

# 黑龙江草蜥消化道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布与形态学观察\*

李淑兰

(哈尔滨师范大学生命与环境科学学院生物学系 哈尔滨 150080)

**摘要:** 应用 5-HT 抗血清, 以 ABC (avidin-biotin-peroxidase complex) 免疫组织化学方法, 对黑龙江草蜥 (*Takydromus amurensis*) 消化道内 5-HT 免疫反应阳性内分泌细胞的分布及形态进行了观察。结果显示: 5-HT 阳性细胞从食管到直肠的消化道各段均有分布。细胞分布密度呈波浪式, 食管、胃幽门部和回肠是其细胞分布密度的高峰。5-HT 阳性细胞的形态呈圆形、椭圆形、锥体形、梭形等, 其中以圆形和椭圆形为主; 广泛分布于上皮基部、上皮细胞之间、腺泡上皮及腺泡之间, 有时可见于固有膜内。因此作者认为 5-HT 阳性细胞具有内、外、旁分泌三种作用途径并且它的密度分布可能与其食性、生活环境等有关。

**关键词:** 黑龙江草蜥; 5-HT 细胞; 消化道

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)02-33-05

## Distribution and Morphological Observation of 5-HT Positive Immunoreactive Endocrine Cells in Digestive Tract of *Takydromus amurensis*

LI Shu-Lan

(Department of Biology, College of Life Science and Environment Science, Harbin Normal University, Harbin 150080, China)

**Abstract:** The presence and morphology of 5-HT positive, immunoreactive endocrine cells in the digestive tract of *Takydromus amurensis* have been investigated by using the anti-5-HT antiserum and the ABC immunostaining technique. The results indicated that 5-HT positive cells distributed throughout the digestive tract, from esophagus to rectum. The cells' distribution density was not consistent along the digestive tract, and there were rich 5-HT cells in the esophagus, pyloric part and ileum. The 5-HT cells was round, ellipse, shuttle, or cone in shape. The cells were found between gastrointestinal epithelial cells, at the basal region of epithelial cells, between glandular epithelial cells, between glandular vesicles and sometimes in the lamina propria. We suggest that the distribution of 5-HT positive immunoreactive endocrine cells is related to the feeding habit and life environment of *T. amurensis*, and they might have endocrine, exocrine, and paracrine functions.

**Key words:** *Takydromus amurensis*; 5-HT cells; Digestive tract

\* 哈尔滨师范大学自然科学基金资助项目, 蔡火石生物科学发展基金资助;

第一作者介绍 李淑兰, 女, 40 岁, 硕士, 副教授; 研究方向: 动物生理; E-mail: shulanli2002@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2003-08-15, 修回日期: 2004-01-15

五羟色胺免疫活性细胞(5-Hydroxytryptamine immunoreactive, 5-HTIR)是广泛存在于各类脊椎动物消化道中的一类内分泌细胞,其分泌的5-羟色胺对调节消化道功能有着重要作用。随着蛋白质化学的发展以及放射免疫测定和免疫组织(细胞)化学技术的广泛应用,哺乳类动物消化道内分泌细胞的研究进展迅速<sup>[1,2]</sup>,爬行动物亦有报道<sup>[3-10]</sup>,但分歧较大。爬行动物在整个脊椎动物中居于承上启下的重要位置,对其消化道内分泌细胞进行研究,无疑具有重要的比较内分泌学意义。黑龙江草蜥(*Takydromus amurensis*)属爬行纲蜥蜴目,对其消化道5-HT内分泌细胞的研究未见报道,本文对其消化道中五羟色胺免疫活性细胞的形态和分布进行了观察研究,为消化生理提供形态学依据,进一步丰富消化道比较内分泌学资料。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 黑龙江草蜥6条,取自黑龙江省绥芬河。乙醚麻醉后,立即按下列消化道各段取材:食管、胃贲门部、胃体、胃幽门部、十二指肠、空肠、回肠和直肠。先用生理盐水快速冲洗,然后用改良的 Bouin's 液固定24 h,常规脱水透明,石蜡包埋,切片6  $\mu\text{m}$ ,贴于涂有铬矾明胶载玻片上,37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱烘片备用。

**1.2 试剂** 5-HT 抗血清(兔抗人)和 VECTASTAIN ABC 免疫组织化学试剂盒购于北京中山生物技术有限公司,美国 ZYMED 公司生产。5-HT 抗血清,稀释倍数1:100,产品代号为 ZA-0231。

**1.3 免疫组织化学方法** 常规石蜡切片脱蜡至水。滴加正常山羊血清(3:200),室温(15~25 $^{\circ}\text{C}$ )孵育20 min,封闭非特异性反应部位。倾去血清,滴加一抗(5-HT 抗血清,稀释倍数1:100),室温过夜。PBS 浸洗3次 $\times$ 5 min,滴加二抗(羊抗兔 IgG 抗血清,稀释倍数1:200),孵育45 min, PBS 浸洗3次 $\times$ 5 min。滴加卵白素-生物素-过氧化物酶(ABC)试剂(稀释倍数1:1:100),孵育40 min。PBS 浸洗3次 $\times$ 5 min,滴加 DAB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 显色后,冷 PBS、冷蒸馏水、自来水冲

