凹耳蛙消化道组织学和嗜银细胞形态观察

马雪泷 唐鑫生 吴仁红 马亚军 张 蕾 黄山学院生命与环境科学学院 黄山 245041

摘要:为了揭示凹耳蛙(Odorrana tormota)消化道的基本特征,运用石蜡切片法和龙桂开银浸法对凹耳蛙消化道组织学结构及嗜银细胞的形态与分布密度进行了观察。结果显示:①凹耳蛙的胃壁具明显的纵行皱襞和胃小凹,胃腺发达,小肠可分为十二指肠和回肠,杯状细胞分散在十二指肠上皮细胞之间,十二指肠中未见十二指肠腺分布。②凹耳蛙嗜银细胞见于消化道全长,呈毛笔头样、锥体形、梭形、椭圆形和长条形等;幽门腺上皮和十二指肠绒毛上皮中的嗜银细胞具指向腺泡腔或肠腔的突起,提示其可能具有腔分泌的功能。嗜银细胞的分布密度胃幽门部最高,十二指肠和胃体其次,食道最低。据此认为胃既是凹耳蛙的主要消化器官,也是消化道中主要的内分泌器官;十二指肠是凹耳蛙消化道中的主要吸收部位,同时也具有内分泌功能;消化道嗜银细胞具有内分泌的功能,还可能具有腔分泌的功能。

关键词: 凹耳蛙: 消化道: 组织学: 嗜银细胞

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)01-09-07

Morphological Studies of Digestive Tract and Its Argyrophil Cells in Sunken Ear Frog

MA Xue-Long TANG Xin-Sheng WU Ren-Hong MA Ya-Jun ZHANG Lei College of Life and Environmental Sciences, Huangshan University, Huangshan 245041, China

Abstract; To reveal the basic characteristics of the digestive tract of Sunken Ear Frog (Odorrana tormota), paraffin section and Longguikai's silver staining were used to observe histological characteristics and distribution density of argyrophil cells in the digestive tract. Longitudinal plica and gastric pits were obviously observed on the gastric wall and glands were well developed. The small intestine could be divided into duodenum and ileum, with goblet cells scattered among the duodenum epithelial cells, while no glands were found in the duodenum. Argyrophil cells in various shapes, such as brush-headed, conical, spindle-like, elliptical and rectangular, were observed along the whole digestive tract, and these cells in gland epithelium of pilori and villus epithelium of duodenum had apophysis pointing to the acinar lumen or intestine, indicating the possible luminal secretion function of these cells. Pylorica part of suomach had the highest density of argyrophil cells, followed by the duodenum and the body of stomach, and the least in esophagus. Therefore, the stomach is believed to have both digestion and secretion functions in Sunken Ear Frog, and the duodenum is the main absorption tract, with some secretion functions. Argyrophil cells in the digestive tracts have both endocrine function and luminal secretion ability.

Key words: Sunken Ear Frog(Odorrana tormota); Digestive tract; Histology; Argyrophil cells

基金项目 安徽省教育厅自然科学基金项目(No. KJ2009B145, KJ2008A088), 黄山学院自然科学基金项目(No. 2007xkj009); 第一作者介绍 马雪泷,男,副教授;研究方向:组织细胞学; E-mail: xlong@ hsu. edu. cn。 收稿日期:2011-07-11,修回日期:2011-11-11

消化道不仅仅是消化器官,而且是体内最 大最复杂的内分泌器官[1]。胃肠道黏膜中广 泛分布着具有亲银性或嗜银性的细胞,对于这 类细胞的功能直到20世纪60年代末,采用免 疫组织化学法对其进行直接地细胞化学定位 后,才确定它们属于内分泌细胞[2]。这些内分 泌细胞散在分布于消化道黏膜中,其分泌的多 种胃肠激素具有调节消化吸收过程、保护胃肠 黏膜 和 控 制 动 物 摄 食 行 为 等 多 项 生 理 作 用[3-4]。近年来对胃肠道嗜银细胞的分布、分 类、功能等方面的研究有很多,它的内分泌作用 已普遍为人们所接受。应用不同的银染方法对 动物消化道内分泌细胞进行定位研究,已有一 些报道[5-8],这些研究表明,两栖类消化道内分 泌细胞的分布特征不仅与哺乳类不同,而且在 两栖类各个物种间亦存在较大差异[9]。

