

性类固醇激素受体 ER、AR 和 PR 在牛蛙胃肠胰的定位

梁娟娟 杨明 任敏 汪焕 张盛周 吴孝兵*

安徽师范大学生命科学学院, 重要生物资源保护与利用安徽省重点实验室 芜湖 241000

摘要: 本文用免疫组织化学技术检测及光密度定量分析, 研究 4 种性类固醇激素受体在牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 胃肠胰内的定位及表达的强弱, 探讨 4 种性类固醇激素在牛蛙胃肠胰中的功能。染色结果显示, 4 种性类固醇激素受体在牛蛙胃肠胰内都有分布, 雌雄之间分布差异较小。雌激素受体 α (ER α) 主要分布在牛蛙胃腺、直肠固有层和胰腺中; 雌激素受体 β (ER β) 主要分布在食道上皮、直肠固有层和胰腺中; 雄激素受体 (AR) 主要分布在食道上皮、直肠固有层和胰腺中; 孕激素受体 (PR) 主要分布在空肠、食道上皮和胰腺中。光密度检测结果显示, 雌激素受体 α (ER α) 在牛蛙胃和直肠中阳性反应最强, 在胰腺中相对较弱。雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙直肠中阳性反应最强, 胰腺和食道次之。雄激素受体 (AR) 在食道中阳性反应相对较强, 其他部位都较弱。孕激素受体 (PR) 在空肠中的阳性反应较强, 其他部位都较弱。雌激素受体 α (ER α) 在胃中以及雄激素受体 (AR) 在食道和直肠中的免疫阳性反应均是雌性牛蛙强于雄性牛蛙, 雌激素受体 β (ER β) 在胰腺中的免疫阳性反应是雄性牛蛙强于雌性牛蛙。4 种性类固醇激素受体中, 雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙胃肠胰中的分布最多, 雄激素受体 (AR)、孕激素受体 (PR) 的分布相对较少。性类固醇激素受体主要分布在食道、胃、直肠和胰腺中, 其中, 分布最多的部位是胃和直肠。4 种性类固醇激素受体在牛蛙胃肠胰内的分布表明, 性类固醇激素对牛蛙消化功能特别是胃和直肠的功能具有多方面的调节作用。

关键词: 牛蛙; 胃肠胰; 性类固醇激素受体; 免疫组织化学

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2018) 03-446-10

Expression of Sex-steroid Hormone Receptors ER, AR and PR in the Gastro-entero-pancreatic System of Bullfrog, *Rana catesbeiana*

LIANG Juan-Juan YANG Ming REN Min WANG Huan ZHANG Sheng-Zhou WU Xiao-Bing*

Key Laboratory for Conservation and Exploitation of Biological Resource in Anhui Province, College of Life Science,

Anhui Normal University, Wuhu 241000, China

Abstract: This study investigated the distribution, localization and expression of 4 kinds of sex-steroid

基金项目 安徽省自然科学基金项目 (No. 11040606M75);

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

第一作者介绍 梁娟娟, 女, 硕士研究生; 研究方向: 濒危物种保护生物学及其生理生化研究; E-mail: 394348424@qq.com。

收稿日期: 2017-10-18, 修回日期: 2018-01-01 DOI: 10.13859/j.cjz.201802101

hormone receptors in 7 parts of the gastro-entero-pancreatic system in bullfrog, *Rana catesbeiana*, and discussed the roles of these 4 kinds of sex-steroid hormone receptors. Tissue samples were taken from 7 parts of the gastro-entero-pancreatic system including esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, rectum and pancreas. Paraffin sections and Strept Avidin Biotin-peroxidase Complex (SABC) immunohistochemistry techniques were used to reveal 4 kinds of sex-steroid hormone receptors with antisera including rabbit anti-estrogen receptor α (ER α), estrogen receptor β (ER β), androgen receptor (AR), progesterone receptor (PR) primary antibodies. Sections were re-stained by haematoxylin to localize the distribution of sex-steroid hormone receptors. Sections not re-stained by haematoxylin were used to analyze the optical density of positive reaction products, and the mean optical density was calculated by Image-Pro Plus. All the data of mean optical density were analyzed by using SPSS 19.0. Mean optical density values of each sex-steroid hormone receptor in 7 parts were analyzed using one-way ANOVA. The results showed that all 4 kinds of sex-steroid hormone receptors were expressed in the gastro-entero-pancreatic system of bullfrog, and there was no obvious difference in the distribution pattern between female and male bullfrogs. Estrogen receptor α (ER α) mainly distributed in stomach gland, lamina propria of rectum and pancreas (Fig. 1). Estrogen receptor β (ER β) mainly distributed in esophagus epithelium, lamina propria of rectum and pancreas (Fig. 2). Androgen receptor (AR) mainly distributed in esophagus epithelium, rectum and pancreas (Fig. 3). Progesterone receptor (PR) mainly distributed in esophagus epithelium, jejunum and pancreas (Fig. 4). Negative controls of esophagus, stomach, rectum and pancreas staining were also displayed (Fig. 5). Optical density analysis (Table 1) displayed that estrogen receptor α (ER α) had the strongest positive reaction in the stomach and rectum of bullfrog, and relatively weaker reaction in the pancreas. Estrogen receptor β (ER β) had the strongest positive reaction in the rectum, and relatively weaker reaction in the esophagus and pancreas. Androgen receptor (AR) had the strongest positive reaction in the esophagus, and relatively weaker reaction in the rectum and pancreas. Progesterone receptor (PR) had the strongest positive reaction in the jejunum and relatively weaker reaction in esophagus and pancreas. The positive immunoreactivity of estrogen receptor α (ER α) in stomach and androgen receptor (AR) in esophagus, rectum was stronger in the female than in the male. The positive reaction of estrogen receptor β (ER β) in pancreas was stronger in the male than in the female. Finally, we summarized that estrogen receptor α (ER α) and estrogen receptor β (ER β) distributed most predominantly in the gastro-entero-pancreatic system, followed by androgen receptor (AR) and progesterone receptor (PR). And these 4 kinds of sex steroid receptors were mainly distributed in the esophagus, stomach, rectum and pancreas, especially in stomach, and rectum. The distribution of 4 kinds of sex-steroid hormone receptors in the gastro-entero-pancreatic system of bullfrog implicated that sex-steroid hormones might have multiple regulatory roles in the digestive function of bullfrog, especially in the function of stomach and rectum.

