

水鼯鼠消化道 5-羟色胺阳性细胞的形态与分布

刘志涛 曹雷 李淑兰* 赵文阁

哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 哈尔滨 150025

摘要:应用免疫酶标技术 ABC(avidin-biotin-peroxidase complex)法,对水鼯鼠(*Neomys fodiens*)消化道内 5-羟色胺(5-HT)阳性细胞的分布及形态进行研究。结果显示,5-羟色胺阳性细胞仅在肠内分布,食管和胃处没有分布。细胞分布密度曲线呈抛物线型,空肠部分布密度最高,十二指肠部次之,直肠处最低。5-HT 细胞主要分布于消化道上皮细胞之间、上皮基部、腺泡上皮细胞之间。形态较单一,仅具有圆形和锥体形。根据细胞的结构形态可以认为,水鼯鼠消化道内的 5-HT 细胞兼具内分泌与外分泌 2 种功能。

关键词:水鼯鼠; 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(2011)06-126-04

The Immunohistochemical Localization and Morphology of 5-HT Positive Cells in Digestive Tract of *Neomys fodiens*

LIU Zhi-Tao CAO Lei LI Shu-Lan* ZHAO Wen-Ge

College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China

Abstract: Immunohistochemical localization and morphology of 5-hydroxytryptamine immunoreactive cells (5-HT cells) in the digestive tract of *Neomys fodiens* were investigated by using the ABC (avidin-biotin-peroxidase complex) immunostaining technique. The 5-HT positive immunoreactive cells could be observed throughout the intestinal tract, from duodenum to rectum. The cell density curve appeared parabolic, with the highest in the jejunum (4.50 ± 1.60), followed by the duodenum (4.00 ± 1.33), while the lowest in the rectum (1.60 ± 0.94). The 5-HT cells distributed at the bottom of epithelial cells, between epithelial cells, between glandular epithelial cells or in the lamina propria. The 5-HT cells showed two shapes, round and taper. It is suggested that 5-HT positive immunoreactive cells in the digestive tract of *N. fodiens* should have both endocrine and exocrine functions, and their distributive density is related to its living habit and the way of existence.

Key words: *Neomys fodiens*; 5-HT cells; Digestive tract

消化道是脊椎动物体内重要的消化器官,也是最大的内分泌器官,其中含大量的内分泌细胞。消化道 5-HT 免疫活性细胞属内分泌细胞类,其分泌的 5-HT 是机体内重要的调节物,可刺激平滑肌收缩、血管舒张以及胃肠道分泌黏液,对消化功能有很强的调节作用^[1]。在两栖和爬行类动物中,5-HT 免疫活性内分泌细胞的定位研究比较广泛^[2-5]。而在哺乳类动物的相似研究国内外鲜有报道^[6-7]。研究表明,哺乳类消化道内分泌细胞的类型和分布不仅不同

于其他类脊椎动物,且哺乳纲内各种间亦存在较大差异。水鼯鼠(*Neomys fodiens*)属于脊椎动物门哺乳纲食虫目,半水生,以昆虫为食,同

基金项目 哈尔滨师范大学青年学术骨干资助计划项目(博士科研启动基金),世界自然基金会(WWF)野生动植物保护项目(No. 10000815-100592-1. 1. 02. 02);

* 通讯作者, E-mail: shulanli2002@yahoo.com.cn;

第一作者介绍 刘志涛,男,博士,讲师;研究方向:保护生物学和动物生理学; E-mail: zhitaoharbin1972@163.com。

收稿日期:2011-03-25,修回日期:2011-07-05

时猎食幼鱼、幼虾和幼蛙。水鼯鼯数量稀少,对自然环境要求苛刻且食性特殊,其消化道 5-HT 细胞方面的研究尚未见报道。我们应用免疫组织化学方法对水鼯鼯消化道 5-HT 细胞的分布与形态进行了研究,旨在增进对 5-HT 细胞在脊椎动物消化道中分布规律的认识,丰富比较内分泌学资料;同时,增加对水鼯鼯摄食习性和消化特性的进一步认识和了解,为该物种的保护提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 水鼯鼯 8 只,采集于黑龙江伊春市西林区林场。

1.1.2 制片与染色 水鼯鼯处死,剖腹后迅速取消化道各段:食管、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,用改良 Bouin's 液固定 48 h,常规脱水透明,石蜡包埋,切片厚度 6 μm ,贴片。

