

## 胎生蜥蜴消化道4种内分泌细胞的免疫组织化学研究

吴昊,李淑兰,刘志涛,刘鹏,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:**为了探索胎生蜥蜴消化道内分泌细胞的形态与分布规律。应用胃泌素(Gas)、胰高血糖素(Glu)、胰多肽(PP)和P-物质(SP)4种特异性抗血清,对胎生蜥蜴(*Lacerta vivipara*)消化道内分泌细胞进行了免疫组织化学定位研究和形态学观察。用免疫组织化学ABC法(avidin-biotin complex method)以揭示其消化道内分泌细胞的分布规律及特点。结果表明:Gas细胞分布在贲门、幽门和小肠,其中以十二指肠处分布密度最高,贲门次之。Glu细胞主要分布在幽门和小肠前段,小肠后段偶见,并且幽门处的分布密度明显高于其他部位。在幽门、十二指肠和回肠都检测到了PP细胞,并且在十二指肠分布最多。仅在幽门部检测到了少量的SP细胞。4种内分泌细胞以圆形和锥体形为主,它们广泛分布于上皮细胞之间、腺泡上皮细胞之间及上皮细胞基部。上述内分泌细胞的分布特点可能与其食性、食物组成和生活环境有关。

**关键词:**胎生蜥蜴;消化道;内分泌细胞;免疫组织化学

中图分类号:Q955

文献标志码:A

论文编号:2012-0585

### Immunohistochemical Study of the Four Kinds of Endocrine Cells in the Digestive Tract of *Lacerta vivipara*

Wu Hao, Li Shulan, Liu Zhitao, Liu Peng, Zhao Wenge

(College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025)

**Abstract:** To clarify the morphological features and region distribution of the endocrine cells in the digestive tract of the *Lacerta vivipara*. The localization and morphology of endocrine cells in the digestive tract of *Lacertavivipara* were studied with Gastrin (Gas), Glucagon (Glu), Pancreatic Polypeptide (PP) and substance P-(SP) four kinds of specific antisera. Immunohistochemical ABC method (avidin-biotin complex method) was used to reveal the law and characters of endocrine cells in the digestive tract. The results showed that Gas cells located in the cardia, pylorus and small intestine, with the highest density in the duodenum, followed by the cardia. Glu cells were mainly in the pylorus and the anterior small intestine, the back of the small intestine occasionally, and the pylorus's distribution of density was significantly higher than any other parts. PP cells were detected in the pylorus, duodenum and ileum, with the largest distribution in the duodenum. SP cells were only found in the pylorus. The four kinds of endocrine cells were mainly in the shape of round and cone-shaped, which widely lay between epithelial cells, between glandular epithelial cells and at the bottom of epithelia. The characters of the distribution of the endocrine cells might be related to the feeding habits, the food composition and the living environment.

**Key words:** *Lacerta vivipara*; digestive tract; endocrine cells; Immunohistochemistry

**基金项目:**哈尔滨师范大学科技发展预研项目“极北鲑发育形态学和免疫组织化学研究”(09XYG-08);国家自然科学基金资助项目“胎生蜥蜴生活史特征的地理变异和对寒冷气候适应性的研究”(31172079)。

**第一作者简介:**吴昊,女,1987年出生,黑龙江哈尔滨人,在读研究生。通信地址:150025 黑龙江省哈尔滨市松北区师大南路1号 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院 2010级生物科学专业。Tel: 0451-88060576, E-mail: wuhao650515@163.com。

**通讯作者:**李淑兰,女,1963年出生,黑龙江桦南人,教授,硕士,研究方向:动物生理学。通信地址:150025 黑龙江省哈尔滨市松北区师大南路1号 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, Tel: 0451-88060576, E-mail: shulanli2002@yahoo.com.cn。