凹耳蛙(Odorrana tormota)的鼓膜深陷形 成外耳道,在蛙类中颇为特殊,是第一种被证实 具备发射和接收超声波能力的非哺乳类脊椎动 物,在无尾两栖动物发声系统生态和进化形态 学研究中具有重要地位[10]。凹耳蛙为我国特 有种,分布范围狭窄,仅分布于安徽的黄山和浙 江的富春江流域,种群数量很小[11]。由于凹耳 蛙的分布具有极强的地域性且数量稀少,所以 对于凹耳蛙的研究较少,更缺乏系统性。对于 凹耳蛙消化道内分泌细胞的分布特征的研究未 见报道。为有效地保护这一宝贵的物种资源, 对其进行深入细致的系统研究十分必要。本文 采用 H. E 染色法和龙桂开浸银法,对凹耳蛙消 化道的组织学结构及内分泌细胞的数量和分布 密度进行统计和定位研究,将为丰富两栖类消 化道组织学提供基础资料,为凹耳蛙生理学研 究提供形态学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 2009年6月于安徽黄山风景区附近(东经118°09′1″,北纬30°04′41″,海拔460~500 m)捕获雄性凹耳蛙4只,平均体长(35.60±0.77)mm,用双毁髓法处死动物。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、回肠和直肠,用任氏液洗净,采用中性福尔马林固定液固定。

- 1.2 组织学观察 取固定后的凹耳蛙的食道、胃贲门部、胃体、胃幽门部、十二指肠、回肠和直肠各段,常规石蜡包埋、切片(厚6μm), H. E 染色后镜检、观察、拍照。
- 1.3 嗜银细胞观察 取固定后的凹耳蛙食道、胃贲门部、胃胃体、胃幽门部、十二指肠、回肠和直肠各段,用龙桂开银浸法染色[12]。组织块用蒸馏水洗3h后浸入25%硝酸银水溶液,在常温下避光放置48h。然后蒸馏水洗数分钟后换入氨银溶液(10%硝酸银水溶液10 ml 加40%氢氧化钠水溶液5 ml,定容至100 ml)中避光放置5h。蒸馏水略洗后浸入20%福尔马林液中还原10h,水洗后按常规石蜡切片法浸蜡、包埋、切片(厚6 μm),用中性树胶封藏。结果可见嗜银细胞颗粒呈黑色,细胞核呈棕色。
- 1.4 观察与记数 分别取 4 只凹耳蛙相同部位的完整的银染切片各 2~3 张,在 Nikon E200型显微镜下观察并拍照。每张切片随机取 3~4个视野,共取 10 个视野,放大倍数 400×(物镜 40×,目镜 10×),计数嗜银阳性细胞个数,取平均值(Mean ± SD),表示嗜银细胞的分布密度。

2 结 果

2.1 消化道解剖和组织学特征

- 2.1.1 食道 食道前段呈喇叭状,与口咽腔相连,无明显的界限,后段呈管状。食道黏膜层向食道腔形成多个皱褶,各皱褶上又有次级皱褶存在。黏膜上皮为单层柱状纤毛上皮,细胞核圆形或长椭圆形(图版 I:1),黏膜上偶见杯状细胞。有腺体分布在皱褶的固有膜中,为复泡状腺。黏膜下层较厚,为疏松结缔组织,黏膜肌层较薄。肌层较厚,内外两层,内层环肌,外层纵肌,前者明显厚于后者。
- 2.1.2 胃 贲门与食道相连,两者之间分界明显。外形为膨大的长形肌肉囊状,其平均长度为(12.20±0.65)mm,胃长与胃最大宽度之比的平均值为2.23。胃幽门部外观有一圈凹陷

缢痕,与十二指肠分界明显。胃内壁有粗大的 纵行皱襞,到幽门处时皱襞变平,有的区域皱襞 消失。胃黏膜向胃腔突出形成大量的黏膜皱 褶,充满了绝大部分胃腔。胃黏膜上皮为单层 柱状上皮,细胞呈高柱状,细胞核位于基底部, 长椭圆形。黏膜表面有许多胃小凹,胃上皮从 胃小凹陷入而为胃腺(图版 I:2)。胃腺发达, 属于单管状腺,均分布于固有膜中,可分为颈部 和腺体部。黏膜肌层 2 层,外侧纵肌略厚于内 层环肌。黏膜下层由疏松结缔组织构成,其中 分布大量血管、淋巴管及黏膜下层神经层。肌 层均为平滑肌,内层环肌较厚,外侧纵肌较薄。 胃幽门处具有发达的幽门腺,肌层中环形肌明 显较厚。

