

两种蛇消化道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位及比较*

张志强 张盛周 吴孝兵**

(安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000)

摘要: 应用 5-羟色胺特异性抗血清,对眼镜蛇和乌梢蛇消化道含 5-HT 的内分泌细胞进行了免疫组织化学定位和比较。5-HT 细胞的形态在两种蛇中大致相同,消化道各部位都有呈圆形和长梭形(具胞突)的阳性细胞。食道和胃以圆形细胞为主,肠道段则以长梭形细胞为主。眼镜蛇 5-HT 细胞以十二指肠密度为最高,食道最低;乌梢蛇以幽门部密度为最高,直肠最低。肠道段两者分布特点相同,从十二指肠至直肠分布密度渐疏。本文还对两种蛇 5-HT 细胞分布型的原因、形态和功能相适应的特点进行了讨论。

关键词: 蛇;消化道;5-HT 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(2001)06-11-04

Immunohistochemical Localization and Comparison on 5-HT Cells in the Digestive Tract of Snakes

ZHANG Zhi-Qiang ZHANG Sheng-Zhou WU Xiao-Bing

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

Abstract: The presence of 5-HT cells had been investigated and compared by the anti-5-HT antiserum in the digestive tract of *Naja naja* and *Zaocys dhumnades*. Mucosa endocrine cells reacting specifically with the antisera to 5-HT were detectable throughout the digestive tract. In general, the morphology of these cells was similar to the mammalian pattern. Oval cells were mainly in the oesophagus and rectum. The cells which had cell processes were most present in the stomach and small intestine. The distribution of 5-HT cells in *Naja naja* was observed with the highest density in the duodenum and rarely in the oesophagus. A great number of 5-HT cells in *Zaocys dhumnades* were detected in the stomach pyloricus, rarely in the rectum. In the small intestine and rectum, the distributive density of 5-HT cells in *Naja naja* was similar to that of 5-HT cells in *Zaocys dhumnades*, namely, decreased from duodenum to rectum. Considering the feeding habit and life environment, the distributive mode of 5-HT cells was discussed, which *Naja naja* and *Zaocys dhumnades* were involved.

Key words: Snakes; Digestive tract; 5-HT cells; Immunohistochemistry

* 安徽省教委科学研究基金(No. 96JL0036, 2001kj099), 安徽跨世纪学科带头人专项基金, 安徽师范大学青年科研基金资助项目;

** 通讯作者; E-mail: yxbwu@263.net

第一作者简介 张志强, 男, 26岁, 硕士; 研究方向: 两栖爬行动物学; 现在安徽农业大学水产系任教;

收稿日期: 1999-12-28, 修回日期: 2000-10-16

随着抗 5-羟色胺 (5-Hydroxytryptamine, 5-HT) 特异性抗体的制成和检测 5-HT 的免疫组织化学方法的建立^[1], 哺乳类胃肠道内 5-HT 免疫反应细胞的定位研究较详尽^[2]。爬行类也有过一些报道^[3-7], 但分歧较大。迄今为止, 蛇类少见报道。眼镜蛇 (*Naja naja*) 和乌梢蛇 (*Zaocys dhumnades*) 都是有很高经济价值的蛇类^[8], 本文通过对两种蛇消化道 5-HT 细胞形态学和分布型的研究, 旨在探讨陆生蛇类 5-HT 细胞的分布规律, 借以丰富比较内分泌学的资料。

1 材料与方 法

1.1 材料 眼镜蛇和乌梢蛇各 3 条, 购于安徽省黄山市屯溪蛇伤所, 体长分别为 120 ~ 130 cm 和 110 ~ 120 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。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 6 ~ 7 μm, 贴片。

1.2 试剂 5-HT 抗血清和链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶 (streptavidin peroxidase, SP) 免疫组织化学试剂盒购于北京中山生物技术公司, 美国 ZYMED 公司生产。5-HT 抗血清是即用型的, 稀释倍数为 1:50, 产品代号为 ZA-0232。

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, 消除内源性过氧化物酶的活性。蒸馏水浸洗, 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, 滴加一抗 (5-HT 抗血清), 4℃ 过夜。PBS 浸洗 3 次 × 5 min, 滴加即用型生物素化的二抗 (羊抗兔 IgG