Key words: Bullfrog, *Rana catesbeiana*; Gastro-entero-pancreatic system; Sex-steroid hormone receptor; Immunohistochemistry

性类固醇激素主要包括雌激素 (estrogen)、雄激素 (androgen) 和孕激素 (progestin), 在脊椎动物的生长、代谢、第二性征发育、交配

行为、性腺发育和成熟及功能维持中具有重要调节作用 (Duarte-Guterman et al. 2014)。

性类固醇激素通过结合相应的受体调节基

因表达, 从而发挥其生物学效应。性类固醇激素受体主要包括雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、雄激素受体 (androgen receptor, AR) 和孕激素受体 (progesterone receptor, PR), 其中雌激素受体 (ER) 最常见的有雌激素受体 α (estrogen receptor α , ER α) 和雌激素受体 β (estrogen receptor β , ER β) 两种亚型 (Choi jookhuu et al. 2016)。性类固醇激素受体为核受体或核周受体。

性类固醇激素的作用范围比较广泛, 除对生殖活动有重要的调节作用外, 对胃肠道的生理活动也具有显著的调控机能 (Wierman 2007)。对狒狒 (*Papio cynocephalus*) 的研究表明, 在胰腺和胃肠道中, 多种类型的细胞都有雌激素受体 α (ER α)、雌激素受体 β (ER β)、雄激素受体 (AR) 和孕激素受体 (PR) 的表达 (Winborn et al. 1987), 说明雌激素、雄激素和孕激素能够调控胃肠道内细胞的活动并对胃肠道的生理过程产生影响。在牛 (*Bos taurus*) 的消化道内, 雌激素受体 α (ER α)、雌激素受体 β (ER β) 和雄激素受体 (AR) 在直肠、结肠和回肠中都具有较高的表达水平 (Pfaffl et al. 2003)。推测在牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 的胃胰腺内也可能有性类固醇激素受体的表达。

对两栖类动物胃胰腺内的激素研究主要集中在消化道内分泌细胞的定位, 如: 5-羟色氨、生长抑素、胃泌素、胰高血糖素等 (张盛周等 2008, Lee et al. 2014), 以及消化道黏膜酶的分布等 (韦金鑫等 2011)。本文主要通过免疫组织化学方法对牛蛙消化系统, 包括食道、胃、十二指肠、空肠、回肠、直肠、胰腺共 7 个部位内的雌激素受体 α (ER α)、雌激素受体 β (ER β)、雄激素受体 (AR)、孕激素受体 (PR) 进行定位, 研究性类固醇激素受体在牛蛙消化道内的分布, 探讨性类固醇激素在牛蛙消化道内存在的机理与所起的作用, 为两栖类消化生理的研究提供新的基础材料。

1 材料与方法

1.1 动物及取材

雌性和雄性成体牛蛙各 3 只购于芜湖市农贸市场, 体重 250 ~ 300 g。将牛蛙毁髓处死, 取食道、胃、十二指肠、空肠、回肠、直肠和胰腺, 用生理盐水冲洗后, 在 4% 多聚甲醛中固定 48 h。常规石蜡切片, 厚 5 ~ 6 μm 。

1.2 免疫组织化学

切片经脱蜡复水后, 在新配制的 3% H_2O_2 溶液中避光放置 30 min, 以消除内源性过氧化氢酶的活性。蒸馏水浸洗后放入 0.01% 的枸橼酸溶液中 (pH 6.0), 微波热修复后用 PBS 浸洗 2 次, 各 5 min, 滴加 5% 正常山羊血清封闭液 (正常山羊血清封闭液与 PBS 的体积比为 1 : 10) 室温孵育 30 min, 封闭非特异性反应部位, 倾掉血清, 滴加一抗, 一抗为雌激素受体 α (ER α) (货号: PB0188, 博士德生物公司)、雌激素受体 β (ER β) (货号: bs-0116R, 博奥森生物公司)、雄激素受体 (AR) (货号: BA0004, 博士德生物公司)、孕激素受体 (PR) (货号: PB0077, 博士德生物公司) 的抗血清 (兔抗), 所有一抗的稀释倍数均为 1 : 100 (一抗与 5% 正常山羊血清封闭液的体积比为 1 : 100)。