2.1.3 肠 肠与胃分界明显,是消化道中最长 的一部分,根据肠皱襞的形态以及内部结构可 分为小肠和大肠,小肠又可分为十二指肠和回 肠。凹耳蛙全肠平均长度(89.38 ± 3.19) mm, 约为蛙体长度的 2.51 倍。十二指肠和回肠总 体平均长度为(70.75 ± 2.33) mm, 为肠总长度 的 79.2%。十二指肠与胃交界处有明显的缢 缩,分界清楚:十二指肠细短,内壁用体视显微 镜观察可见有纵行皱襞,肠壁也具有4层结构, 黏膜上皮为单层柱状上皮,细胞核长椭圆形,位 于细胞基部,核仁明显;上皮细胞之间夹杂有少 量杯状细胞。黏膜上皮和固有层向肠腔突起形 成肠绒毛。肠绒毛中轴的固有层结缔组织中有 不太发达的中央乳糜管(图版 I:3)。黏膜下层 中未见十二指肠腺且黏膜肌层不明显。十二指 肠肌层较发达,可区分为较厚的内环肌和较薄 的外纵肌。回肠黏膜皱褶数量明显较十二指肠 减少,肠道管径逐渐狭小。黏膜上皮细胞高柱 状,细胞核长椭圆形,位于细胞基部;黏膜肌层 也不明显,黏膜下层和肌层均较十二指肠厚。 大肠与回肠相接,分界明显,相接处有缢环,为 一粗而直的管道。管腔大而管壁薄,管径明显 大于小肠。大肠的内壁可见大量细小的纵行皱 襞,黏膜上皮为单层柱状上皮,其间分布有杯状 细胞。黏膜皱褶较回肠多且低矮;黏膜肌层明 显:固有膜中有大肠腺分布:黏膜下层和肌层较 回肠厚,内环肌明显较外纵肌发达(图版 I:4)。

2.2 消化道嗜银细胞的分布密度及形态学特征 在龙桂开浸银法染色的切片上,背景为浅 棕黄色,嗜银细胞颗粒呈黑色,细胞核黄褐色。

嗜银细胞见于凹耳蛙的消化道全长。在幽门处数量最多,食道最少,肠道中以十二指肠处分布密度为最高(表1)。

表 1 凹耳蛙消化道嗜银细胞的分布密度

Table 1 Distribution density of the argyrophil cells in the digestive tract of Odorrana tormota

部位 Region	分布密度平均数(个/400×视野) The average distributive density (Number of cells /400 times field)
食道 Esophagus	16.02 ± 4.49
贲门 Cardiac part of stomac	h 52. 31 \pm 8. 16
胃体 Body of stomach	66.51 ± 18.47
幽门 Pylorica part of suoma	ch 113. 54 \pm 22. 38
十二指肠 Duodenum	86.03 ± 18.52
回肠 Ileum	52.62 ± 13.67
直肠 Rectum	61. 42 ± 21. 46

食道中的嗜银细胞呈锥体形或椭圆形,有 些形成突起指向固有膜或食管腔面,分布于食 道黏膜上皮细胞之间(图版 I:5)。胃贲门处黏 膜层较薄,其中有少量的贲门腺,嗜银细胞大多 分布在贲门腺腺泡上皮细胞之间,少量分布于黏 膜上皮细胞之间,多为锥体形,间有椭圆形。胃 体部的嗜银细胞多分布于胃底腺颈黏液细胞之 间或其附近,少量夹于黏膜上皮之间,有锥体形、 梭形和圆形。胃幽门处固有膜中有大量幽门 腺,嗜银细胞位于黏膜上皮和腺泡上皮之间,呈 毛笔头型、锥形和椭圆形(图版 I:6)。肠道中, 十二指肠段的嗜银细胞主要分布在小肠绒毛上 皮细胞之间,长条形与梭形,一端的突起指向肠 腔(图版 I:7)。回肠段有小肠腺,嗜银细胞主 要分布于黏膜上皮细胞之间和小肠腺上皮细胞 之间,多为锥体形。直肠内有大肠腺,嗜银细胞 多位于黏膜上皮细胞之间与大肠腺腺上皮之 间,多呈锥体形、梭形和椭圆形(图版 I:8)。