抗血清) 室温孵育 1 h, PBS 浸洗 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。免疫组织化学法阴性对照, 分别用正常羊血清和 PBS 代替一抗, 其余步骤同上。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 5-HT 细胞的分布密度。

2 结 果

2.1 5-HT 细胞的形态学特征 两种蛇消化道 5-HT 细胞的形态大致相同, 食道 5-HT 细胞位于上皮基底部, 细胞多呈圆形 (图版 I:1), 偶见具胞突的细胞 (图版 I:1,2)。胃 5-HT 细胞主要分布于胃腺上皮或腺上皮周围, 呈圆形、梨形或不规则形, 多数细胞具突起伸向邻近细胞 (图版 I:3 ~ 6)。肠 5-HT 细胞主要分布于上皮中, 大多呈长梭形、锥形, 具突起伸向肠腔或固有膜 (图版 I:7 ~ 12)。另外, 消化道固有层结缔组织内也有阳性细胞分布。

2.2 5-HT 细胞的分布特点 (表 1) 整个消化道中, 乌梢蛇以幽门部分布密度为最大 (图版 I:6), 直肠最低; 眼镜蛇十二指肠最高 (图版 I:7,8), 食道最低 (图版 I:1)。食道和胃部分布特点较复杂, 乌梢蛇幽门部密度最大, 食道其次 (图版 I:2), 贲门和胃体最低; 眼镜蛇贲门和幽门相似 (图版 I:3,5), 胃体较低 (图版 I:4), 食道最低。肠道段, 两者分布特点相同, 即从十二指肠至直肠分布密度渐疏 (图版 I:11)。

表 1 眼镜蛇和乌梢蛇消化道 5-HT 细胞分布密度 (单位: 个/视野)

	食道	贲门	胃体	幽门	十二指肠	空肠	回肠	直肠
乌梢蛇	3.90 ± 0.67	2.80 ± 0.21	2.50 ± 0.29	6.00 ± 1.02	3.70 ± 0.40	2.67 ± 0.18	2.58 ± 0.38	2.36 ± 0.36
眼镜蛇	1.73 ± 0.37	5.47 ± 0.43	2.87 ± 0.70	5.50 ± 0.84	8.33 ± 1.84	5.73 ± 0.70	5.00 ± 0.59	4.80 ± 0.62

3 讨 论

5-HT 免疫反应细胞广泛存在于各类脊椎动物消化道^[3], 但分布型差异较大。据唐晓雯

等^[3]和 El-Salhy 等^[4]报道, 鸟、兽食道中缺少 5-HT 细胞, 而两栖类和爬行类却有分布。本文在眼镜蛇和乌梢蛇的食道上皮中均发现了 5-HT 阳性反应细胞。眼镜蛇取食方式比较特殊, 常

主动攻击猎物,并注射毒液使猎物中毒死亡后再吞食;乌梢蛇则以缠绕手段使动物窒息而死^[9]。在食物进入消化道后,眼镜蛇的毒液能帮助消化猎物^[9],其食道 5-HT 细胞密度较低可能与此有关。乌梢蛇食道 5-HT 细胞密度相对较高,可能与需要借助较多的 5-HT 因子使食物顺利下行有关。

方之平等^[10]认为,有胃动物的消化道内分泌细胞胃中种类较多,肠中分布的种类则相应减少。蛇类好吞食、暴食,5-HT 能刺激胃肠黏液分泌、平滑肌收缩和血管扩张,对消化功能有很强的调节作用^[4],胃中数量较多,有利于食物的蠕动和消化。胃腺上皮中,多数细胞具突起伸向邻近细胞,提示 5-HT 细胞可能通过改善局部环境来达到调节消化功能的目的,即以旁分泌的方式影响周围细胞的活动。乌梢蛇整个消化道以幽门腺区 5-HT 细胞密度为最高,这与 Arena 等^[5]在金氏胎生蜥(*Egernia kingii*)中报道的结果一致。眼镜蛇贲门和幽门 5-HT 细胞密度较高,可能与调节食物通过时肌肉收缩运动有关。

