

文章编号: 1000- 0615(2001)06- 0528- 05

中华鳖胃肠胰内分泌细胞的鉴定与定位

林树根, 黄志坚, 王寿昆

(福建农林大学动物科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 应用过氧化物酶标记的链霉亲和素(Streptavidin-peroxidase 简称 S-P 法)免疫组织化学技术, 用抗胰高血糖素、胃泌素、生长抑素、5-羟色胺抗体对中华鳖(*Trionyx sinensis*)的胃、肠、胰内分泌细胞进行研究。结果表明: 5-HT 细胞在消化道各段均有分布, 以小肠密度最高, 胃、大肠、直肠其次, 食管最少。Som 细胞在胃底部、幽门部和小肠各段密度较高, 胃贲门部、大肠和直肠密度较低。Gas 细胞分布于胃体部、幽门部和小肠各段; 胃贲门部、大肠和直肠未检出 Gas 细胞。Glu 细胞在消化道各段均未检出, 在胰腺中均鉴别出 Glu 细胞和 Som 细胞。

关键词: 中华鳖; 胃肠胰系统; 内分泌细胞; 免疫组织化学反应

中图分类号: Q954. 62 文献标识码: A

Localization and identification of endocrine cells in the Gastro-Entero-Pancreatic system of *Trionyx sinensis*

LIN Shu-gen, HUANG Zhi-jian, WANG Shou-kun

(College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The endocrine cells in the digestive tract and pancreas of soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*) were studied by using Streptavidin peroxidase (S-P), an immunohistochemical method with anti-Glueagon (Glu), Gastrin (Gas), Somatostatin (Som), 5-hydroxytryptamine (5-HT) body. The result showed that 5-HT cells were distributed in the all digestive tract, in which the density of 5-HT cells in the small intestine were highest, that in the stomachus, large intestine, rectum secondly, and that in the oesophagus lowest. The density of Som cells in the stomachus fundus, pyloricus and small intestine were higher than that in stomachus cardia, large intestine, rectum and pancreas gland. The Gas cells distributed in the stomachus corpus, pyloricus and small intestine, there were not the Gas cells in the stomachus cardia, large intestine and rectum. The Glu cells were distinguished in the pancreas gland and not in the intestine.

Key words: *Trionyx sinensis*; gastro-entero-pancreatic endocrine system; endocrine cells; immunohistochemical reaction.

目前, 对人类和哺乳动物胃肠胰内分泌系统中, 胺前体的摄取与脱羧系统(APUD)的细胞已进行广泛深入的研究, 发现了多种类型内分泌细胞, 它们对调节消化系统功能发挥着重大作用^[1]。爬行类消化道内分泌细胞的研究亦有一些报道^[2-7], 但分歧较大。爬行类是脊椎动物的一个重要类群, 居于承上启下的重要位置, 对其消化道 APUD 细胞进行研究, 在比较内分泌学方面将具有重要意义。本文应用四种

消化道激素抗血清,对中华鳖消化道各段和胰腺中可能存在的内分泌细胞类型和出现频率进行了系统研究,为爬行类消化道组织学、消化生理及内分泌学等研究领域提供新资料。

1 材料和方法

1.1 材料

中华鳖4只,每只重500g左右,取自福州友源餐馆,断头放血处死,自下列消化道各段取材:食管、胃贲门部、胃体部、幽门部、十二指肠、空肠、回肠、大肠、直肠和胰腺。用无冰醋酸的 Bouin 液固定24h,常规脱水透明,石蜡包埋,切片厚度6 μ m,贴附于经多聚赖氨酸处理的玻片上,40℃烘干24h。

1.2 主要试剂及药品

研究使用的胰高血糖素(Glu)、胃泌素(Gas)、生长抑素(Som)、5-羟色胺(5-HT)4种抗血清的工作浓度分别为1:50、1:1000、1:100和1:40,即用型免疫组织化学S-P试剂盒。以上一抗和过氧化物酶标记的链霉亲和素(S-P)试剂盒均来源于美国MAXIM BIOTECH,INC公司。

1.3 S-P的主要步骤

常规石蜡切片脱蜡至水。3% H_2O_2 室温孵育5min,消除内源性过氧化物酶的活性;5%~10%正常山羊血清室温中孵育10min,消除非特异性抗体;第一抗体4℃过夜;生物素标记的羊抗兔IgG血清37℃孵育10min;辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素37℃孵育10min;3-3-二氨基联苯二胺盐酸盐(DAB)室温中显示10min;对照片以相应部位的连续切片并用PBS取代一抗血清,其余步骤均按上述方法同步进行。