3 讨论

3.1 凹耳蛙消化道的组织学特征 凹耳蛙食 道黏膜上皮为单层柱状纤毛上皮细胞,其纤毛

表面有黏液存在,有利于食物向胃部移动。凹耳蛙的胃已经具有四层结构,存在明显的纵行皱襞和胃小凹,增大了胃的扩张性和消化能力;发达的胃腺显示胃是凹耳蛙主要的消化器官。凹耳蛙小肠各段的皱襞、肠绒毛数量和形态均存在着差别。本文根据凹耳蛙小肠皱襞的形态、肠腺分布特征、管壁的薄厚和管径的大小等特点,将其分为十二指肠和回肠。十二指肠中有发达的肠绒毛,但固有膜中未见十二指肠腺,说明凹耳蛙的十二指肠是吸收的主要部位,对食物的消化主要还是依靠胃。回肠管壁较薄,肠绒毛较短,在固有膜中有肠腺分布,开口于绒毛之间,可分泌黏液。大肠内壁无绒毛状突起,有较多低矮的黏膜皱褶,大肠上皮细胞主要为单层柱状上皮细胞和杯状细胞。

凹耳蛙的消化道组织学特征与其他两栖类相类似,如黑斑蛙(Rana nigramaculata)、虎纹蛙(Hoplobatrachus rugulosus)、中华大蟾蜍(Bufo gargariizans)和中国林蛙(R. chensinensis)等[13-16],十二指肠中没有十二指肠腺的分布,消化主要依靠胃,十二指肠是主要的吸收器官。凹耳蛙的十二指肠上皮细胞中有少量杯状细胞的分布,在这方面无尾两栖类动物是存在着种间差异的。如黑斑蛙[13]、中华大蟾蜍[15]、斑腿树蛙(Rhacophorus megacephalus)[17]等十二指肠上皮细胞中均分布有杯状细胞,但虎纹蛙[14]和中国林蛙[16]的十二指肠中都没有杯状细胞。这种结构上的差异是与食性相适应的[18],所以,不同生境中的食物构成因素导致不同蛙类在消化道的组织结构方面的差异。

3.2 凹耳蛙消化道嗜银细胞的分布特征 凹耳蛙消化道各部均有嗜银细胞的分布,以胃的幽门部嗜银细胞分布密度最大,食道分布密度最小(表1)。黄威权等将哺乳动物消化道中小肠段的嗜银细胞分布归纳为3种类型^[19],一种类型是十二指肠数量最多,向后递减;第二种类型是头尾两端多,中部较少,即呈"U"形分布;第三种类型为呈高低变动的波浪式分布。韩昭雪对花背蟾蜍(B. raddei)消化道嗜银细胞的观察支持第一种类型这一观点^[8]。楚德昌等

在中华大蟾蜍观察到的结果,倾向于第二种意见^[7]。李淑兰等^[20]在中国林蛙的观察结果支持第三种说法。本文结果接近于第一种观点,在小肠中以十二指肠部嗜银细胞分布最多,向后递减。

消化道嗜银细胞及亲银细胞为内分泌细胞的观点已经得到普遍认可^[2],这一观点也可以从形态学方面得以证实。如有些嗜银细胞分布于固有层内或突起指向固有层,表明嗜银细胞可能释放激素进入循环血液中^[21-22]。也有学者提出,消化道嗜银细胞还具有腔分泌和旁分泌的作用^[7]。凹耳蛙胃幽门处幽门腺上皮中嗜银细胞和十二指肠绒毛上皮中分布的嗜银细胞均观察到指向腺泡腔或肠腔的突起,说明嗜银细胞确实具有向幽门腺泡腔和十二指肠腔分泌的可能性。

许多研究者认为,消化道中嗜银细胞的分布特征与其食性、食物组成、生活阶段、生活环境等有关^[9,23-25]。凹耳蛙消化道嗜银细胞的分布特征也必然与其生活环境和食性等相适应。通过对凹耳蛙消化道组织学和嗜银细胞分布特征的观察,以及与同生境中的其他蛙类的比较,可以进一步了解它们之间的竞争关系。例如,凹耳蛙消化道嗜银细胞分布密度最高的部位是胃的幽门部,这一特征与武夷湍蛙(Amolops wuyiensis)胃肠道中内分泌细胞分布数量特征^[26]完全一致。凹耳蛙的生境与武夷湍蛙相重叠^[27],虽然目前还未见到关于凹耳蛙食性分析的报告,但相似的消化道内分泌细胞分布特征显示出着二者食性可能非常接近。

