

褐篮子鱼消化道内分泌细胞的鉴别与定位

王 琼, 叶海辉, 黄辉洋, 韩师昭, 杨 青

(厦门大学 海洋系 亚热带海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘要: 应用 4 种兔抗胃肠激素抗体和 SABC 免疫组织化学方法, 对褐篮子鱼 (*Siganus fuscus*) 消化道中的内分泌细胞进行鉴别和定位。结果表明, Som 细胞集中位于食道和胃部; PP 细胞在幽门盲囊分布较多, 少量分布于小肠和直肠; NPY 细胞在幽门盲囊和小肠有少量分布; 5-HT 细胞在消化道各段均有分布, 且数量较多。4 种内分泌细胞的数量分布和形态特征存在一定的差异, 对其可能的内分泌方式和生理作用进行了讨论。

关键词: 褐篮子鱼 (*Siganus fuscus*); 消化道; 内分泌细胞; 免疫组织化学

中图分类号: S965.1; Q45 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2007)12-0013-03

目前, 对人类和哺乳动物胃胰腺 (gastro enteropancreatic, GEP) 系统内分泌细胞已进行了广泛详细的研究, 在哺乳类已命名了 19 种内分泌细胞, 它们对消化系统的功能具有重要的调节作用。对鱼类胃肠胰系统而言, 研究的广度及深度远不及哺乳类, 在淡水鱼类方面, 迄今, 国内外学者在硬骨鱼和软骨鱼中分别发现了 14 种和 18 种内分泌细胞^[1-4]。有关海洋鱼类尤其是海洋经济鱼类这方面的研究尚少。

褐篮子鱼 (*Siganus fuscus*) 属鲈形目, 篮子鱼科, 篮子鱼属。其肉味鲜美, 经济价值较高, 在福建厦门海域养殖量较大。为提高其养殖技术, 有必要对消化道胃肠激素的分布进行研究。作者应用 SABC 免疫组织化学技术和 4 种抗体, 对消化道内分泌细胞进行鉴别和定位, 旨在为褐篮子鱼营养与消化生理学和人工配合饲料的研制提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 样品制备

褐篮子鱼 5 尾, 体长 10.5~13.0 cm, 体质量 40~75 g。雌雄兼有, 购自厦门农贸市场。置于清水中暂养 24 h 后活体解剖, 按食道、贲门胃、幽门胃、幽门盲囊、小肠、直肠等部位取材, 立即投入 Bouin's 液中固定 18~24 h, 常规脱水透明, 石蜡包埋, 切片 6 μ m, 贴片, 37℃ 烘干备用。

1.2 主要试剂

兔抗生长抑素 (Somatostatin, Som) 抗体和兔抗胰多肽 (Pancreatic Polypeptide, PP) 抗体的工作浓度为 1:50; 兔抗 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 抗体和兔抗神经肽 Y (Neuropeptide Y, NPY) 抗体的工作浓度为 1:100。以上试剂均为美国

ZYMED 公司产品。链霉菌抗生素蛋白过氧化酶免疫组织化学试剂盒 (SABC Kit) 为武汉博士德生物工程有限公司产品。3,3'-二氨基联苯胺盐酸盐 (DAB) 为 Sigma 公司产品。

1.3 SABC 法的主要步骤

切片脱蜡至水, 3% H₂O₂/PBS 室温孵育 10 min, 以消除内源性过氧化物酶的活性。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。滴加第一抗体, 37℃ 孵育 1.5 h。滴加生物素标记的羊抗兔抗体, 37℃ 孵育 0.5 h。滴加链霉菌抗生素蛋白过氧化酶, 37℃ 孵育 0.5 h。0.06% DAB 0.03% H₂O₂ 显色 5~10 min。阴性对照实验采用相邻切片, 以正常羊血清代替第一抗体, 同步进行上述免疫组织化学反应程序。

1.4 观察

在 Olympus BX51 型显微镜下观察, 用 Olympus DP11 数码摄像机拍照。各取材部位随机取 10 个 400 倍视野分别计算 4 种内分泌细胞的平均值。

2 结 果

2.1 内分泌细胞的密度分布

光镜下, 褐篮子鱼消化道免疫活性内分泌细胞的

收稿日期: 2004-08-26; 修回日期: 2005-08-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30300269); 福建省青年科技人才创新项目 (2003J018)

作者简介: 王琼 (1981), 女, 江苏徐州人, 硕士研究生, 从事海洋生物学研究; 叶海辉, 通讯作者, 电话: 0592-2185539;