洗。苏木精复染,常规石蜡脱水透明,封片。

对照切片以 ABC 试剂药盒中正常山羊血清取代兔抗 5-HT 血清(第一抗体)进行孵育,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20个(物镜40 $\times$ ,目镜10 $\times$ )视野计数,对所得数据用 Duncan 多重比较的方法进行统计学分析。

## 2 结 果

ABC 法显示 5-HT 免疫活性细胞的胞质呈均质状或颗粒状黑色。对照片呈阴性反应。

**2.1 5-HT 免疫活性细胞的组织学分布** 食管部 5-HT 阳性细胞分布在腺泡上皮之间呈锥体形且突起指向腺泡腔(图版 I:1),也有的分布在固有膜内呈圆形(图版 I:2)。胃贲门部 5-HT 阳性细胞分布在腺泡之间,呈椭圆形(图版 I:3)。胃体部 5-HT 细胞主要分布于腺泡上皮细胞之间,呈椭圆形(图版 I:4)。胃幽门部 5-HT 细胞分布在腺泡上皮细胞之间,呈锥体形或圆形(图版 I:5)。十二指肠部 5-HT 细胞形态多样,位于肠上皮之间,有的呈锥体形,其突起指向肠腔,有的呈梭形,具两个突起,其中一个突起伸向肠腔,另一突起伸向固有膜(图版 I:6),还有的两个 5-HT 阳性细胞通过突起紧密相贴(图版 I:7)。空肠部 5-HT 细胞分布在粘膜上皮细胞之间,呈圆形或椭圆形(图版 I:8)。回肠部 5-HT 细胞分布密度大,多位于上皮基部,呈圆形或椭圆形(图版 I:10,11)。直肠部 5-HT 细胞分布在固有膜内,呈圆形或椭圆形(图版 I:12)。

**2.2 消化道各段 5-HT 免疫活性细胞的分布密度** 对黑龙江草蜥消化道8个部位 5-HT 阳性细胞计数所得的数据采用 Duncan 多重比较的方法进行统计分析,结果见表1。

消化道 5-HT 细胞分布密度曲线呈波浪式,分布密度从食管开始,经胃贲门下降,到胃体达最低,到胃幽门部又升高,之后从十二指肠到回肠增加到最高,再由回肠到直肠略有降低。

表 1 Duncan 多重比较的结果

部位	分布密度平均数 (个/视野)	显著水平	
		0.05	0.01
回肠	14.3	a	A
直肠	13.2	a	AB
空肠	10.3	b	ABC
幽门	9.7	bc	BC
食管	8.6	bc	C
十二指肠	7.7	bc	CD
贲门	6.8	c	CD
胃	3.9	d	D

含有相同字母的处理,差异不显著;不含有相同字母的处理,差异显著

### 3 讨 论

5-HT 是爬行动物体内分布较广和数量较多的一种激素,对调节消化功能起着重要作用。扬子鳄 (*Alligator sinensis*)、金氏胎生蜥 (*Egernia kingii*)、和黄喉水龟 (*Mauremys mutica*) 分别以十二指肠、幽门腺区和大肠的阳性细胞密度为最高<sup>[11,12]</sup>。此外, E-salhy 等<sup>[13]</sup> 和唐晓雯等<sup>[12]</sup> 认为,在鸟、兽食管中缺乏 5-HTIR 细胞,而两栖类和爬行类却有分布。本文观察黑龙江草蜥食管中亦有 5-HTIR 细胞,且数量较多。已有研究表明,5-HTIR 细胞出现频率最高的区域可以是胃幽门部,如:小鼠、黄喉水龟、蟾蜍<sup>[12]</sup>;或十二指肠,如:虎皮鸚鵡<sup>[12]</sup>、扬子鳄<sup>[11]</sup>。也有少数例外,如大熊猫<sup>[1]</sup> 在空肠最多,北京鸭<sup>[14]</sup> 多分布于盲肠和直肠。本文中的黑龙江草蜥消化道各段均有 5-HTIR 细胞分布,但细胞密度以回肠、直肠部最高,胃体最少,密度分布曲线呈波浪式,这与以上各种动物的分布型都不相同,这种分布类型在以往的研究中很少见到。这也充分说明各物种间消化道内分泌细胞分布型的差异很大。分布型不同的原因:(1)黄喉水龟、扬子鳄、中华大蟾蜍 (*Bufo bufo gargarizans*) 和黑龙江草蜥在食性、食物组成是不同的,杨贵波等<sup>[1,2]</sup> 认为,5-HTIR 细胞的分布型变化大,与动物的食性、食物组成差异有关;(2)黑龙江草蜥是陆栖性种类,而黄喉水龟、扬子鳄和中华大蟾蜍是水栖或半水栖性的,它们的生活环境也是不同