总之,消化道嗜银细胞的分布在两栖类中既具有较多的共性,也具有种间差异。这与不同物种的生活环境和个体的生活状态相关。本文通过对凹耳蛙这一稀有物种的研究,了解了其消化道的组织结构和嗜银细胞在消化道中的分布特征,明确了胃既是凹耳蛙的主要消化器官,也是消化道中主要的内分泌器官;十二指肠是凹耳蛙消化道中的主要吸收部位,同时也具有内分泌功能;消化道嗜银细胞除了具有内分泌功能外,可能还具有腔分泌的功能。深入了

解凹耳蛙的消化道特征,对于进一步保护这一极具特色,而且分布区域极窄的珍稀物种具有深远的意义。

参考文献

- [1] Rehfeld J F. A centenary of gastrointestinal endocrinology. Horm Metab Res, 2004, 36(11/12); 735 - 741.
- [2] 邓孔昭. 胃肠道内分泌细胞及其激素. 生理科学进展, 1980,11(2): 113-119.
- [3] Solcia E, Rindi G, Buffa R, et al. Gastric endocrine cells: types, function and growth. Regul Pept, 2000, 93 (1/3): 31-35.
- [4] 莫剑忠,王承党.胃肠激素对胃运动的调节作用.中华消化杂志,2005,25(6):379-381.
- [5] 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.
- [6] Bulbring E. The action of 5-Hydroxytryptamine, 5-Hydroxytryptophan and reserpine on intestinal peristalsis in anesthetized guinea-pig. J Physiol, 1959, 146: 29 – 53.
- [7] 楚德昌,邓振旭. 中华大蟾蜍消化道嗜银细胞的形态与分布. 解剖学杂志,2002,25(3): 289-292.
- [8] 韩昭雪. 花背蟾蜍胃、肠嗜银细胞和亲银细胞的分布及形态观察. 兰州大学学报:自然科学版,1990,26(3):114-116.
- [9] 赵文艳,李淑兰. 黑斑蛙胃肠道嗜银细胞的分布及形态 学研究. 中国比较医学杂志,2003,13(6): 364-367.
- [10] 李丕鹏. 凹耳蛙及无尾两栖动物发声系统形态学研究 进展. 四川动物,2010,29(1): 151-155.
- [11] 陈璧辉. 安徽两栖爬行动物志. 合肥:安徽科学技术出版社,1991: 133-137.
- [12] 曾小鲁,程景福. 实用生物学制片技术. 北京: 高等教育出版社,1989: 177-178.
- [13] 李朝波,李进国,高登慧. 黑斑蛙消化器官的组织学观察. 山地农业生物学报,2008,27(1): 69-71.

- [14] 江剑平,陈祖祺,黄浩,等. 虎纹蛙消化道解剖学观察. 福建师范大学学报:自然科学版,2002,18(4):77
- [15] 岳兴建,张耀光,王志坚. 中华蟾蜍消化道组织学及组织化学研究. 西南师范大学学报: 自然科学版,2002,27(3): 383-389.
- [16] 崔成都,朴正浩,刘学龙,等.中国林蛙消化道解剖学观察.黑龙江畜牧兽医,2004,(11):58-59.
- [17] 徐敬明. 斑腿树蛙消化道组织学的初步研究. 安徽农业科学,2008,36(30): 13187-13189.
- [18] 邵晨,洪煌明. 金华地区虎纹蛙消化道形态解剖学观察. 浙江师范大学学报:自然科学版,2005,28(2):197-200.
- [19] 黄威权,黄荫乔,王文超,等. 大鼠小肠嗜银、亲银细胞的分布及形态学观察. 解剖学报,1985,16(4):412-416
- [20] 李淑兰,赵文阁,王云秋.中国林蛙胃肠道嗜银细胞的分布及形态学观察.两栖爬行动物学研究,2002,9:28-32
- [21] Josephson R L, Altmann G G. Distribution of diazo-positive (argentaffin) cells in the small intestine of rats of various ages. Am J Anat, 1973, 136(1): 15 22.
- [22] 王丽影,任媛,刘超,等. 白条草蜥消化道嗜银细胞的分布和形态学观察. 四川动物,2009,28(2): 247-249.
- [23] 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.
- [24] 付雪枫,张志强.禁食对东方蝾螈胃肠道嗜银细胞形态和分布密度的影响.动物学杂志,2011,46(2):114-119.
- [25] 楚德昌,邓振旭. 中华蟾蜍、黑斑蛙冬眠期与非冬眠期消化管嗜银细胞的比较. 动物学杂志,2004,39(1):21-24.
- [26] Huang X G, Wu X B. Immunohistochemical localization of endocrine cells in the gastrointestinal tract of Mt. Wuyi cascade-frog (*Amolops wuyiensis*). Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(2): 162 – 168.
- [27] 唐鑫生, 聂刘旺. 黄山市两栖动物资源及其保护. 资源 开发与市场, 2008, 24(5): 455-457.