1.4 观察、计数

将以上各部位置于Olympus BH-2显微镜下(10 \times 20)中观察鉴别、计数、显微摄影。阳性反应呈棕黄色为免疫活性内分泌细胞。各取材部位随机取10个视野计数,取平均值,示内分泌细胞的分布密度。

2 结果

中华鳖的胃肠胰(GEP)中4种内分泌细胞的定位情况及分布密度见表1。

表1 中华鳖 GEP 中4种内分泌细胞的分布和密度

Tab.1 Distribution of 4 kinds of endocrine cells in the gastro-entero-pancreatic endocrine system of *Trionyx sinensis*

内分泌细胞	食管	贲门	胃底	幽门	十二指肠	空肠	回肠	大肠	直肠	胰腺
5-羟色胺 (5-HT)	3 \pm 0.5	16 \pm 3	21 \pm 4	28 \pm 6	41 \pm 8	35 \pm 6	31 \pm 7	25 \pm 5	23 \pm 5	
生长抑素 (Som)		7 \pm 2	28 \pm 5	34 \pm 5	42 \pm 7.5	37 \pm 3.5	27 \pm 4	15 \pm 4	13 \pm 3	11 \pm 2
胃泌素 (Gas)			36 \pm 4	45 \pm 7	23 \pm 5	13 \pm 2	8 \pm 2			
胰高血糖素 (Glu)										13 \pm 2

5-羟色胺(5-HT)细胞 在消化道各段均有分布,胃、小肠分布密度较高,尤其以十二指肠密度最高,大肠、直肠其次,食管最少。在胃贲门部5-HT细胞分布于胃粘膜上皮细胞之间和固有膜结缔组织中,细胞形态椭圆形,有的可见到两个突起(图版1)。胃体部和幽门部5-HT细胞主要分布于胃腺腺上皮细胞之间,少量分布于胃粘膜上皮细胞之间,胃腺上皮细胞之间的5-HT细胞,有的呈锥形,可见胞突伸入胃腺腺泡腔;有的呈三角形,基部有两个突起分别伸到相邻的细胞基部(图版iv-2)。肠道5-HT细胞主要位于粘膜上皮细胞之间和固有膜结缔组织中,细胞呈锥形、楔形、球形及不规则形,有的细胞突起

直接开口于肠腔(图版 iv-3, 4)。胰腺未检出 5-HT 阳性细胞。

生长抑素(Som)细胞 胃体部、胃幽门部、小肠各段分布密度较高,胃贲门部、大肠、直肠分布密度低,食管未见 Som 细胞分布。Som 细胞在胃的分布主要位于胃腺上皮细胞之间,少量分布于胃粘膜上皮细胞之间和固有膜结缔组织中。分布于胃腺上皮细胞之间的 Som 细胞呈三角形,有突起伸向腺泡腔(图版 iv-5);分布于胃粘膜上皮细胞之间的 Som 细胞呈椭圆形,有的可见二个长突起(图版 iv-6)。Som 细胞在肠道各段则分布于粘膜上皮细胞之间和固有膜结缔组织中,细胞形态为圆球形、椭圆形,较少见到细胞突起(图版 iv-9)。胰腺亦有 Som 细胞,位于胰岛的 Som 细胞为球形,细胞体积较小,主要分布于胰岛周边(图版 iv-10 粗箭头);分布于胰腺外分泌腺泡之间的 Som 细胞为三角形,细胞体积较大(图版 iv-10 细箭头)。

胃泌素(Gas)细胞 分布于胃体部、胃幽门部和小肠各段。Gas 细胞在胃体部和胃幽门部较为密集,位于胃腺深层粘液细胞之间,细胞为三角锥形,有一长突起伸向腺泡腔,基部两个突起伸向相邻细胞之间(图版 iv-7)。胃粘膜上皮和固有膜结缔组织未见有 Gas 细胞分布。Gas 细胞在小肠的分布是前段至后段呈递减的趋势,细胞位于小肠上皮细胞之间,细胞形态呈椭球形、长梭形,可明显见到一长突起(图版 iv-8)。食管、胃贲门部、大肠、直肠未检出 Gas 细胞。