4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 取出复温 45 min, PBS 浸洗 3 次, 各 5 min, 滴加二抗 (生物素化羊抗兔 IgG 与 PBS 的体积比为 1 : 100), 室温孵育 30 min, PBS 浸洗 3 次, 各 5 min, 滴加三抗 (链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物 SABC 与 PBS 的体积比为 1 : 100), 室温孵育 30 min, PBS 浸洗 4 次, 各 5 min, 二氨基联苯胺 (diaminobezidin, DAB) (货号: AR1022, 博士德生物公司) 显色 5 ~ 30 min, 双蒸水冲洗, 苏木素 (货号: AR1180-1, 博士德生物公司) 复染 20 s 后脱水、透明、封片。阴性对照实验中用 PBS 替代一抗, 其他步骤相同。生物素化羊抗兔、二抗、三抗均来自链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物 (Strept Avidin Biotin-peroxidase Complex, SABC) 免疫试剂盒 (货号: SA2002, 博士德生物公司)。

在光镜下，染色的切片背景呈淡蓝色，阳性反应呈棕褐色或棕黄色。阴性对照切片呈淡蓝色，未见阳性反应。

1.3 光密度定量与数据统计分析

将未经复染的切片在奥林巴斯 BX61 型显微镜 40 倍物镜视野下观察拍照，用 Image-Pro Plus 图像分析软件对阳性反应产物进行光密度 (optical density, OD) 检测，获得积分光密度 (integrated optical density, IOD)，积分光密度 (IOD) 与阳性部位面积的比值为平均光密度 (mean optical density, MOD)。采用 SPSS19.0 软件对 4 种性类固醇激素受体在不同组织内的平均光密度 (MOD) 值进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)，数据以平均值 \pm 标准差来表示， $P < 0.05$ 表示具有显著性差异。

2 结果

2.1 雌激素受体 α (ER α) 的定位

雌激素受体 α (ER α) 在雌性和雄性牛蛙的胃和直肠中分布较多 (图 1)，胃中主要分布于黏膜层的胃腺细胞内 (图 1a, d)，直肠中主要分布于固有层 (图 1b, e)。雌激素受体 α (ER α) 在雌性和雄性牛蛙的胰腺中分布相对较少 (图 1c, f)，在其他组织中基本未检测出分布。

2.2 雌激素受体 β (ER β) 的定位

雌激素受体 β (ER β) 主要分布在雌性和雄性牛蛙直肠固有层 (图 2b, e)，在食道上皮 (图 2a, d) 和胰腺 (图 2c, f) 中有少量分布，在其他部位中基本未检测出分布。

2.3 雄激素受体 (AR) 的定位

雄激素受体 (AR) 在雌雄牛蛙食道上皮 (图 3a, d)、直肠固有层 (图 3b, e) 和胰腺中 (图 3c, f) 都只有少量分布，在其他部位中基本未检测出分布。

2.4 孕激素受体 (PR) 的定位

孕激素受体 (PR) 在雌性和雄性牛蛙食道上皮 (图 4a, c) 中有少量分布，在雌性牛蛙胰腺 (图 4b) 中和雄性牛蛙空肠 (图 4d) 中也具有分布，在其他部位中基本未检测出分布。

2.5 阴性对照

图 5 为 4 种性类固醇激素受体阴性对照，所有受体均用一套阴性对照，在雌性牛蛙食道、胃、直肠和胰腺 (图 5a ~ d) 及雄性牛蛙食道、胃、直肠和胰腺 (图 5e ~ h) 的阴性对照中均未见到明显的免疫阳性反应。

在牛蛙中，胃肠胰内性类固醇激素受体分布的性别差异较小，主要分布在食道、胃、直肠和胰腺中，其中分布最多的是胃和直肠。4 种性类固醇激素受体主要分布于胃肠道的上皮和固有层，在肌层和浆膜层中几乎没有分布。雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙胃肠胰中的分布较多，雄激素受体 (AR)、孕激素受体 (PR) 的分布相对较少。

2.6 光密度统计结果

光密度分析显示 (表 1)，雌激素受体 α (ER α) 在牛蛙胃和直肠中阳性反应最强，在胰腺中相对较弱；雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙直肠中阳性反应最强，胰腺和食道次之；雄激素受体 (AR) 在食道中阳性反应相对较强，其他部位都较弱；孕激素受体 (PR) 在空肠中的免疫阳性反应较强，其他部位都较弱。雌激素受体 α (ER α) 在胃中以及雄激素受体 (AR) 在食道和直肠中的免疫阳性反应均是雌性牛蛙强于雄性牛蛙，雌激素受体 β (ER β) 在胰腺中的免疫阳性反应是雄性牛蛙强于雌性牛蛙。

