

锯缘青蟹消化系统 5-羟色胺免疫组织化学的研究

黄辉洋, 李少菁, 王桂忠, 叶海辉

(厦门大学海洋学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 应用免疫组织化学方法对锯缘青蟹消化系统的 5-HT 分泌细胞的形态和分布进行了观察。结果表明: 5-HT 阳性细胞形态多样, 多数为卵圆形, 少数为柱形, 多边形或具有较长的胞突。消化道各段均有 5-HT 阳性细胞, 中肠密度最高, 食道次之, 贲门胃、幽门胃和后肠较低。5-HT 阳性细胞多数位于固有膜和粘膜下层, 少数散布于肌层。肝胰腺也具有 5-HT 阳性细胞。

关键词: 锯缘青蟹; 消化系统; 5-HT; 免疫组织化学

中图分类号: Q 952

文献标识码: A

5-羟色胺(5-HT)是一种重要的生物活性物质,对甲壳动物的行为、生殖、蜕皮、消化吸收和代谢起着重要的调节作用^[1]。5-HT在甲壳动物神经系统的定位分布已有一些报道^[2-4],但未见在消化系统的研究。本文报道了海洋经济蟹类锯缘青蟹(*Scylla serrata*)消化系统中 5-HT 免疫阳性细胞的分布,以丰富甲壳动物内分泌学的资料,同时为消化生理学提供形态学基础。

1 材料和方法

1.1 材料

锯缘青蟹 20 只(雌性 9 只,雄性 11 只),背甲长 4.3~8.8 cm,体重 53~400 g。低温麻醉后迅速解剖出肝胰腺、食道、贲门胃、幽门胃、中肠和后肠。PBS 配制的 Bouin 改良液固定 12~16 h(4℃),乙醇脱水,石蜡包埋,切片 6 μm,37℃ 恒温箱干燥备用。兔抗 5-HT 抗体、链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶(Streptavidin peroxidase)免疫组织化学试剂盒均购自美国 Zymed 公司。

1.2 免疫组织化学方法

常规石蜡切片脱蜡至水,3% H₂O₂ 甲醇溶液室温孵育 10 min,以消除内源性过氧化物酶的活性。蒸馏水浸洗, PBS 浸泡 5 min,滴加正常山羊血清(1:10)室温孵育 10 min,封闭非特异

收稿日期: 2000-12-06

基金项目: 福建省重中之重“福建省海洋生物优良种质和生物活性物质的应用基础研究”资助项目

作者简介: 黄辉洋(1973-),女,博士

性反应部位 倾去血清,滴加兔抗 5-HT 抗体(工作浓度 1 : 50), 37 ℃ 孵育 1. 5 h, PBS 浸洗 3 次, 各 5 m in. 滴加即用型生物素标记的羊抗兔抗体, 37 ℃ 孵育 0. 5 h, PBS 浸洗 3 次, 各 5 m in. 滴加即用型链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶, 37 ℃ 孵育 0. 5 h, PBS 浸洗 3 次, 各 5 m in. DAB-H₂O₂ 显色, 自来水冲洗, 苏木精复染, 脱水封片. 对照组用正常羊血清或 PBS 代替一抗, 其余步骤同上. OlympusBH-2 型显微镜下观察、拍照, 并对每个部位的切片随机取 100 个 400 倍视野计数, 取平均值 $\bar{X} \pm SD$, 表示 5-HT 阳性细胞的分布密度

2 结 果

5-HT 免疫阳性细胞呈棕褐色, 细胞质中有许多黑褐色的阳性反应物质, 对照组均为阴性. 5-HT 阳性细胞直径 6~ 10 μm, 数量多, 形态多样, 以卵圆形为主. 阳性细胞广泛分布于消化系统各部分.

2.1 密度分布

5-HT 免疫阳性细胞的密度(细胞数/400 倍视野)分别为: 食道, 7. 8 ± 5. 6; 贲门胃, 3. 3 ± 4. 1; 幽门胃, 4. 0 ± 3. 0; 中肠, 20. 0 ± 38. 9; 后肠, 4. 1 ± 3. 6; 肝胰腺, 4. 8 ± 5. 1. 如图 1 所示