胰高血糖素(Glu)细胞 仅分布在胰腺胰岛当中,细胞呈球形、三角形,体积大小不一,分散分布于胰岛当中(图版 iv-11)。消化道各段均未检出 Glu 细胞。

3 讨论

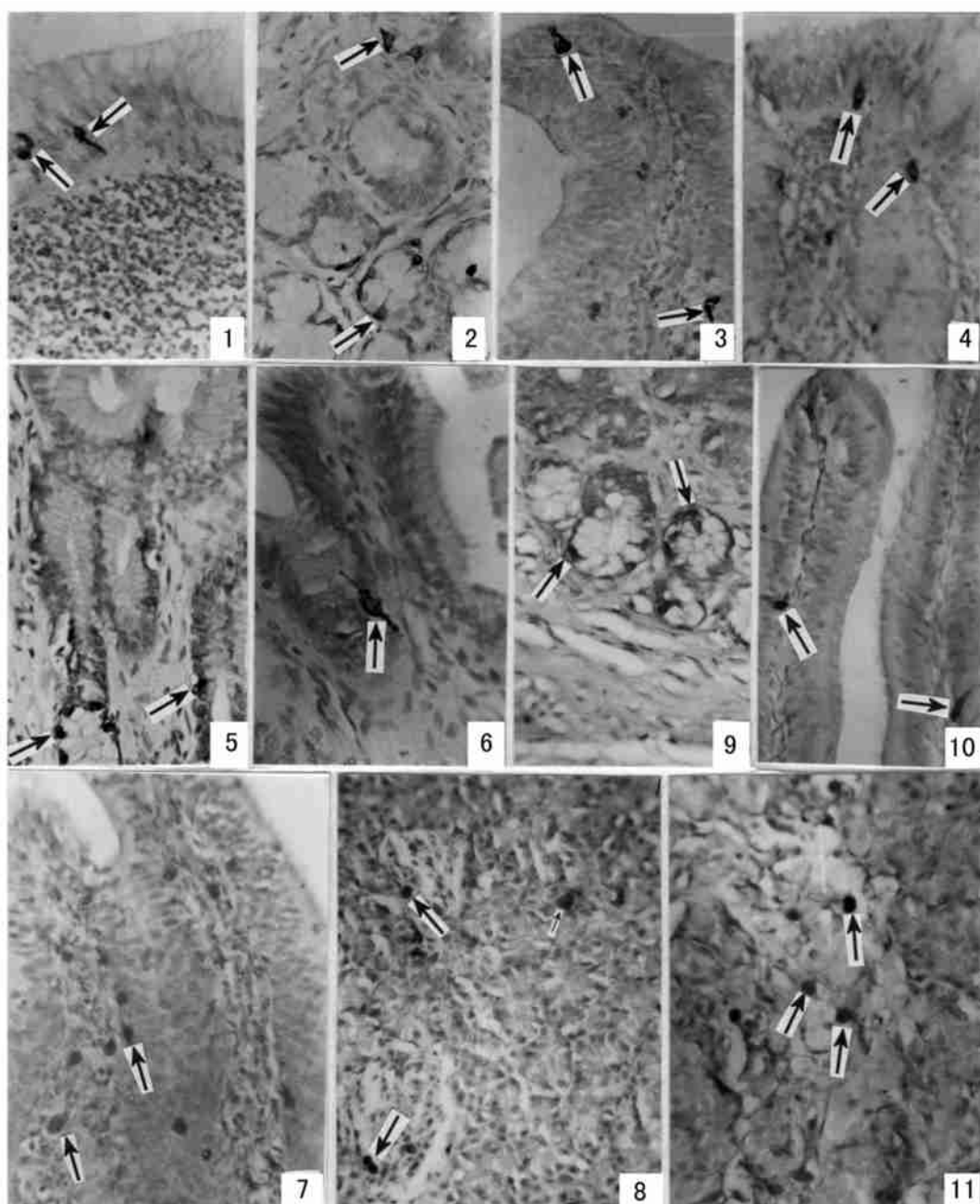
5-HT 细胞广泛分布于各类脊椎动物的消化道中,但差异颇大。据 El-Sally 等和唐晓文等报道,鸟类、兽类食管中缺 5-HT 细胞,而两栖类和爬行类则有分布^[8,9]。我们在中华鳖食管亦检出少量 5-HT 细胞,这与唐晓文等^[9]所报道相一致。5-HT 能刺激胃肠粘液分泌,平滑肌收缩和血管扩张,对消化功能具有很强的调节作用^[10]。中华鳖消化道 5-HT 细胞的分布以胃、小肠较多,大肠、直肠其次,食管最少。胃、小肠是主要的消化吸收场所,需要依靠 5-HT 及其它因子的调节。大肠、直肠主要功能是形成粪便及排便,因此,这种分布型与 5-HT 调节肠道运动的功能相一致。