3 讨论

雌激素通过结合其同源受体雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 而起作用，雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 是 ER 常见的两种亚型，分别由 *esr1* 和 *esr2* 两个不同的基因编码。雌激素不仅在生殖系统的发育和分化中具有重要作用，在非生殖系统中也具有重要作用 (Choi et al. 2016)。研究表明，雌激素可能影响肠道内 Ca 转运蛋白基因的表达 (van Cromphaut et al. 2003)，而胃肠道的平滑肌收缩与细胞内外的 Ca^{2+} 浓度相关 (Johansson et al. 2003)，因此雌激素参与调节

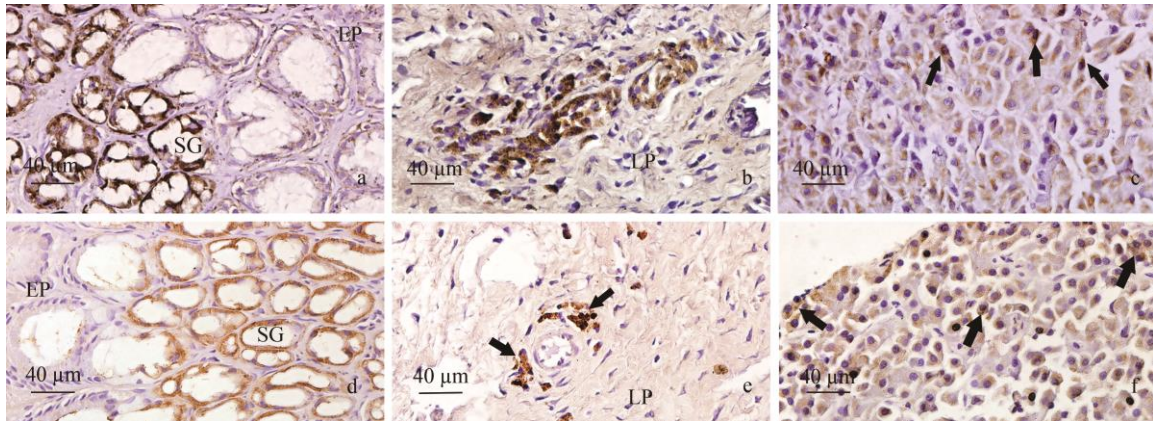


图 1 雌激素受体 α (ER α) 在牛蛙胃肠胰中的免疫组织化学定位
Fig. 1 Immunohistochemical localization of estrogen receptor α (ER α)
in the gastro-entero-pancreatic system of Bullfrog

a. 雌性胃腺; b. 雌性直肠固有层; c. 雌性胰腺; d. 雄性胃腺; e. 雄性直肠固有层; f. 雄性胰腺。箭头示雌激素受体 α (ER α) 分布。
 a. Stomach gland of female; b. Lamina propria of rectum of female; c. Pancreas of female; d. Stomach gland of male; e. Lamina propria of rectum of male; f. Pancreas of male. Arrowhead represents the expression of estrogen receptor α (ER α).
 EP. 上皮; SG. 胃腺; LP. 固有层。EP. Epithelium; SG. Stomach gland; LP. Laminae propria.

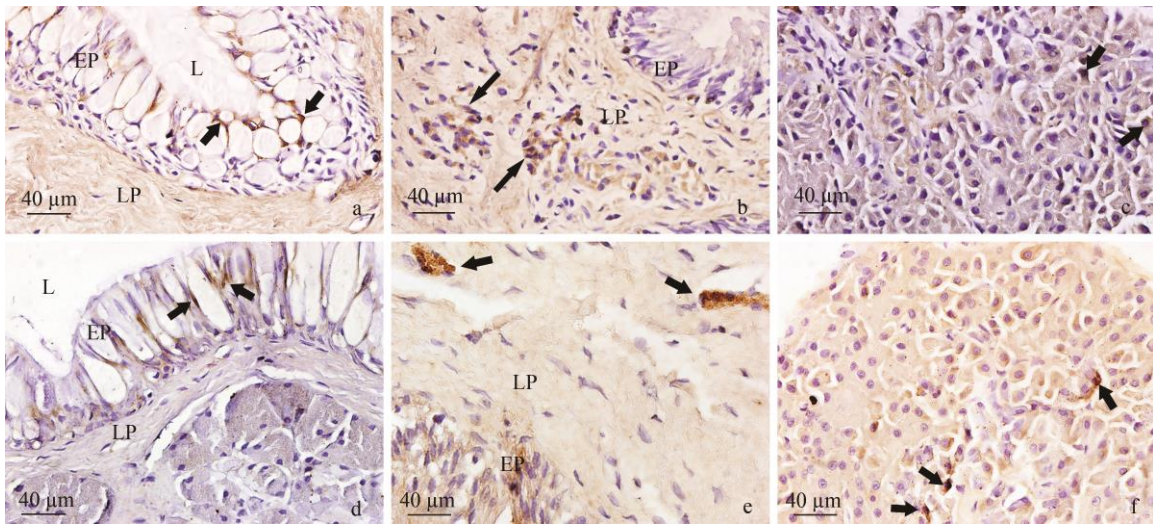


图 2 雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙胃肠胰中的免疫组织化学定位
Fig. 2 Immunohistochemical localization of estrogen receptor β (ER β)
in the gastro-entero-pancreatic system of Bullfrog

a. 雌性食道上皮; b. 雌性直肠固有层; c. 雌性胰腺; d. 雄性食道上皮; e. 雄性直肠固有层; f. 雄性胰腺。箭头示雌激素受体 β (ER β) 分布。
 a. Esophagus epithelium of female; b. Lamina propria of rectum of female; c. Pancreas of female; d. Esophagus epithelium of male; e. Lamina propria of rectum of male; f. Pancreas of male. Arrowhead represents the expression of estrogen receptor β (ER β).
 EP. 上皮; LP. 固有层; L. 消化道腔。EP. Epithelium; LP. Laminae propria; L. The lumen of the digestive tract.