1.2 试剂 5-HT 抗血清(兔抗人)为美国 ZYMED 公司生产,产品代号为 ZA-0231,实际工作浓度 1:100。VECTASTAIN ABC 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 常规石蜡切片脱蜡复水,37 $^{\circ}\text{C}$ 3% H_2O_2 甲醇溶液孵育 10 min。分别用蒸馏水和 PBS 冲洗,滴加正常山羊血清,室温孵育 20 min。倾去血清,滴加兔抗 5-HT 抗血清,室温过夜。PBS 冲洗,滴加二抗(羊抗兔 IgG 抗血清),室温孵育 45 min,PBS 浸洗,滴加卵白素-生物素-过氧化物酶(ABC)试剂,孵育 40 min。PBS 浸洗,滴加 DAB 显色。分别用冷 PBS、蒸馏水、自来水冲洗。苏木精复染,脱水、透明、封片。

1.4 细胞计数 在 Olympus BH-2 型显微镜下,每个部位随机取 10 张切片,每张切片随机取 20 个 400 倍视野计数,取平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 表示内分泌细胞的分布密度,并用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对各部位中 5-HT 细胞的绝对数量进行统计。

1.5 照相 应用 LEICA DC500 DM LB2 显微

镜成像系统拍照。

2 结果

5-HT 激素抗血清在水鼯鼯消化道显示的内分泌细胞胞质呈红棕色均质状或颗粒状,并且蓝色背景,反差强烈,对照实验呈阴性反应。

2.1 5-HT 细胞的分布及形态特征 在水鼯鼯消化道中,食管及胃处均未发现 5-HT 阳性细胞;在肠道中,5-HT 细胞遍及肠道各段,但其细胞形态较单一,仅锥形、圆形或椭圆形。锥形细胞位于腺泡上皮细胞间或基部,细胞具有长长的胞质突起,伸向腺泡腔。圆形或椭圆形细胞位于上皮细胞间或位于上皮基部(图 1)。

2.2 5-HT 阳性细胞在消化道各段的分布 对水鼯鼯消化道各部位的 5-HT 阳性细胞计数,数据采用 Duncan 多重比较法进行统计分析(表 1)。在水鼯鼯肠道内,5-HT 细胞密度呈近抛物线状分布,分布峰值出现在空肠,十二指肠部次之,而直肠的分布密度最低。

表 1 5-HT 细胞在消化道分布的相对密度
(Mean \pm SD, $n = 20$)

Table 1 Distribution and density of the 5-HT cells in the digestive tract of *Neomys fodiens*

部位 Site	细胞分布密度 (个/400 倍视野) Distribution and density (cells/400 time field)	显著水平 Sig. (0.01)
十二指肠 Duodenum	4.00 \pm 1.33	A
空肠 Jejunum	4.50 \pm 1.60	A
回肠 Ileum	2.00 \pm 1.08	B
直肠 Rectum	1.60 \pm 0.94	B

含有不相同字母表示差异显著。

Different letters indicate significant difference.

3 讨论

3.1 5-HT 细胞的分布密度与特点 在各种脊椎动物消化道中^[7],5-HT 阳性细胞普遍广泛存在,但密度峰值分布状况差异显著。通过对不同种脊椎动物消化道 5-HT 细胞^[6]分布进行相关比较,发现该种内分泌细胞在食管处的分布仅见于脊椎动物两栖纲和爬行纲。我们在水鼯鼯的食管内也未发现 5-HT 阳性细胞,这与以上研究结果相同。有研究表明,在脊椎动物中,