**收稿日期:**2012-02-27, **修回日期:**2012-06-13。

## 0 引言

为探索胎生蜥蜴消化道内分泌细胞分布型及与其他动物的异同,丰富消化道比较内分泌学资料,许多学者对脊椎动物消化道内分泌细胞进行过研究<sup>[1-2]</sup>,早在1957年,王文超<sup>[3]</sup>就对小鼠大鼠消化管嗜银细胞进行研究;之后杨贵波等<sup>[4]</sup>应用PAP法对大熊猫、陈磊等<sup>[5]</sup>用SP法对狼和家犬,李淑兰等<sup>[6]</sup>用ABC法对黑龙江林蛙冬眠期前后消化道内分泌细胞进行了研究;吴孝兵<sup>[7]</sup>对扬子鳄等爬行动物消化道内分泌细胞做了大量研究。根据目前研究来看,关于人类和哺乳类消化道内分泌细胞报道较多<sup>[8-9]</sup>,共发现了30几种内分泌细胞<sup>[10]</sup>。对于爬行类动物消化道内分泌细胞许多学者也进行了大量研究<sup>[11-16]</sup>,但分布型差异较大。胎生蜥蜴(*Lacerta vivipara*)是陆生脊椎动物,繁殖方式为卵胎生。对其消化道内分泌细胞的研究仅见于5-羟色胺和生长抑素<sup>[17-18]</sup>。本研究就其消化道其他4种内分泌细胞进行定位,为脊椎动物消化生理学的研究提供形态学基础,同时为胎生蜥蜴的人工繁殖提供基础资料。

## 1 实验材料和方法

### 1.1 实验动物

胎生蜥蜴的采集以及消化道各段的固定、包埋和贴片等同李淑兰等<sup>[17]</sup>发表的胎生蜥蜴消化道5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的研究。

### 1.2 主要试剂

4种兔抗人多克隆抗体(详见表1)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。

### 1.3 实验方法

采用免疫组织化学ABC法,具体实验步骤同李淑兰等<sup>[24]</sup>发表的丽斑麻蜥消化道内分泌细胞的免疫组织

化学研究。

### 1.4 细胞观察与数据统计

4种内分泌细胞的观察、计数以及拍照同李淑兰等<sup>[25]</sup>发表的白条草蜥消化道内分泌细胞的免疫组织化学。

表1 所用4种胃肠激素抗血清一览表

所用激素抗血清	产品代号	稀释倍数	来源
胃泌素	ZA-0115	1:100	
胰高血糖素	ZA-0119	1:100	北京中山
P-物质	ZA-0235	1:130	生物技术有限公司
胰多肽	ZA-0211	1:80	

## 2 结果与分析

### 2.1 消化道4种内分泌细胞的组织学分布

胎生蜥蜴消化道的胃泌素(Gas)细胞、胰高血糖素(Glu)细胞、胰多肽(PP)细胞以及P-物质(SP)细胞形态多样,分布位置不同,对照实验呈阴性反应,具体形态及分布位置,见表2,图1。