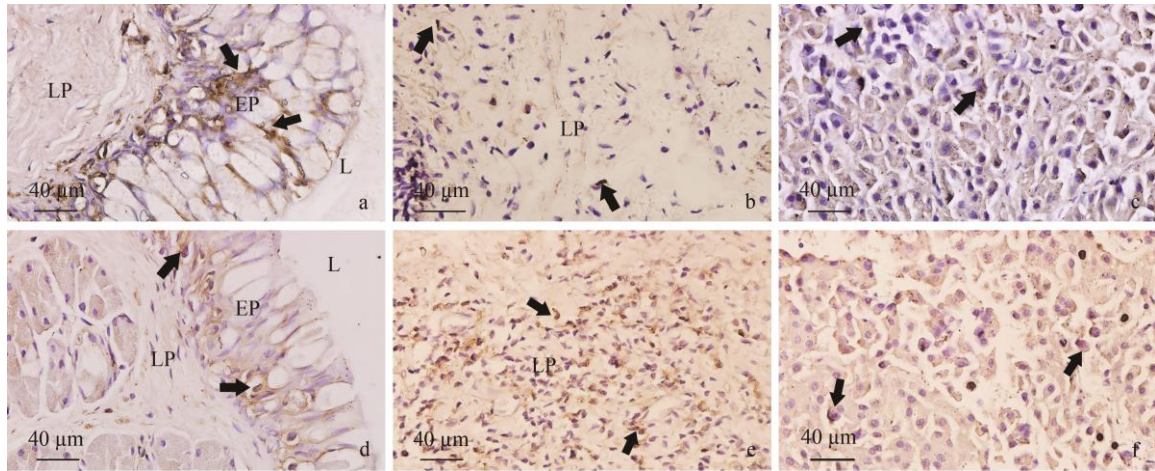


图 3 雄激素受体 (AR) 在牛蛙胃肠胰中的免疫组织化学定位
Fig. 3 Immunohistochemical localization of androgen receptor (AR)
in the gastro-entero-pancreatic system of Bullfrog

a. 雌性食道上皮; b. 雌性直肠固有层; c. 雌性胰腺; d. 雄性食道上皮; e. 雄性直肠固有层; f. 雄性胰腺。箭头示雄激素受体 (AR) 分布。

a. Esophagus epithelium of female; b. Lamina propria of rectum of female; c. Pancreas of female; d. Esophagus epithelium of male; e. Lamina propria of rectum of male; f. Pancreas of male. Arrowhead represents the expression of androgen receptor (AR).

EP. 上皮; LP. 固有层; L. 消化道腔。EP. Epithelium; LP. Laminae propria; L. The lumen of the digestive tract.

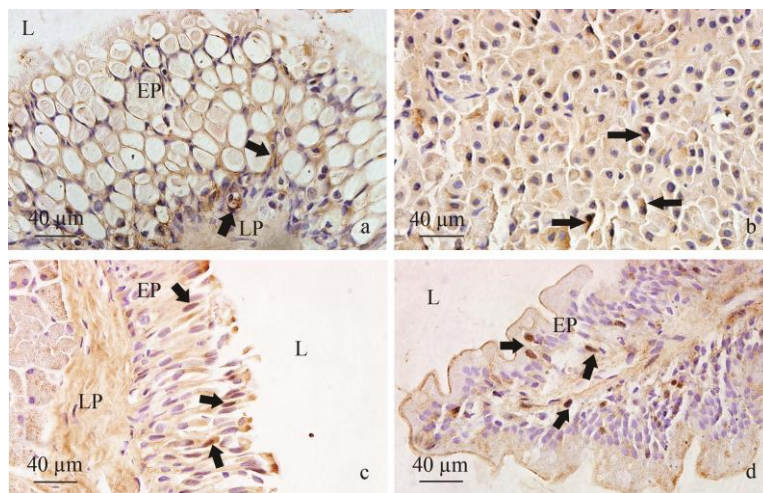


图 4 孕激素受体 (PR) 在牛蛙胃肠胰中的免疫组织化学定位
Fig. 4 Immunohistochemical localization of progesterone receptor (PR)
in the gastro-entero-pancreatic system of Bullfrog

a. 雌性食道上皮; b. 雌性胰腺; c. 雄性食道上皮; d. 雄性空肠。箭头示孕激素受体 (PR) 分布。

a. Esophagus epithelium of female; b. Pancreas of female; c. Esophagus epithelium of male; d. jejunum of male. Arrowhead represents the expression of progesterone receptor (PR).