两种蛇肠道 5-HT 细胞的形态特征与哺乳类相似,细胞呈圆形或长梭形,以长梭形具胞突的细胞为主,胞突顶端有开口伸向肠腔,基底部伸向固有膜及邻近细胞,可能主要感受肠腔的化学刺激而分泌。直肠肌肉层极薄,整个肠管较脆嫩,5-HT 细胞的存在可能与排遗有关。杨贵波等^[11]在大熊猫的研究中认为大熊猫 5-HT 细胞的特殊分布型可能是其长期进化过程中对特殊食性适应的结果(结肠和直肠处未见阳性细胞)。之后,又证明改变大鼠的食物组成可使 5-HT 细胞的分布型发生变化^[12]。眼镜蛇和乌梢蛇肠道 5-HT 细胞以十二指肠密度为最高,以后逐渐减少,至直肠处最少。这与四棱南蜥(*Mabuya quinquetaeaiata*)的分布型相似^[6]。而黄喉水龟(*Mauremys mutica*)则以大肠的阳性细胞密度为最高^[3];扬子鳄(*Alligator sinensis*)虽以十二指肠密度为最高,但直肠的密度比空肠和回肠的密度都高^[7]。眼镜蛇和乌梢蛇都是陆栖性蛇类,而黄喉水龟和扬子鳄则是水栖或半水

栖性的^[8]。这说明生活环境的不同,也可能是造成 5-HT 细胞分布型不同的一个主要原因。眼镜蛇和乌梢蛇食性相近,又都是陆栖性蛇类,生活环境差别不大,所以两者肠道 5-HT 细胞分布型相似。此外,有毒的眼镜蛇与无毒的乌梢蛇肠道 5-HT 细胞分布型相同,说明有无毒性对肠道内分泌细胞的分布型并无影响。

消化道黏膜是脊椎动物体内最大、最复杂的内分泌器官^[13],已有证据表明,与其它激素相比,5-HT 是爬行类消化道中分布最广和含量最多的一种激素^[5]。蛇类在进食时,它的消化道要比平时扩大很多,5-HT 在消化道中大量而普遍地存在,提示它在蛇类的消化生理过程中担当着重要角色。对于 5-HT 细胞的分布型,不但爬行类各个种间存在差异,而且与哺乳类也有所不同,这说明爬行类与哺乳类在消化功能的控制上可能有所不同。至于其机理,有待于进一步加以阐明。

参 考 文 献

- [1] Facer, P. et al. Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamin in gastrointestinal endocrine cells. *Histochem. J.*, 1979, 11: 117 ~ 121.
- [2] 黄威权等. 大鼠胃肠道 5-HT 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.
- [3] 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.
- [4] El-Saihy et al. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomedical Research*, 1985, 6(6): 371 ~ 375.
- [5] Arena et al. An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the King's skink (*Egernia kingii*). *J. Anat.*, 1990, 170: 73 ~ 85.
- [6] Grimelium. 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.
- [7] 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.
- [8] 陈壁辉主编. 安徽两栖爬行动物志. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1991. 263 ~ 237.
- [9] 覃公平主编. 中国毒蛇学. 南宁: 广西科学技术出版社, 1995. 8 ~ 9.
- [10] 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. 北京: 中国林业出版社, 1999. 1 031 ~ 1 035.