### 2.2 消化道4种内分泌细胞的分布密度

4种内分泌细胞在胎生蜥蜴的消化道中不仅形态和分布位置不同,而分布密度也有差异。具体见表3。

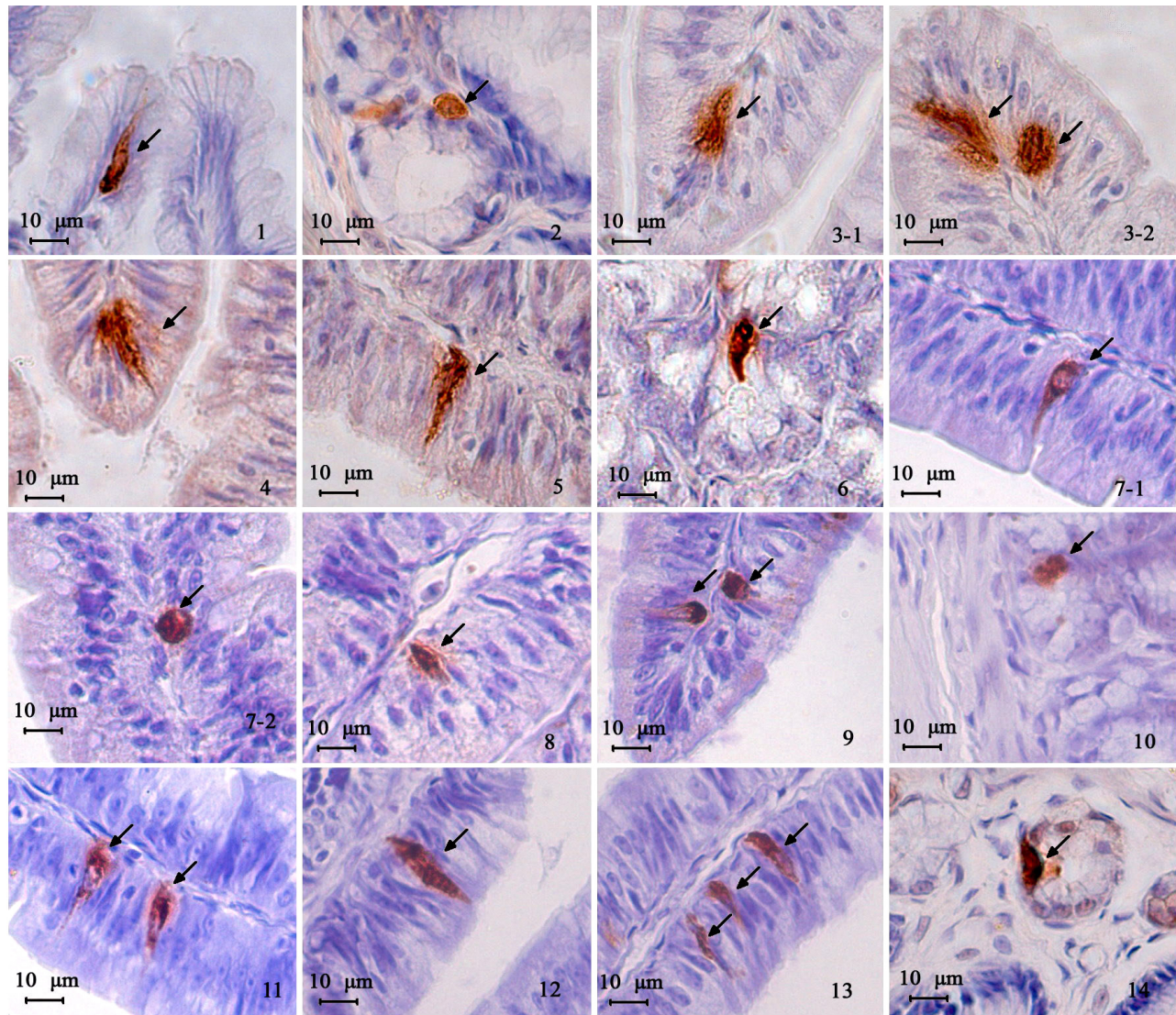
## 3 结论

(1)胎生蜥蜴消化道内分泌细胞与其他爬行动物相比,既有共性又有种间差异;(2)关于消化道内分泌细胞的形态,与其他动物相比没有明显的不同,但分布型有差异,尤其是Glu细胞在胎生蜥蜴消化道中的分布更为广泛,且幽门部是分布密度高峰,这和以前爬行动物研究结果不同;(3)关于胎生蜥蜴消化道各种内分泌细胞分泌激素的作用机理还有待于进一步研究。

表2 消化道4种内分泌细胞的形态与分布位置

	Gas细胞	Glu细胞	PP细胞	SP细胞
贲门	粘膜上皮细胞之间,呈锥体形(1)	—	—	—
幽门	粘膜上皮细胞之间,呈圆形(2)	腺泡上皮细胞之间,呈锥体形(6)	腺泡上皮细胞之间,两个圆形PP细胞彼此相贴(10)	腺泡上皮细胞之间,呈三角形(14)
十二指肠	肠上皮细胞之间,呈圆形和锥体形(3-1, 3-2)	肠上皮细胞之间,呈圆形和锥体形(7-1, 7-2)	肠上皮细胞之间,呈锥体形(11)	—
空肠	肠上皮细胞之间,锥体形(4)	肠上皮细胞之间,呈梭形(8)	—	—
回肠	同空肠(5)	肠上皮细胞之间,呈圆形和锥体形(9)	肠上皮细胞之间,呈梭形、锥体形(12, 13)	—





1: 贲门黏膜上皮之间的Gas细胞; 2: 幽门腺泡上皮之间的Gas细胞; 3-1: 十二指肠肠黏膜上皮之间Gas细胞; 3-2: 十二指肠肠上皮基部的Gas细胞; 4: 空肠上皮之间的Gas细胞; 5: 回肠上皮之间Gas细胞; 6: 幽门腺泡上皮之间的Glu细胞; 7-1: 十二指肠肠上皮之间的Glu细胞; 7-2: 十二指肠肠上皮基部的Glu细胞; 8: 空肠上皮之间的Glu细胞; 9: 回肠上皮之间的Glu细胞; 10: 幽门腺泡上皮之间的PP细胞; 11: 十二指肠肠上皮之间的PP细胞; 12: 回肠肠上皮之间的PP细胞; 13: 回肠肠上皮之间的PP细胞; 14: 幽门腺泡细胞之间的SP细胞