EP. 上皮; LP. 固有层; L. 消化道腔。EP. Epithelium; LP. Laminae propria; L. The lumen of the digestive tract.

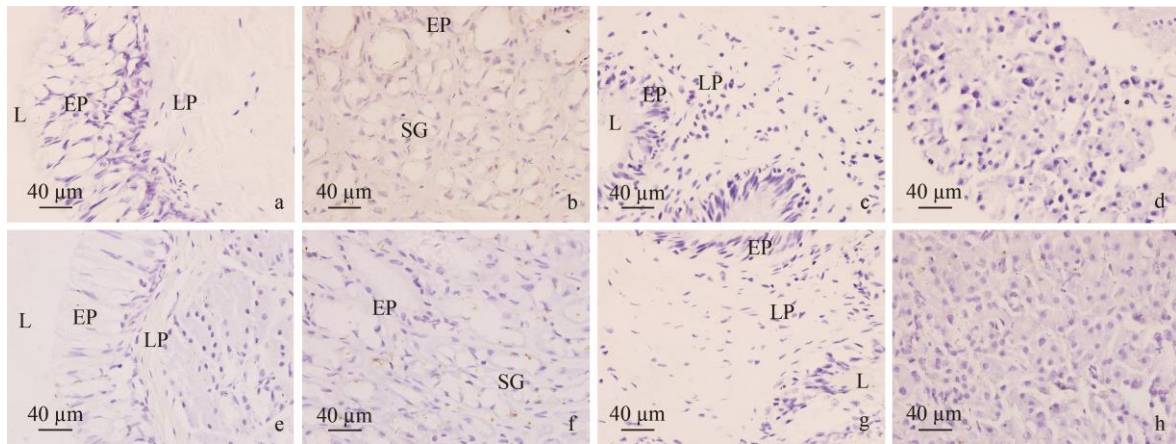


图 5 雌性和雄性牛蛙食道、胃、直肠和胰腺 4 个部位的阴性对照

Fig. 5 Negative controls of esophagus, stomach, rectum and pancreas staining of female and male bullfrogs

a. 雌性食道上皮; b. 雌性胃腺; c. 雌性直肠固有层; d. 雌性胰腺; e. 雄性食道上皮; f. 雄性胃腺; g. 雄性直肠固有层; h. 雄性胰腺。
a. Esophagus epithelium of female; b. Stomach gland of female; c. Lamina propria of rectum of female; d. Pancreas of female; e. Esophagus epithelium of male; f. Stomach gland of male; g. Lamina propria of rectum of male; h. Pancreas of male.

EP. 上皮; SG. 胃腺; LP. 固有层; L. 消化道腔。

EP. Epithelium; SG. Stomach gland; LP. Laminae propria; L. The lumen of the digestive tract.

表 1 性类固醇激素受体在牛蛙胃肠胰内的平均光密度 (MOD)

Table 1 Mean optical density of sex-steroid hormone receptors in the gastro-entero-pancreatic system of Bullfrog *Rana catesbeiana*

阳性反应部位 Positive reactive parts	雌激素受体 α Estrogen receptor α ERα	雌激素受体 β Estrogen receptor β ERβ	雄激素受体 Androgen receptor AR	孕激素受体 Progesterone receptor PR
食道 Oesophagus	♀	0.121 ± 0.017 ^c	0.190 ± 0.038 ^{a*}	0.122 ± 0.035 ^b
	♂		0.106 ± 0.006 ^c	0.124 ± 0.024 ^b
胃 Stomach	♀	0.287 ± 0.035 ^{a*}		
	♂	0.208 ± 0.042 ^b		
空肠 Jejunum				0.189 ± 0.051 ^a
直肠 Rectum	♀	0.264 ± 0.056 ^a	0.207 ± 0.035 ^a	0.185 ± 0.024 ^{a*}
	♂	0.276 ± 0.069 ^a	0.206 ± 0.042 ^a	0.126 ± 0.027 ^b
胰腺 Pancreas	♀	0.117 ± 0.026 ^c	0.115 ± 0.015 ^{c*}	0.117 ± 0.030 ^b
	♂	0.136 ± 0.010 ^c	0.152 ± 0.037 ^b	0.136 ± 0.030 ^b

胃肠胰内各部位的平均光密度 (MOD) 值之间进行两两比较, 不同字母 (a, b, c) 表示同一种受体在各部位的阳性差异显著, 0.01 < P < 0.05, * 表示雌雄之间有差异。

Pairwise comparison of the mean optical density (MOD) values in different parts of the gastro-entero-pancreatic system. Different letters (a, b, c) represent significant difference in intensity of positive reaction (P < 0.05), * represents the difference in intensity of positive reaction between female and male bullfrogs.