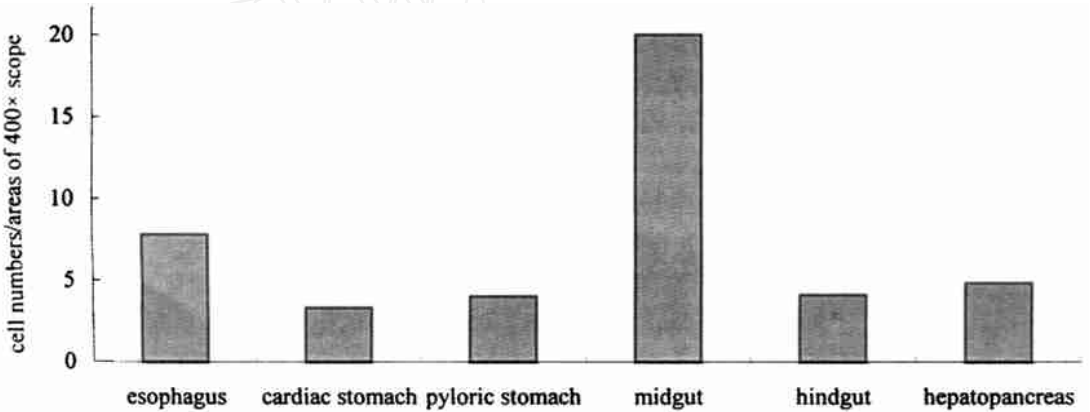


图 1 锯缘青蟹消化系统 5-HT 细胞的分布密度

Fig 1 The distribution density of 5-HT immunoreactive cells in the digestive system of *Scylla serrata*

2.2 形态特征

甲壳动物消化道由前肠、中肠和后肠组成. 除中肠外, 消化道各段内壁都有一层角质膜. 短尾类的前肠发达, 分化为肌肉发达的食道和膨大的胃(前部为贲门胃, 后部为幽门胃). 食道中, 阳性细胞多数位于粘膜下层, 少数位于固有膜和肌层之间. 阳性细胞呈卵圆形或柱形(图版 I: 1, 2). 贲门胃和幽门胃阳性细胞相对较少, 散布于粘膜上皮基部和粘膜下层, 细胞形态差异较大, 有卵圆形、长颈瓶形等, 部分细胞呈多边形, 具有胞突, 与神经细胞相似(图版 I: 3). 中肠阳性细胞多数卵圆形, 位于粘膜上皮基部和粘膜下层, 有时密集, 一个 400 倍视野可见 130 个左右的阳性细胞(图版 I: 4). 后肠皱襞分布有形态多样的阳性细胞, 少数细胞具有较长的突起, 伸向相邻细胞(图版 I: 5). 肝胰腺的阳性细胞以椭圆形为主, 零散分布于肝胰小管之间或紧贴于肝胰小管外壁(图版 I: 6).

3 讨 论

有关脊椎动物的研究工作表明: 5-HT 能刺激胃肠粘液分泌、平滑肌收缩和血管舒张, 对消化功能有很强的调节作用^[5]。锯缘青蟹食道 5-HT 阳性细胞多数位于粘膜下层, 肌层也有不少阳性细胞, 可能与感受进食的机械压力有关。贲门胃和幽门胃的阳性细胞形态多样, 暗示 5-HT 细胞兼具其它分泌功能。中肠和后肠的阳性细胞主要位于固有膜和粘膜下层, 可能与感受局部组织内环境有关^[6]。锯缘青蟹消化道 5-HT 阳性细胞密度分布呈高低变动的波浪形, 即食道和中肠阳性细胞密度高, 胃与后肠密度低。这种变化或许与食道较早感受进食, 中肠较先感受肠腔化学刺激有关。甲壳动物肝胰腺具有分泌酶液、贮藏养料、排除毒物等多种功能。本实验发现肝胰腺内广泛存在 5-HT 阳性细胞, 说明肝胰腺兼具外分泌和内分泌的作用, 加深了对甲壳动物肝胰腺功能的认识。

脊椎动物的胃肠道具有闭合型和开放型二种内分泌细胞^[7]。本实验未见开放型内分泌细胞, 这可能与锯缘青蟹消化道内壁衬有角质膜, 粘膜上皮没有直接接触消化道的内容物有关。锯缘青蟹消化系统的 5-HT 阳性细胞为闭合型内分泌细胞: 多数呈圆形或卵圆形, 无胞突, 与消化腔无直接联系; 有些细胞胞突明显, 伸向邻近细胞, 可能具有旁分泌作用; 少数细胞呈多边形, 有胞突, 类似神经细胞, 为 Pearse 弥散神经内分泌系统 (Diffuse Neuroendocrine System, DNES) 学说^[8]提供了佐证。

参考文献:

- [1] Fingeman M, Nagabhushanam R, Sarojini R, et al. Biogenic amines in crustaceans: identification, location and roles[J]. *Jour. Crustacean Biol.*, 1994, 14(3): 413- 437.
- [2] Ebfsson R. 5-HT-like immunoreactivity in the central nervous system of the crayfish, *Pacifastacus leniusculus*[J]. *Cell and Tissue Res.*, 1983, 12: 531- 536.
- [3] Ebfsson R. Monoaminergic and peptidergic neurons in the nervous system of *Hutchinsoniella acracantha* [J]. *Jour. Crustacean Biol.*, 1992, 12: 531- 536.
- [4] Johansson KU. Identification of different types of serotonin-like immunoreactive olfactory interneurons in four infraorders of decapod crustaceans[J]. *Cell and Tissue Res.*, 1991, 264: 357- 362.
- [5] Solcia E, Capella C, Vassallo G, Buffa R. Endocrine cells of the gastric mucosa[J]. *Int. Rev. Cytol.*, 1975, 42: 223- 286.
- [6] Rombault J.M. Pancreatic endocrine cells of *Barbus conchoniuis* (Teleostei, Cyprinidae) and their relation to the enteroendocrine cells[J]. *Cell and Tissue Res.*, 1979, 203: 9- 23.
- [7] 王志均. 胃肠激素[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [8] 何泽涌主编. 组织学与胚胎学进展(第一版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 130- 151.