图1 胎生蜥蜴消化道4种内分泌细胞的分布

表3 消化道4种内分泌细胞的分布密度

	Gas细胞	Glu细胞	PP细胞	SP细胞
食管	0	0	0	0
贲门	3.00±1.15b	0	0	0
胃体	0	0	0	0
幽门	0.90±0.57c	7.00±2.58a	2.00±1.33b	2.60±0.86
十二指肠	4.10±1.97a	1.70±0.67b	3.00±1.49a	0
空肠	1.90±0.88c	0.90±0.32b	0	0
回肠	2.10±1.56c	0.50±0.53b	2.00±0.94b	0
直肠	0	0	0	0

注: 在同列数据中上角标字母相同的表示差异不显著; 不同的表示差异显著( $P < 0.05$ )。

#### 4 讨论

Gas细胞在爬行动物消化道中分布范围及密度有所不同,如密河鳄(*Alligator mississippiensis*)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<sup>[14,19]</sup>。宽吻凯门鳄(*Caiman latirostris*)主要分布于胃幽门部和小肠前段<sup>[20]</sup>,扬子鳄(*Alligator sinensis*)主要分布于十二指肠,空肠、回肠和直肠中偶见<sup>[7]</sup>,石龙子(*Scincida*)的幽门部和多疣壁虎(*Gekko japonicus*)的十二指肠均有Gas细胞分布<sup>[21]</sup>,而竹叶青蛇(*Trimeresurus stejnegeri*)的整个消化道中均未检测出Gas细胞<sup>[22]</sup>。在胎生蜥蜴消化道中,在幽门部和小肠处观察到了Gas细胞,这与密河鳄、金氏胎生蜥相同而与扬子鳄、竹叶青蛇等不同。胎生蜥蜴主要以昆虫纲动物为食,其次为蛛形纲动物<sup>[7]</sup>,它总是将食物囫囵吞下,对胃肠黏膜会有较大磨损,Gas细胞分泌的胃泌素能刺激胃酸和胃蛋白酶原的分泌,营养胃黏膜,增强胃窦收缩。

Glu细胞在爬行动物消化道中分布差异较大,在铜蜥(*Chalcides chalcides*)和马达加斯加蜥蜴(*Zoonosaurus madascariensis*)消化道中,Glu细胞仅偶见于肠上皮细胞中<sup>[15]</sup>。扬子鳄和金氏胎生蜥蜴消化道中均未检出Glu细胞<sup>[7]</sup>,Masini<sup>[23]</sup>在对蛇小肠的研究中,也未发现Glu细胞的存在。在草蜥中Glu细胞仅在胃幽门部有分布。而在胎生蜥蜴的幽门部、十二指肠、空肠和回肠中均有Glu细胞分布,和以上所研究的爬行动物相比,Glu细胞在胎生蜥蜴消化道中的分布更为广泛,且幽门部是分布密度高峰。

PP细胞在不同动物消化道中分布不同,如在扬子鳄和竹叶青蛇的消化道中没有检测到<sup>[19,21]</sup>,PP细胞在狼的消化道中只在空肠、结肠和直肠中有分布,且空肠分布密度最高<sup>[5]</sup>;在家犬中PP细胞只在胃贲门部、胃体、胃幽门部有分布,密度分布高峰在胃贲门部<sup>[5]</sup>。白条草蜥也只在小肠中有分布,并且十二指肠是密度分布高峰<sup>[23]</sup>。而胎生蜥蜴消化道中的PP细胞的分布范围以及密度分布高峰与以上所研究的动物都不相同。即十二指肠分布密度最高,且仅在幽门、十二指肠和回肠中有分布。

SP细胞在爬行动物消化道中存在的报道较少。白条草蜥仅在幽门部有分布<sup>[24]</sup>,在多疣壁虎消化道中SP细胞仅存在于胃中各段<sup>[22]</sup>。而在扬子鳄、竹叶青蛇、草蜥及丽斑麻蜥(*Eremias argus*)中均未检测到SP细胞的分布<sup>[7,22,24-25]</sup>。在蓝斑蜥蜴(*Timon Lepidus*)中SP

细胞仅见于胃贲门部和胃体<sup>[16]</sup>,而在胎生蜥蜴消化道中只在幽门部检测到SP细胞,这与白条草蜥的研究结果一致。

综上,胎生蜥蜴消化道中胃泌素细胞、胰高血糖素细胞、胰多肽细胞以及P-物质细胞的形态、分布位置以及密度分布高峰与其他爬行动物相比既有共性又有差异性,这种共性与差异性的原因还有待于进一步研究。

