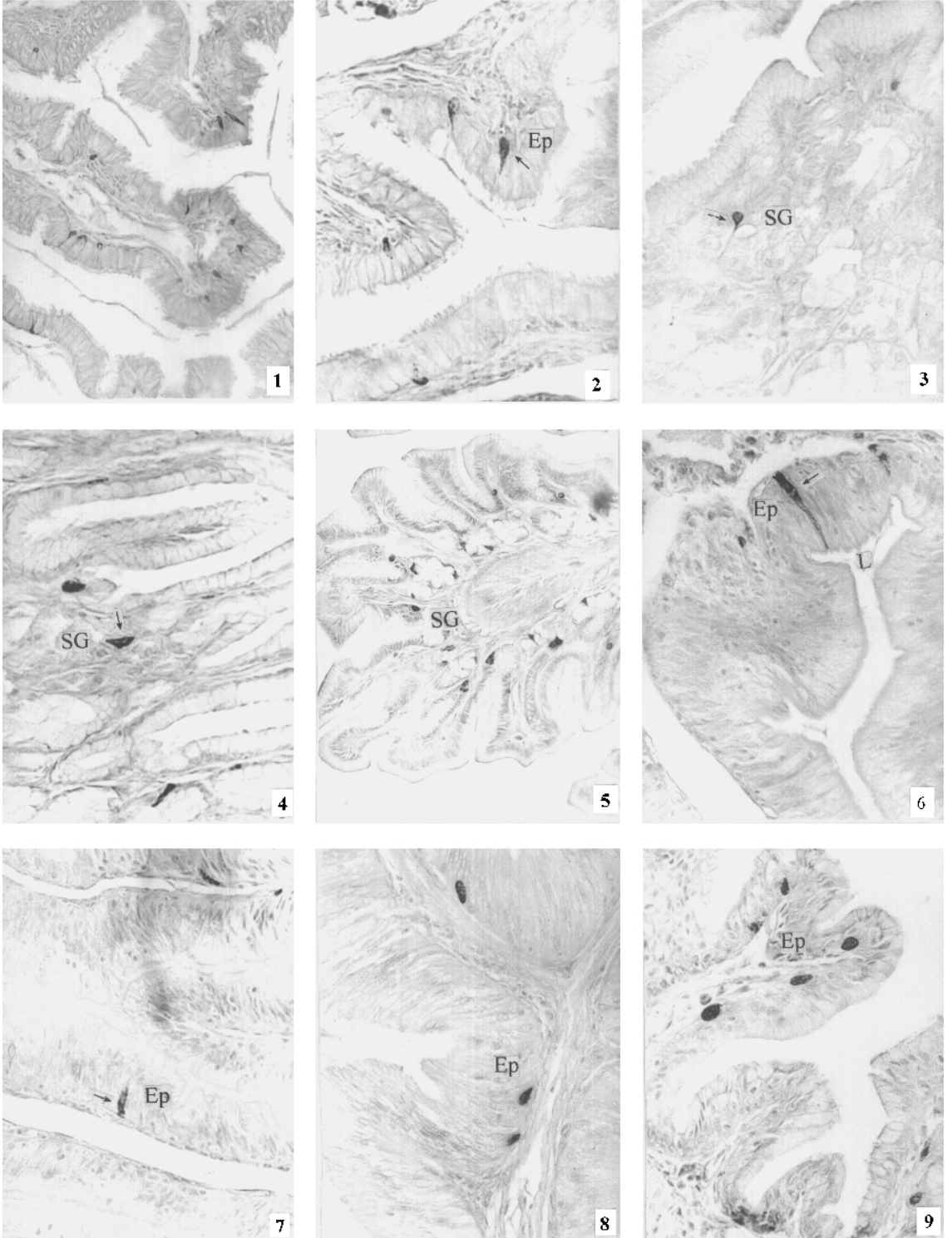
Ep : epithelium, SG : stomach gland, L : the lumen of the digestive tract.

鲍明升等 螻蛄消化道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位

图版 I

BAO Ming-Sheng *et al.* Immunohistochemical Localization of 5-HT Cells in the Digestive Tract of *Sphenomorphus iudicus*

Plate I



图版说明见文后