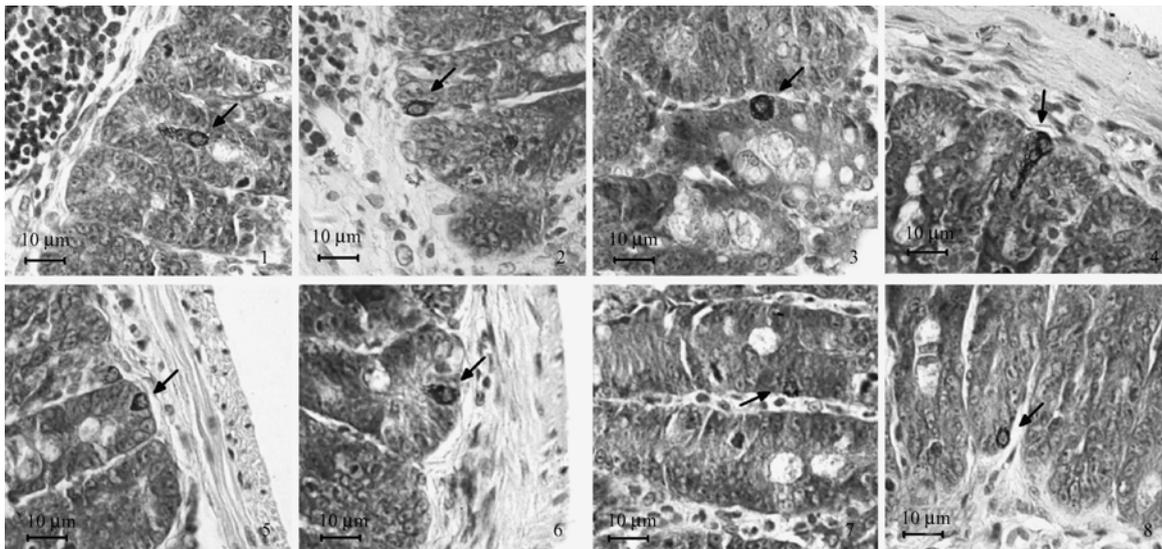


图1 水鼯鼠 5-HT 阳性细胞分布及形态特征

Fig.1 The shape and distribution of 5-HT positive immunoreactive endocrine cells of *Neomys fodiens*

1. 十二指肠 5-HT 细胞,位于腺泡上皮,呈锥体形,突起伸向腺泡腔(↑); 2. 十二指肠 5-HT 细胞,位于上皮细胞基部,呈椭圆形(↑); 3. 空肠 5-HT 细胞,位于上皮细胞之间,呈圆形(↑); 4. 空肠 5-HT 细胞,位于腺泡上皮基部,呈锥体形,突起伸向腺泡腔(↑); 5. 回肠 5-HT 细胞,位于上皮基部,呈椭圆形(↑); 6. 直肠 5-HT 细胞,位于上皮基部,呈椭圆形(↑); 7. 直肠 5-HT 细胞,位于腺泡上皮,呈锥体形,突起伸向腺泡腔(↑); 8. 直肠 5-HT 细胞,位于上皮基部,呈椭圆形(↑)。

1. A shuttle-shaped 5-HT cell between epithelial cells of intestinal gland in the duodenum, with its process extending to acinus lumen; 2. An oval 5-HT cell in the bottom of glandular epithelia in the duodenum; 3. A round 5-HT cell between epithelial cells of intestinal gland in the jejunum; 4. A shuttle-shaped 5-HT cell at the bottom of glandular epithelia in the jejunum, with its process extending to acinus lumen; 5. An oval 5-HT cell in the bottom of glandular epithelia in the ileum; 6. An oval 5-HT cell in the bottom of glandular epithelia in the rectum; 7. A shuttle-shaped 5-HT cell between epithelial cells of intestinal gland in the rectum, with its process extending to acinus lumen; 8. An oval 5-HT cell in the bottom of glandular epithelia in the rectum.

大多数动物的 5-HT 阳性细胞均集中在胃贲门处,如东方铃蟾 (*Bombina orientalis*)^[8];或胃底部,如吸血蝠 (*Desmodus rotundus*)^[9];或胃体处,如长鬣蜥 (*Physignathus cocincinus*)^[10];或胃幽门处,如哺乳纲的小鼠 (*Mus musculus albula*)^[7] 及食虫蝠 (*Molossus molossus*)^[11],爬行纲的胎生蜥蜴 (*Lacerta vivipara*)^[5],两栖纲的中华大蟾蜍 (*Bufo bufo gargarizans*)^[7]。5-HT 细胞在肠道处的分布,也因动物种类的不同而显现密度分布差异:两栖纲的黑框蟾蜍 (*B. melanostictus*)^[12] 在回肠处最多;爬行纲动物扬子鳄 (*Alligator sinensis*)^[5] 的密度峰值出现在十二指肠部;哺乳纲家兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 属单胃草食动物,其消化道内 5-HT 细胞分布密度具有 2 个峰值,最高在盲肠部^[13],已证实