图 版 说 明

1. 食道黏膜上皮:示单层柱状纤毛上皮细胞腔面的纤毛; 2. 胃壁结构:示胃小凹、上皮及胃腺等; 3. 小肠绒毛:示小肠绒毛上皮细胞; 4. 大肠:示黏膜肌层、发达的环形肌和较薄的纵行肌; 5. 食道银染:示嗜银细胞; 6. 胃幽门部银染:示幽门腺与幽门上皮中密集的椭圆形和锥体形嗜银细胞; 7. 小肠绒毛银染:示位于黏膜上皮中的长梭形嗜银细胞; 8. 大肠银染:示位于大肠腺和黏膜上皮中的嗜银细胞。

Explanation of Plate

1. Esophageal epithelium; single-deck columnar ciliated epithelium; 2. Stomach structure; gastric pit, epithelium and gastric gland; 3. Intestinal villi; epithelial cell; 4. Large intestine; muscular rlayer of mucosa, developed circular muscle and thin longitudinal muscle; 5. Esophagus silver staining; argyrophil cells; 6. Stomachus pyloricus silver staining; pyloric gland and pylorus epithelium with dense oval and cone-shaped argyrophilic cells; 7. Intestinal villi silver staining; the long spindle-like argyrophilic cells in epithelium; 8. Large intestine silver staining; the argyrophilic cells in the large intestine gland.

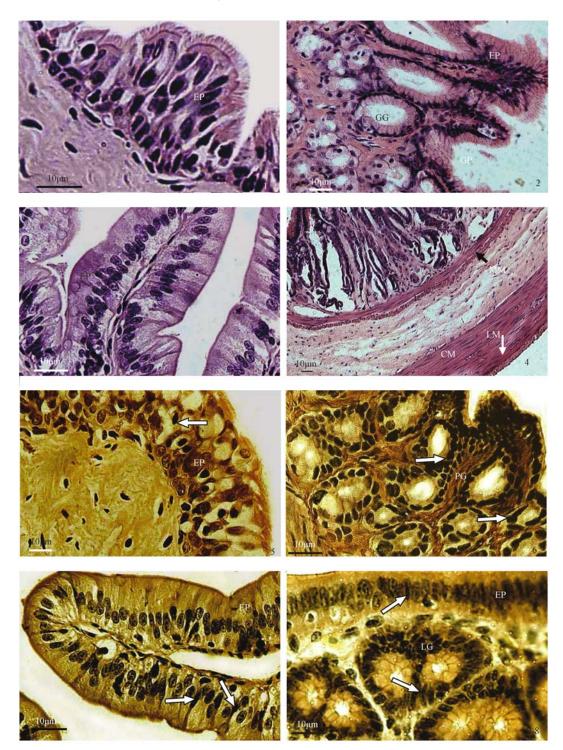
EP:上皮; GP:胃小凹; GG:胃腺; CM:环形肌; LM:纵行肌; MM:黏膜肌层; PG:幽门腺; LG:大肠腺; ⇒ 嗜银细胞。 EP: Epithelium; GP: Gastric pit; GG: Gastric gland; CM: Circular muscle; LM: Longitudinal muscle; MM: Muscular layer of mucosa; PG: Pyloric gland; LG: Large intestine gland; ⇒ Argyrophilic cells.

马雪泷等:凹耳蛙消化道组织学和嗜银细胞形态观察

图版 I

MA Xue-Long $\it{et~al.}$: Morphological Studies of Digestive Tract and Its Argyrophil Cells in Sunken Ear Frog

Plate I



图版说明见文后