E-mail: haihuiye@163.com

胞质内充满棕褐色的颗粒,细胞核呈空泡状,易与消化道其他细胞区别。对照组均呈阴性反应。4种内分泌细胞褐篮子鱼消化道各段的分布密度见表1。

表1 褐篮子鱼消化道内分泌细胞的分布与密度
Tab.1 Distribution and density of the endocrine cells in the digestive tract of *Sigauns fuscens*

细胞种类	食道	贛门胃	幽门胃	幽门盲囊	小肠	直肠
Som 细胞	+++	++	+	-	-	-
PP 细胞	-	-	-	++	+	+
NPY 细胞	-	-	-	+	+	-
5-HT 细胞	++	+	++	+	+	++

注:“+++”表示10个以上阳性细胞;“++”表示6~10个阳性细胞;“+”表示1~5个阳性细胞;“-”表示阴性反应

2.2 内分泌细胞的形态特征

幽门盲囊中,蝌蚪形或梭形的PP细胞位于上皮基部,胞突伸向肠腔或粘膜下层(图1-1);椭圆形的PP细胞通常位于粘膜下层。小肠和直肠PP细胞多数为圆形,少数为梭形(图1-2)。食道和胃中Som细胞呈三角形或圆形,位于粘膜下层,食道腺和胃腺周围(图1-3)。幽门盲囊和小肠的NPY细胞一般呈梭形或长条形,位于上皮基部,常见单个突起伸向肠腔(图1-4);直肠NPY细胞一般为椭圆形,位于上皮基部。5-HT细胞在消化道各部位均有分布,多数细胞为圆形,少数为梭形,位于上皮基部或粘膜下层(图1-4);胃腺四周的5-HT细胞呈椭圆形或三角形(图1-1)。

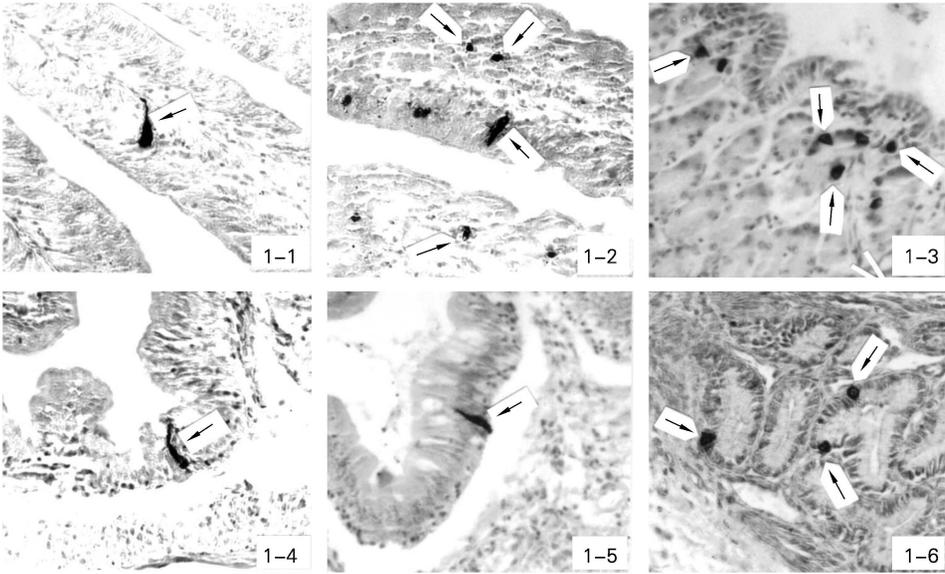


图1 褐篮子鱼消化道内分泌细胞的形态

Fig.1 Morphology of the endocrine cells in the digestive tract of *Sigauns fuscens*

1-1. 幽门盲囊中蝌蚪形PP细胞(↑); 1-2. 小肠中圆形PP细胞(○)和梭形PP细胞(↑); 1-3. 胃腺中圆形Som细胞(○); 1-4. 小肠中梭形NPY细胞(↑); 1-5. 直肠中梭形5-HT细胞(↑); 1-6. 胃腺中椭圆形5-HT细胞(○); ×280

1-1. PP immunoreactive cells in the stomach pyloric, tadpole-like PP cells(↑); 1-2. PP immunoreactive cells in the small intestine, circular PP cells(○) and spindle-like PP cells(↑); 1-3. Som immunoreactive cells in the stomach gland, circular SOM cells(○); 1-4. NPY immunoreactive cells in the small intestine, spindle-like NPY cells(↑); 1-5. 5-HT immunoreactive cells in the rectum, spindle-like 5-HT cells(↑); 1-6. 5-HT immunoreactive cells in the stomach gland, elliptic 5-HT cells(○); ×280