家兔盲肠在消化食物的粗纤维中起十分重要的作用^[14];食肉目大熊猫 (*Ailuropodidae melanoleuca*) 消化道内的 5-HT 细胞则在空肠处分布最多^[15],这种分布型与大熊猫特殊食性相关。水鼯鼠同属于哺乳纲,其 5-HT 细胞密度最高处为空肠部,与大熊猫的研究结果相同。5-HT 的释放有助于胃肠的蠕动和食物的消化^[7]。据此认为,水鼯鼠消化道空肠部 5-HT 阳性细胞的高密度与其食性和消化特点相适应。有研究表明,家兔^[14] 和大熊猫^[15] 十二指肠中 5-HT 细胞分布密度仅低于各自分布密度的最高部位,本研究水鼯鼠 5-HT 细胞在十二指肠的分布密度仅次于空肠,这种分布情况与大熊猫和家兔相同。十二指肠既接受胃液又接受胰液和胆汁注入,消化功能十分重要^[1],十二指肠也

是胃肠道内消化液分泌最高的节段,5-HT 具有调节黏液分泌,促进胃肠道蠕动的的作用,因此 5-HT 细胞在其中的高密度分布有利于消化吸收功能的实现。食物的消化吸收到直肠中已基本完成,食管和胃部基本上不承担吸收功能仅进行机械消化,水鼯鼯 5-HT 细胞在食管和胃处没有分布。

3.2 5-HT 细胞的形态位置与功能 通过扫描电镜技术观察到 5-HT 激素分泌物是以弥散方式进入消化道固有层的。生理学实验证明,哺乳动物胃肠消化道分泌的 5-HT 可直接入血或肠腔^[16]。大鼠 (*Rattus norvegicus*) 胃肠道内的 5-HT 免疫活性细胞可通过其胞突深入到上皮固有层或消化道肠腔面,以实现内分泌或外分泌功能^[17]。在水鼯鼯消化道内可见有呈锥体形的 5-HT 阳性细胞的胞突伸向肠道固有层,且有圆形和椭圆形的 5-HT 细胞位于上皮基部及腺泡之间,证实可能由此类细胞所分泌的 5-HT 直接进入血液循环以完成内分泌功能。此外,还观察到锥体形内分泌细胞的胞突附近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。但是否具有旁分泌功能还有待于进一步研究。

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] El-Salhy M, Wilander E, Lundqvist M. Comparative studies of serotonin like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomedical Research*,1985,6(6): 371-375.
- [3] Facer P, Polak J M, Jaffe B M, et al. Immunocytochemical demonstration of 5-hydroxytryptamine in gastrointestinal endocrine cells. *The Histochemical Journal*,1979,11(1): 117-121.
- [4] 李淑兰,陈霞,赵文阁. 枕纹锦蛇消化道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布与形态与观察. *动物学研究*,2004,25(1): 63-67.
- [5] 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.
- [6] 李淑兰,赵文阁,冷超,等. 胎生蜥蜴 (*Lacerta vivipara* Jacquin) 消化道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的研究. *中国比较医学杂志*,2005,40(5): 37-42.
- [7] 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): 293-297.
- [8] 李淑兰,赵文阁,冷超,等. 东方铃蟾消化道 5-羟色胺免疫活性细胞的免疫组织化学定位. *动物学杂志*,2005,40(5): 37-42.
- [9] Machado-Santos C, do Nascimento A A, Peracchi A L, et al. Distributions of the endocrine cells in the gastrointestinal tract of nectarivorous and sanguivorous bats: a comparative immunocytochemical study. *Tissue Cell*,2009,41(3): 222-229.
- [10] 陈霞,李淑兰,赵文阁. 长鬣蜥胃肠道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位. *四川动物*,2007,26(2): 291-294.
- [11] Santos C M, Nascimento A A, Peracchi A L, et al. Immunocytochemical study of gastrintestinal endocrine cells in insectivorous bats (Mammalia: Chiroptera). *Brazilian Journal of Biology*,2008,68(3): 663-669.
- [12] 张秋金,陈友铃,耿宝荣,等. 黑眶蟾蜍和黑斑蛙消化道 5-羟色胺免疫活性细胞的免疫组织化学. *动物学杂志*,2005,40(4): 17-21.
- [13] 李淑兰,陈洪岩. 家兔消化道 5-羟色胺免疫活性细胞的免疫组织化学研究. *中国比较医学杂志*,2003,13(6): 346-349.
- [14] 王凤产,王坤英,张文学. 家兔消化道 5-HT 免疫反应阳性肥大细胞. *信阳师范学院学报: 自然科学版*,2008,21(3): 417-422.
- [15] 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.
- [16] Josephson R L, Altmann G G. Distribution of diazo-positive (argentaffin) cells in small intestine of rats of various ages. *Am J Anat*,1973,136(1): 15-22.
- [17] 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): 422-426.