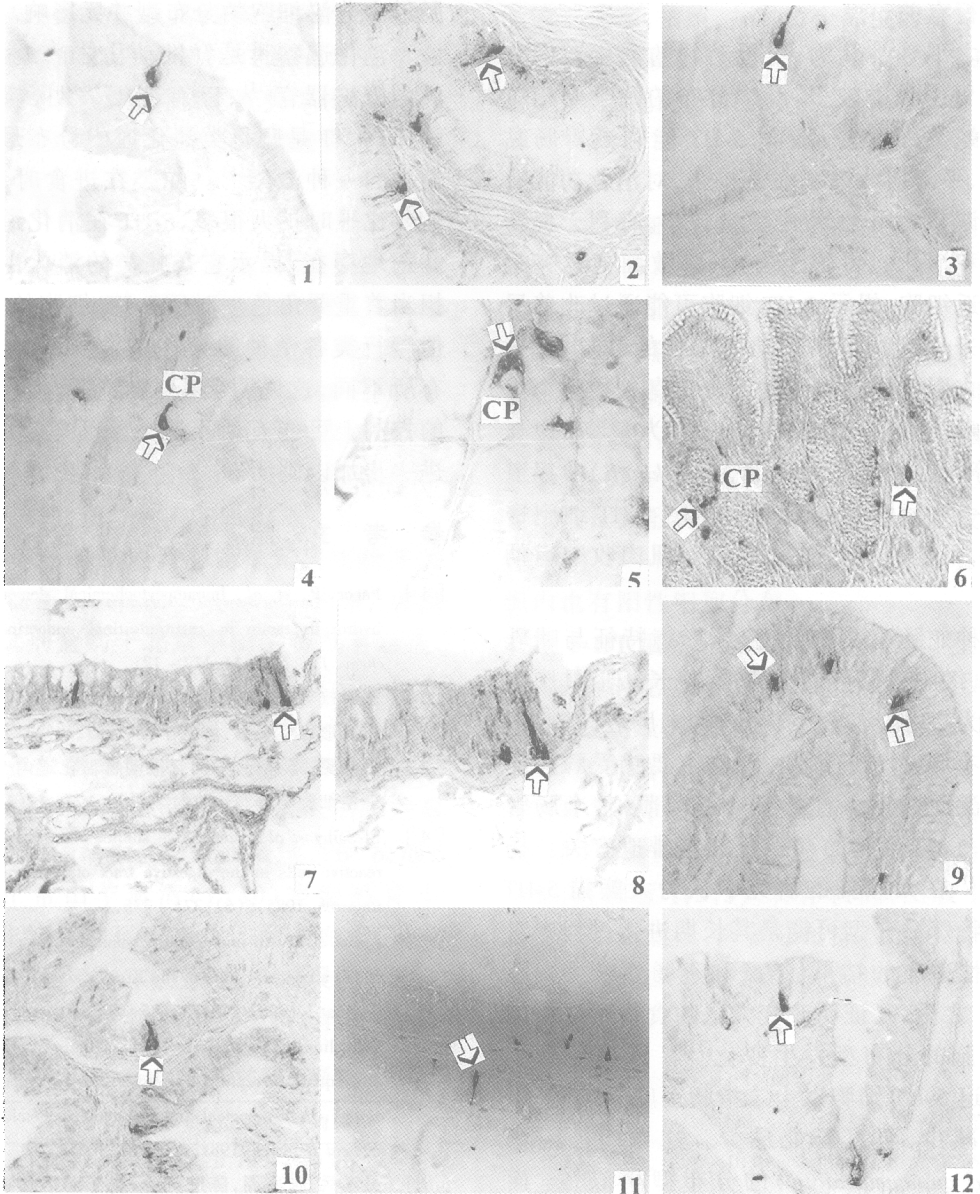
[12] 杨贵波, 王平. 改变食物组成对大鼠胃肠道嗜铬细胞的影响. 动物学报, 1997, 43(1): 55 ~ 60.

[11] 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.

[13] 王志均. 胃肠内分泌学现状: 总观. 见: 王志均主编. 胃肠激素. 北京: 科学出版社, 1985. 1 ~ 14.

张志强等: 两种蛇消化道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位及比较

图版 I



1. 眼镜蛇食道 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 2. 乌梢蛇食道 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 3. 眼镜蛇贲门 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 4. 眼镜蛇胃体 5-羟色胺细胞, CP: 胞突(箭头) × 400; 5. 眼镜蛇幽门 5-羟色胺细胞, CP: 胞突(箭头) × 800; 6. 乌梢蛇幽门 5-羟色胺细胞, CP: 胞突(箭头) × 400; 7. 眼镜蛇十二指肠长梭形 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 8. 眼镜蛇十二指肠长梭形 5-羟色胺细胞(箭头) × 800; 9. 眼镜蛇空肠 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 10. 乌梢蛇空肠圆形 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 11. 乌梢蛇回肠长梭形 5-羟色胺细胞(箭头) × 400; 12. 眼镜蛇直肠圆形 5-羟色胺细胞(箭头) × 400