3 讨论

免疫组织化学技术是鉴定消化道内分泌细胞的常用有效手段。消化道内分泌细胞根据形态学特征可分为两大类:一类是开放型细胞,有胞质突起,多数呈长梭形、长颈瓶形、蝌蚪形等形态,行使腔分泌功能;另一类是封闭型细胞,无胞突,多呈圆形、椭圆形,

行使内分泌功能^[1]。当胃内pH值下降时,Som细胞受刺激释放生长抑素,从而抑制胃泌素的释放,降低壁细胞的胃酸分泌等^[5]。褐篮子鱼Som细胞集中于食道和胃部,细胞呈三角形或圆形,且位于胃腺细胞周围。褐篮子鱼Som细胞分布特点,显然对胃肠功能的调节具有重要意义。PP是一种抑制性激素,它与胆囊收缩素(CCK)的作用相反,CCK能抑制胃

排空及酸排出^[6], PP 细胞则可通过抑制 CCK 的释放而达到促进胃排空及酸排出。褐篮子鱼身体侧扁, 体形较小, 胃容量小, 属 I 型胃。PP 细胞在胃幽门盲囊分布较多, 可能与促进胃排空以增加进食频率有关。NPY 可促进胃肠道血管收缩, 使胃肠道的平滑肌收缩, 进而引起胃容受性收缩, 黏膜下层的 NPY 能直接调节肠上皮的吸收^[7]。NPY 细胞仅分布于褐篮子鱼胃幽门盲囊和小肠, 且大多分布在黏膜下层, 推测大弹涂鱼消化道中的 NPY 与上述功能有关。业已证实, 5-HT 能刺激胃肠黏液分泌, 平滑肌收缩和血管扩张, 对消化功能具有很强的调节作用^[8]。本研究发现 5-HT 细胞广泛分布于褐篮子鱼消化道各段及胃腺, 该分布特点提示了 5-HT 与吞咽、胃肠运动、胃液分泌、并促进排便有关。褐篮子鱼消化道 4 种内分泌细胞的不同分布与形态特征, 体现了其消化道具备复杂的内分泌作用。

参考文献:

[1] 潘黔生, 方之平. 鱼类胃肠胰内分泌系统 APUD 细胞研究的现状[J]. 水生生物学报, 1995, 19(3): 275-282.

- [2] 顾江. APUD 系统的现状[J]. 生理科学进展, 1982, 13(2): 120-125.
- [3] Cinar K, Diler A. Immunohistochemical localization of glucagons, substance - P and vasoactive intestinal peptide in gastrointestinal tract mucosa of zander[J]. *Journal of Fish Biology*, 2002, 60(2): 319-327.
- [4] Cinar K, Diler A, Biligin F. Immunohistochemical localization of some peptides in the gastrointestinal tract mucosa of pike perch (*Stizostedion lucioperca* L., 1758) [J]. *Türk Veterinerlik Ve Hayvancilik Dergisi*, 2001, 25(3): 369-375.
- [5] 张席锦. 生长抑素[A]. 王志均. 胃肠激素[C]. 北京: 科学出版社, 1985. 197-199.
- [6] 梅懋华, 林坤伟. 胰多肽[A]. 王志均. 胃肠激素[C]. 北京: 科学出版社, 1985. 231-236.
- [7] Billington C J, Briggs J, Grace M, *et al.* Effects of NPY on energy metabolism[J]. *Am J Physiol*, 1991, 260: 321-327.
- [8] Solcia E, Capella C, Vassallo G, *et al.* Endocrine cells of the gastric mucosa[J]. *Int Rev Cytol*, 1975, 42: 223-286.

Immunohistochemical studies on endocrine cells in the digestive tract of *Siganus fuscus*

WANG Qiong, YE Hai-hui, HUANG Hu-yang, HAN Shi-zhao, YANG Qing

(Department of Oceanography, Institute of Subtropical Oceanography of Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Received: Aug., 26, 2004

Key words: *Siganus fuscus*; digestive tract; endocrine cell; immunohistochemistry

Abstract: By using immunohistochemistry method of Strept Avidin Biotin Complex, four kinds of antisera raised against rabbit hormones: somatostatin (Som), pancreatic polypeptide (PP), neuropeptide Y (NPY) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) were used to identify and locate the endocrine cells in the digestive tract of *Siganus fuscus*. The results showed that Som immunoreactive cells were observed mainly in oesophagus and stomach; PP immunoreactive cells were mainly located in the pyloric sac, while sparsely in the small intestine and the rectum; NPY immunoreactive cells were presented rarely in the pyloric sac and the small intestine; 5-HT immunoreactive cells were distributed in all parts of the digestive tract with the higher density. The morphologic characteristics of the endocrine cells were described. The distribution feature of these cells and the relationship between their shape and the ways of endocrine were discussed.

(本文编辑: 刘珊珊)