Som 细胞在已研究过的爬行动物消化道中均有发现,但分布型亦有差异。密河鳄(*Alligator mississippiensis*)和宽吻凯门鳄(*Caiman latirostris*)整个胃肠道均有分布^[3,5]。蜥蜴类主要分布于胃,大肠中未见^[2,6]。扬子鳄主要分布于胃和十二指肠,空肠、回肠及直肠未见分布^[7]。中华鳖 Som 细胞分布在胃体部、胃幽门部和小肠各段,且数量较多,大肠、直肠的分布明显减少。胃 Som 细胞在胃腺上皮细胞之间,基部有两个突起分别伸到相邻细胞,提示其可能通过旁分泌作用方式直接影响邻近细胞活动。据张席锦(1985)报道,生长抑素对多种胃肠激素、酶及胃肠运动有普遍的抑制作用。胃内 PH 值下降时,细胞释放生长抑素,可抑制 Gas 细胞释放胃泌素,从而使胃酸的分泌降低^[11]。中华鳖胃幽门部和十二指肠具有较多的生长抑素细胞,显然 Som 细胞的分布特点,对胃肠功能的调节具有重要意义。

Gas 细胞在密河鳄和金氏胎生蜥(*Egernia kingii*)分布于胃幽门部及小肠各段,大肠无分布^[3,6]。宽吻凯门鳄主要分布于胃幽门部和小肠前段^[5]。扬子鳄主要分布于十二指肠前段,空肠、回肠和直肠中偶见^[7]。中华鳖胃体部、胃幽门部及小肠各段均能检出 Gas 细胞,大肠、直肠中未见。说明爬行类不同种动物之间消化道 Gas 细胞的分布也存在很大差异。胃泌素的主要生理功能作用是刺激胃酸、胃蛋白酶分泌、胃窦收缩,增加胃粘膜血流量^[12]。Gas 细胞仅分布于胃及小肠,而且是由上向下逐渐减少,大肠、直肠均未检出 Gas 细胞。胃、小肠是主要的消化吸收场所,需要依靠胃泌素来调节消化吸收功能。因此, Gas 细胞的分布型与其功能作用是相一致的。

参考文献:

- [1] 顾江. 消化道内分泌细胞的命名、分类和胚胎发生[A]. 见:王志均主编. 胃肠激素[M]. 北京: 科学出版社. 1985. 15~ 26.
- [2] 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[J]. Biomed Res. 1981. 2(6):639~ 658.
- [3] Buchan A M J, Lance V, Polak J M. Regulatory peptides in the gastrointestinal tract of *Alligator mississippiensis*[J]. Cell Tissue Res. 1983. 231: 439~ 449.
- [4] Masini M A. Immunohistochemical localization of gut peptides in the small intestine of snakes[J]. Bas Appl. His tochem 1986. .30: 317~ 324.
- [5] Yamada Junzo, Valencio J M Compos, Nobuo Kitamura, et. al. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the Caiman latirostris[J]. Arch Histol Jpn. 1987. 50(2):229~ 242.
- [6] Arena P C, Richardson K C, Yamada J. An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the king's skink(*Egernia kingii*)[J]. J Anat. 1991. 170: 73~ 85.
- [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[J]. 动物学报 1999, 45(2): 155~ 161.
- [8] El-Salhy M, Wilander E, Lundqvist M. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates[J]. Biomed Res. 1985. 6(6): 371~ 375.
- [9] 唐晓文, 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[J]. 动物学研究. 1991, 12(3): 293~ 298.
- [10] Solcia E, Capella C, Vassallo G, et al. Endocrine cells of the gastric mucosa[J]. Int Rev Cytol. 42:223~ 286. 1975.
- [11] 张席锦. 生长抑素[A]. 王志均. 胃肠激素[M]. 北京: 科学出版社. 1985. 197~ 199.
- [12] 郭燕世. 胃素[A]. 王志均. 胃肠激素[M]. 北京: 科学出版社. 1985. 104~ 112.



1. 胃贛门部5-羟色胺细胞(箭头)×400; 2. 胃幽门部5-羟色胺细胞(箭头)×400; 3. 回肠5-羟色胺细胞(箭头)×400; 4. 直肠5-羟色胺细胞(箭头)×400; 5. 胃底部生长抑素细胞(箭头)×400; 6. 胃幽门部生长抑素细胞(箭头)×600; 7. 胃底部胃泌素细胞(箭头)×400; 8. 十二指肠胃泌素细胞(箭头)×400; 9. 空肠生长抑素细胞(箭头)×400; 10. 胰腺胰岛生长抑素细胞(粗箭头), 胰腺外分泌部生长抑素细胞(细箭头)×400; 11. 胰腺胰高血糖素细胞(箭头)×400