胃肠道的收缩活动。在大鼠 (*Rattus norvegicus*) 胃中, 雌激素能调控胃饥饿素 (ghrelin) 的表

达 (Sakata et al. 2006), 而胃饥饿素能够增强胃肠道的蠕动、促进食欲 (Kojima et al. 2005), 雌激素受体 α (ER α) 在雌性和雄性牛蛙胃中分布较多, 可能具有促进牛蛙胃的蠕动、促进消化的作用。

据报道, 雌激素在哺乳动物中能保护小肠黏膜, 预防慢性肠炎 (Barakat et al. 2016)。在小鼠 (*Mus musculus*) 中雌激素通过阻挡胃酸对十二指肠黏膜的损害从而防止十二指肠溃疡的发生 (Choi-jookhuu et al. 2015)。雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙直肠中有较多的分布, 可能与保护直肠和促进直肠收缩相关。雌激素能促进小鼠受损伤胰腺中胰岛 β 细胞的增殖 (Yuchi et al. 2015), 调节与维持正常胰腺组织的功能 (Morimoto et al. 2011)。雌激素通过雌激素受体 α (ER α) 介导, 在胰腺中促使胰岛素基因的表达升高, 胰岛素释放增加 (Alonso-Magdalena et al. 2008)。雌激素受体 α (ER α) 在牛蛙胰腺中有一定的分布, 可能与胰腺中胰岛 β 细胞的增殖和胰腺的功能调节相关。雌激素受体 β (ER β) 在胰腺中也有表达, 可能参与牛蛙胰腺 β 细胞功能的调节 (Bautista et al. 2012)。

此外, 在兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 的食道中, 雌激素能增强食道的屏障作用, 防止胃液返流对食道黏膜造成的损伤, 从而保护食道 (Honda et al. 2016)。在牛蛙食道上皮中, 雌激素受体 β (ER β) 也有少量分布, 可能是雌激素通过雌激素受体 β (ER β) 对牛蛙的食道上皮进行保护。雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 在牛蛙胃肠胰中的分布具有一定的差异, 表明两个亚型的雌激素受体可能在胃肠道中具有不同的作用, 共同调节胃肠胰内的一些生理过程。

雄激素通过结合共同源受体雄激素受体 (AR) 来调节雄性生殖系统的生长与分化, 雄激素受体 (AR) 为核受体家族成员。研究表明, 雄激素受体 (AR) 分布在哺乳动物的肠道中并调节肠道中葡萄糖和钙离子的吸收, 雄激素也

影响平滑肌的活动从而使肠道收缩蠕动 (Dart et al. 2013)。雄激素受体 (AR) 在牛蛙食道和直肠以及胰腺中有少量的分布, 可能在直肠中促使直肠收缩, 促进水分和离子吸收。实验证明, 雄激素能防止胰腺 β 细胞的早期凋亡和损伤, 对胰腺内的 β 细胞具有一定的保护作用 (Morimoto et al. 2005), 且雄激素能够增加胰腺内胰岛素基因的表达 (Morimoto et al. 2001)。牛蛙胰腺中雄激素受体 (AR) 的表达表明, 雄激素可能对牛蛙胰腺具有一定的保护作用并促进胰腺内胰岛素基因的表达。

孕激素在雌性生殖系统 (如卵巢、生殖道、乳腺) 和脑内研究的较多, 孕激素作为调节因子对这些组织具有非常重要的调节作用, 并协同雌激素一起发挥作用 (Custodia-Lora et al. 2002)。对龟 (*Chrysemys picta*) 的研究表明孕激素受体 (PR) 在其胃肠道内有少量表达, 推测孕激素可能像在生殖道中一样控制胃肠道平滑肌的收缩 (Custodia-Lora et al. 2002)。对大鼠的研究表明, 低剂量的孕激素能促进胃肠道的蠕动, 而高剂量的孕激素则抑制胃肠道的蠕动 (Liu et al. 2002)。在外伤性脑损伤 (traumatic brain injury) 的大鼠中孕激素能够抑制肠道炎症的发生, 保护肠黏膜, 减少黏膜细胞的凋亡 (Chen et al. 2008)。孕激素受体 (PR) 在牛蛙空肠中的表达可能与孕激素调节空肠的蠕动和保护肠黏膜有关。在小鼠中通过敲除孕激素受体发现孕激素在胰腺的功能和调节中具有重要作用 (Picard et al. 2002)。孕激素受体 (PR) 在牛蛙胰腺中的表达表明孕激素可能参与调节胰腺的功能。

总之, 本研究通过免疫组织化学检测表明, 4 种性类固醇激素受体在牛蛙胃肠胰内都有分布, 但分布最多的主要是胃和直肠。这可能与胃是主要的消化器官有关, 在胃腺内分布较多的雌激素受体 α (ER α) 可能帮助调控胃的消化功能。直肠是储存粪便的位置, 并能吸收少量的水和无机盐, 直肠中雌激素受体 α (ER α)、雌激素受体 β (ER β) 和雄激素受体 (AR) 的

分布可能与控制直肠收缩, 便于排便或者与水
分和无机盐的吸收有关。4 种性类固醇激素受
体在牛蛙胃肠膜内的免疫阳性反应存在雌雄差
异的原因目前还不是很清楚, 还有待进一步研
究。