#### 参考文献

- [1] Fujita T K. Structure and function of gut endocrine cells[J].Int Rev Cytol Sap,1997,6:187.
- [2] 张胜周,张帅,刘婷婷,等.中华蟾蜍消化道内分泌细胞的分布与形态[J].解剖学杂志,2008,31(4):519-521.
- [3] 王文超.小鼠、大鼠消化管嗜银细胞的初步观察[J].解剖学报,1957(2):153-165.
- [4] 杨贵波,陈茂生,邓泽沛,等.大熊猫胃肠道内分泌细胞分布型研究[J].兽类学报,199515(1):4-10.
- [5] 陈磊,张洪海.狼和家犬消化道内分泌细胞免疫组织化学研究[J].解剖学报,2008,39(3):413-419.
- [6] 李淑兰,刘超,吕晓慧,等.黑龙江林蛙冬眠和非冬眠消化道内分泌细胞的比较研究[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(3):245-251.
- [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] 陈娟,葛振华,周凡,等.人和大鼠胃窦部神经内分泌细胞分布和形态学的比较研究[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2006,15(3):276-279.
- [9] 李丽霞,胡佳.棕色田鼠胃肠道5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位[J].四川动物,2008,27(4):639-641.
- [10] Rehfeld J F. A centenary of gastrointestinal endocrinology[J].Horm Metab Res,2004,36(11-12):735-741.
- [11] 邓振旭,楚德昌.3种爬行动物消化道嗜银细胞的分布密度和形态学观察[J].动物学杂志,2006,41(5):107-111.
- [12] 张志强,吴孝兵.赤链蛇消化道52羟色胺细胞的免疫组织化学定位[J].四川动物,2007,26(2):294-296.
- [13] El-Salhy M, Grimelius L. The endocrine cells of the gastrointestinalmucosa of a squamate reptile,the grass lizard (*Mabuyaquiquetaeniata*) A histological and immunohistochemical study[J].Biomedical Research,1981,2(6):639-658.
- [14] Arena P C, Richardson K C, Yamada J. An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the king's skink (*Egernia kingii*)[J].J.Anat,1990(170):73-85.
- [15] Morescalchi A M, Gaccioli M, Araldi G F, et al. The gastro-enteric-pancreatic neuroendocrine system in two reptilian specise:*Chalcides chalcides* and *Zoonosaurus madascariensis* (*S. auridae*)[J].Eru.J.Histochem,1997,41(1):29-40.
- [16] Perez-Tomas R, Ballesta J, Pastor L M, et al. Comparative

- immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles[J].Gen.Comp.Endocrinology,1989,76(2):171-191.
- [17] 李淑兰,赵文阁,冷超,等.胎生蜥蜴(*Lacerta vivipara*)消化道5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的研究[J].中国比较医学杂志,2005,15(6):356-359.
- [18] 刘志涛,李淑兰,高欣,等.胎生蜥蜴(*Lacerta vivipara*)消化道生长抑素免疫活性内分泌细胞的研究[J].中国农学通报,2011,27(21):225-228.
- [19] Buchan A M J, Lance V, Polak J M. Regulatory peptides in thegastrointestinal tract of Alligator mississippiensis[J].Cell Tissu Res,1983,231:439-449.
- [20] Yamada J, Campos V J M, Kitamura N, et al. An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the Caiman latirostris[J].Archives of Listology Japan,1987,50:229-241.
- [21] 黄徐根,吴孝兵,张志强,等.两种爬行动物胃肠道内分泌细胞的免疫组织化学比较研究[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2003,12(4):433-440.
- [22] 张志强,张盛周,吴孝兵.竹叶青蛇消化道内分泌细胞的免疫组织化学定位[J].动物学报,2001,47(6):666-671.
- [23] Masini M A. Immunohistochemical localization of gut peptides in the small intestinal of snakes[J].Bas.Appl.Histochem,1986(30):317-324.
- [24] 李淑兰,于永忠,高欣,等.白条草蜥消化道内分泌细胞的免疫组织化学[J].动物学杂志,2008,43(2):43-50.
- [25] 李淑兰,高欣,王森,等.丽斑麻蜥消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究[J].解剖学报,2008,39(5):752-755.