的,说明 5-HTIR 细胞分布与生活环境有关;(3)此外,还可能与生活中食物的丰欠程度、动物的进食方式有关。

黑龙江草蜥食管中有 5-HT 阳性细胞分布且密度较高,除与上述原因有关外还可能与调节食物通过时肌肉收缩运动有关。5-HT 能刺激平滑肌收缩和血管扩张,有利于食物的蠕动和吞咽;5-HTIR 细胞在胃幽门部分布密度较高,可能因为胃是消化道行使消化功能的主要部位,需要大量的 5-HT 释放以助于胃的蠕动和食物消化。黑龙江草蜥 5-HTIR 细胞在回肠、直肠分布密度高是比较特殊的,其原因可能与 5-HT 调节肠道运动功能有关,还可能与动物对水分的保持有某种联系。

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,本文在黑龙江草蜥消化道内可见梭形、锥体形 5-HT 细胞具有长突起伸向肠腔或腺泡腔,并发现突起附近处有免疫染色反应产物,从而在形态学上证明其可能具有外分泌功能。此外,还有 5-HT 细胞位于固有膜内或其突起伸向固有膜,证实可能由此类细胞所分泌的 5-HT 直接进入血液循环,完成内分泌。有的梭形 5-HT 阳性细胞一端突起指向肠腔,另一端突起指向固有膜,是否反映同一个 5-HT 阳性细胞兼有内、外分泌双重功能,有待进一步研究。

研究发现黑龙江草蜥肠上皮基部和固有膜结缔组织中的一些 5-HT 细胞外有分泌颗粒,还发现有两个 5-HT 细胞借助突起紧密相接触,这些都说明消化道内分泌细胞具旁分泌作用,有的细胞有明显的胞突与神经细胞类似,为 Pearse 的散在神经内分泌学说提供了佐证。

消化道粘膜是脊椎动物体内最大、最复杂的内分泌器官。有研究表明,与其它胃肠道激素相比,5-HT 是爬行动物消化道中分布最广和含量最多的一种激素。5-HT 细胞在黑龙江草蜥消化道中大量存在,提示 5-HT 在其消化生理过程中起着重要作用。但是,无论是 5-HT 细胞的分布型的差异原因,还是 5-HT 的作用机理,都有待于进一步研究。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 杨贵波,陈茂生,邓泽沛.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.
- [ 2 ] 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.
- [ 3 ] 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.
- [ 4 ] Buchan A M J, Lance V, Polak J M. Regulatory peptides in the gastrointestinal tract of Alligator mississippiensis. *Cell Tissue Res*, 1983, 231:439~449.
- [ 5 ] Masini M A. Immunohistochemical localization of gut peptides in the small intestinal of snakes. *Bas Appl Histochem*, 1986, 30:317~324.
- [ 6 ] Arena P C, Richardson K C, Yamada J. An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the kings skink (*Egernia kingii*). *J Ana*, 1990, 170:73~85.
- [ 7 ] Morescalchi A M, Gaccioli M, Faraldi G, et al. The gastroenteric-pancreatic neuroendocrine system in two reptilian specise: *Chalcides chalcides* and *Zoonosaurus madascariensis* (Sauridae). *Eru J Histochem*, 1997, 41(1):29~40.
- [ 8 ] Perez-Tomas R, Ballesta J, Pastor L M, et al. Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles. *Gen Comp Endocrinology*, 1989, 76(2):171~191.
- [ 9 ] 张盛周,陈冬生,张志强等.无斑肥螈消化道5-羟色胺免疫活性细胞的分布与形态学观察.动物学杂志,2001,36(1):13~16.
- [ 10 ] 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.
- [ 11 ] 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.
- [ 12 ] 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.
- [ 13 ] El-Salhy M, Wilander E, Lundquist N. Comparative studies of serotonin like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomedical Research*, 1985, 6(6):371~375.
- [ 14 ] 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.