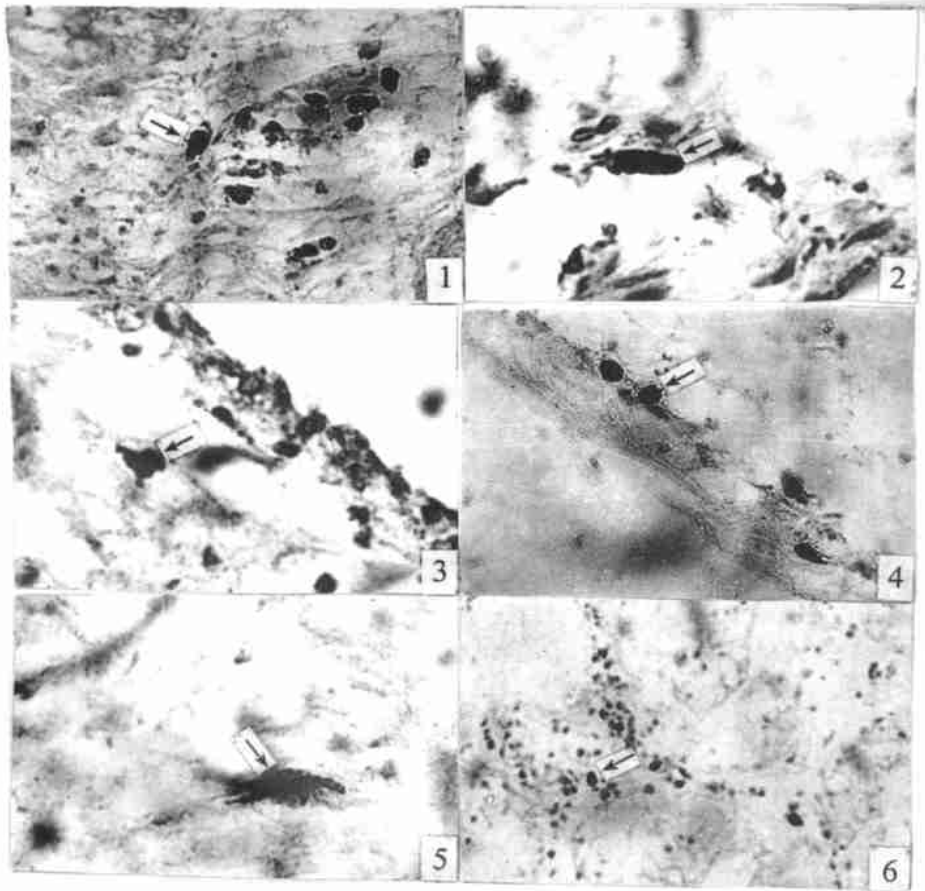
Immunohistochemical Study of Serotonin in the Digestive System of *Scylla serrata*

HUANG Hui-yang, LI Shao-jing, WANG Gui-zhong, YE Hai-hui
(Oceanog. Dept., Xiamen Univ., Xiamen 361005, China)

Abstract: The morphology and distribution of serotonin (5-HT) immunoreactivity in the

digestive system of *Scylla serrata* were investigated. 5-HT-immunoreactive cells had various forms: the majority were oval, while the minority were columnar, irregular in shape, or having long processes. 5-HT-immunoreactive cells were distributed throughout the digestive tract, with the highest density in the midgut, the second in the esophagus, and a low density in the stomach and hindgut. Most of the 5-HT-immunoreactive cells located in the mucosa and the submucosa, and some widespread in the muscular layer. 5-HT-immunoreactive cells also occurred in the hepatopancreas.

Key words *Scylla serrata*; digestive system; serotonin; immunohistochemistry



图版说明 (Plate illustration):

- I: 1 食道粘膜下层, 示卵圆形 5-HT 阳性反应细胞(箭头), 330 ×
- I: 2 食道粘膜下层, 示柱形 5-HT 阳性反应细胞(箭头), 670 ×
- I: 3 贛门胃粘膜下层, 示多边形 5-HT 阳性反应细胞(箭头), 670 ×
- I: 4 中肠粘膜上皮基部, 示卵圆形 5-HT 阳性反应细胞(箭头), 330 ×
- I: 5 后肠肌层中, 示具有长胞突的 5-HT 阳性反应细胞(箭头), 670 ×
- I: 6 肝胰小管之间, 示卵圆形 5-HT 阳性反应细胞(箭头), 330 ×