参 考 文 献

- Alonso-Magdalena P, Ropero A B, Carrera M P, et al. 2008. Pancreatic insulin content regulation by the estrogen receptor ER α . *PLoS One*, 3(4): e2069. doi:10.1371/journal.pone.0002069.
- Barakat R, Oakley O, Kim H, et al. 2016. Extra-gonadal sites of estrogen biosynthesis and function. *BMB Reports*, 49(9): 488–496.
- Bautista C J, Martínez-Samayoá P M, Zambrano E. 2012. Sex steroids regulation of appetitive behavior. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 12(11): 1107–1118.
- Chen G, Shi J X, Qi M, et al. 2008. Effects of progesterone on intestinal inflammatory response, mucosa structure alterations, and apoptosis following traumatic brain injury in male rats. *Journal of Surgical Research*, 147(1): 92–98.
- Choi Jookhuu N, Hino S I, Oo P S, et al. 2015. Ontogenetic changes in the expression of estrogen receptor β in mouse duodenal epithelium. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 39(4): 499–507.
- Choi Jookhuu N, Hino S, Oo P S, et al. 2016. The role of estrogen receptors in intestinal homeostasis and disease. *Receptors & Clinical Investigation*, 3(1): 1–8.
- Custodia-Lora N, Callard I P. 2002. Progesterone and progesterone receptors in reptiles. *General and Comparative Endocrinology*, 127(1): 1–7.
- Dart D A, Waxman J, Aboagye E O, et al. 2013. Visualising androgen receptor activity in male and female mice. *PLoS One*, 8(8): e71694. doi:10.1371/journal.pone.0071694.
- Duarte-Guterman P, Navarro-Martín L, Trudeau V L. 2014. Mechanisms of crosstalk between endocrine systems: regulation of sex steroid hormone synthesis and action by thyroid hormones. *General and Comparative Endocrinology*, 203: 69–85.
- Honda J, Iijima K, Asanuma K, et al. 2016. Estrogen enhances esophageal barrier function by potentiating occludin expression. *Digestive Diseases and Sciences*, 61(4): 1028–1038.
- Johansson Å, Holmgren S. 2003. Ca²⁺-recruitment in tachykinin-induced contractions of gut smooth muscle from African clawed frog, *Xenopus laevis* and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 131(2): 185–191.
- Kojima M, Kangawa K. 2005. Ghrelin: structure and function. *Physiological Reviews*, 85(2): 495–522.
- Lee J E, Lee H S, Choi S H, et al. 2014. The regional distribution and frequency of endocrine cells in the Korean golden frog, *Rana plancyi chosonica*: an immunohistochemical study. *Animal Cells and Systems*, 18(4): 250–258.
- Liu C Y, Chen L B, Liu P Y, et al. 2002. Effects of progesterone on gastric emptying and intestinal transit in male rats. *World Journal of Gastroenterology*, 8(2): 338–341.
- Morimoto S, Fernandez-Mejia C, Romero-Navarro G, et al. 2001. Testosterone effect on insulin content, messenger ribonucleic acid levels, promoter activity, and secretion in the rat. *Endocrinology*, 142(4): 1442–1447.
- Morimoto S, Jimenez-Trejo F, Cerbon M. 2011. Sex steroids effects in normal endocrine pancreatic function and diabetes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(13): 1728–1735.
- Morimoto S, Mendoza-Rodríguez C A, Hiriart M, et al. 2005. Protective effect of testosterone on early apoptotic damage induced by streptozotocin in rat pancreas. *Journal of Endocrinology*, 187(2): 217–224.
- Pfaffl M W, Lange I G, Meyer H H D. 2003. The gastrointestinal tract as target of steroid hormone action: Quantification of steroid receptor mRNA expression (AR, ER α , ER β and PR) in 10 bovine gastrointestinal tract compartments by kinetic RT-PCR. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 84(2): 159–166.
- Picard F, Wanatabe M, Schoonjans K, et al. 2002. Progesterone receptor knockout mice have an improved glucose homeostasis secondary to β -cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24): 15644–15648.
- Sakata I, Tanaka T, Yamazaki M, et al. 2006. Gastric estrogen directly induces ghrelin expression and production in the rat stomach. *Journal of Endocrinology*, 190(3): 749–757.

- van Cromphaut S J, Rummens K, Stockmans I, et al. 2003. Intestinal calcium transporter genes are upregulated by estrogens and the reproductive cycle through vitamin D receptor-independent mechanisms. *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(10): 1725–1736.
- Wierman M E. 2007. Sex steroid effects at target tissues: mechanisms of action. *Advances in Physiology Education*, 31(1): 26–33.
- Winborn W B, Sheridan P J, McGill H C. 1987. Sex steroid receptors in the stomach, liver, pancreas, and gastrointestinal tract of the baboon. *Gastroenterology*, 92(1): 23–32.
- Yuchi Y, Cai Y, Legein B, et al. 2015. Estrogen receptor α regulates β -cell formation during pancreas development and following injury. *Diabetes*, 64(9):3218–3228.
- 韦金鑫, 郭慧, 宋华, 等. 2011. 牛蛙消化道黏膜 5 种酶的分布. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 20(4): 316–319.
- 张盛周, 薛立辉, 陶少武. 2008. 牛蛙胃肠胰系统内分泌细胞的免疫组织化学鉴定与定位. *激光生物学报*, 17(5): 689–694.