## 图版说明

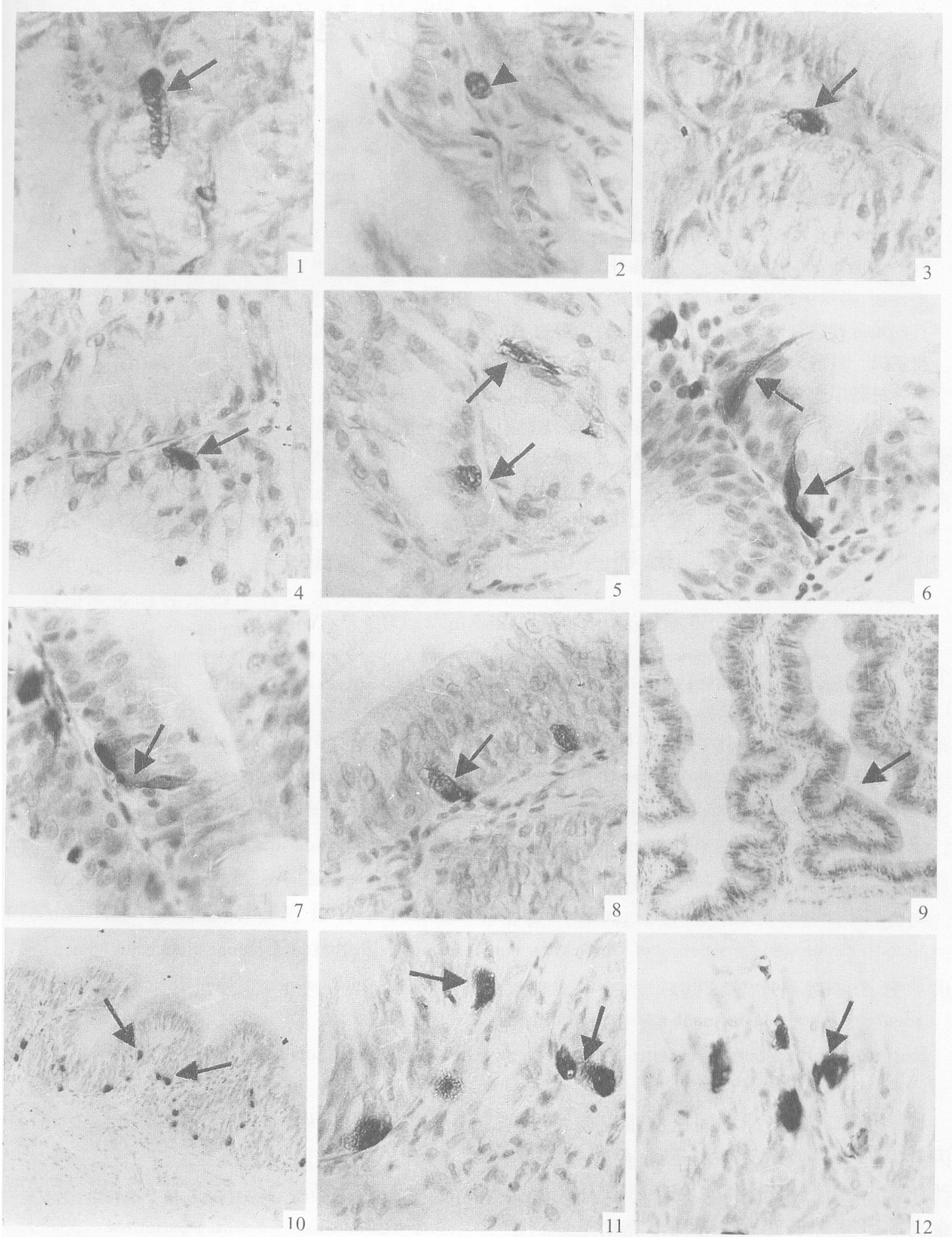
- 食管腺泡上皮细胞之间锥体形且突起指向腺泡腔的5-HT细胞(箭头)×400;
- 食管固有膜内圆形的5-HT细胞(箭头)×400;
- 胃贲门部腺泡上皮细胞之间椭圆形的5-HT细胞(箭头)×400;
- 胃体腺泡上皮之间的椭圆形5-HT细胞(箭头)×400;
- 胃幽门部腺泡上皮细胞之间圆形或锥体形的5-HT细胞(箭头)×400;
- 十二指肠上皮细胞之间锥体形和棱形的5-HT细胞(箭头)×400;
- 十二指肠上皮细胞之间棱形的5-HT细胞与位于上皮基部的锥体形5-HT细胞突起相接触(箭头)×400;
- 空肠上皮细胞之间椭圆形的5-HT细胞(箭头)×400;
- 空肠部阴性对照图(箭头)×100;
- 回肠上皮基部的5-HT细胞(箭头)×100;
- 回肠上皮基部圆形的5-HT细胞(箭头)×400;
- 直肠固有膜内椭圆形或圆形的5-HT细胞(箭头)×400

李淑兰:黑龙江草蜥消化道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布与形态学观察 图版 I

LI Shu-Lan: Distribution and Morphological Observation of 5-HT Positive Immunoreactive

Endocrine Cells in Digestive Tract of *Takydromus amurensis*

Plate I



图版说明见文后