

十三种神经递质和神经肽在参环毛蚓神经系统的分布：免疫细胞化学研究*

罗振国** 赵越 韩庆国 张小云

(深圳大学生物工程系, 广东深圳 518060) (广东药学院药学系, 广州 510224)

摘要 选择生活在我国的环节动物门典型代表参环毛蚓 (*Pheretima aspergillum*) 为研究对象, 使用 13 种抗体, 运用免疫细胞化学染色技术, 在光学显微镜下观察神经递质和神经肽阳性细胞的形态与分布。研究发现在参环毛蚓脑, ACTH 阳性神经细胞、AVP 阳性神经细胞、calcitonin 阳性神经细胞、CCK 阳性神经细胞、glutamate 阳性神经细胞和 NPY 阳性神经细胞染色浓重, 分布密集, 位于脑的后侧半, 尤其特别的是在 calcitonin 阳性大神经细胞内含有粗大密集的分泌颗粒。-EP 阳性神经细胞染色较淡, OT 阳性神经细胞染色也较深, 但分布稀疏, calbindin-D、CGRP、GABA、SOM、VIP 呈阴性反应; 在咽下神经节与腹神经节, 仅有少量 AVP 阳性神经细胞、glutamate 阳性神经细胞和 NPY 阳性神经细胞散在分布; 在肠神经系统, -EP 阳性神经细胞、CGRP 阳性神经细胞、SOM 阳性神经细胞、VIP 阳性神经细胞染色较深, 分布散在; 另外, 在肠上皮, CGRP 阳性上皮细胞、calcitonin 上皮细胞和 VIP 阳性上皮细胞呈强阳性反应, 分布于阴性上皮细胞之间。结果表明参环毛蚓神经系统存在着在其它环节动物所观察到的神经递质和神经肽: ACTH、VIP、-endorphin、CCK、NPY、CGRP, 亦存在着文献从未报道过的神经递质和神经肽: calcitonin、AVP、OT、glutamate、SOM, 其中 calcitonin、CGRP、VIP 双重分布于神经细胞和非神经组织的肠上皮细胞, 本文首次提供了形态学的证据。

关键词 参环毛蚓 神经递质 免疫细胞化学

哺乳动物神经系统中存在着约 40~50 余种神经化学物质如肽类和氨基酸递质 (Adelman, 1987)。随着进化程度的降低, 无脊椎动物神经系统存在的这些神经递质和神经肽的种类显著减少, 据目前文献报道, 在环节动物的神经系统存在约 10 余种, 它们是血管活性肠肽 (vasoactive intestinal polypeptide, VIP) (Sundler *et al.*, 1977)、促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotropin hormone, ACTH)、P 物质 (substance P, SP) (Aros *et al.*, 1980)、脑啡肽 (enkephalin)、-内啡肽 (-endorphin) (Alumets *et al.*, 1979)、促肾上腺皮质激素释放因子 (corticotrophin releasing factor, CRF) (Remy *et al.*, 1982)、胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK) (Lkhider *et al.*, 1987)、神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY)、降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP)、5-羟色胺 (serotonin, 5-HT) (Csoknya *et al.*, 1992) 和胃泌素 (gastrin, GS) (Reglodi, *et al.*, 1999)。鉴于缺

乏生活在我国的特有动物的研究资料, 本文就以上神经递质和神经肽是否存在于中国参环毛蚓, 是否有新的神经递质和神经肽存在, 进行了研究, 期为低等动物神经科学的研究提供基础研究资料。

1 材料和方法

1.1 动物饲养及处理

取健康成体参环毛蚓 40 条, 避光潮湿饲养。饲以纸浆、琼脂, 排空泥沙, 酒精麻醉, 取材固定于含 4% 多聚甲醛的 0.01 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 6 h, 后入含 30% 蔗糖 0.01 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 脱水至下沉。标本经 OCT (美国) 包埋, 液氮冷冻, 依头尾方向经 Leica 1100 恒冷切片机冷冻连续切片 (-20℃), 片厚 20 μm。

1.2 免疫组织化学染色

免疫细胞化学染色: 切片经 0.01 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 漂洗, 3% H₂O₂ 处理 30 min, 3% 正常猪血清封闭 30 min, 兔抗 IgG: ACTH 抗

2001-02-19 收稿, 2001-10-30 修回

* 国家自然科学基金项目 (No. 39770383)

** 通讯作者 E-mail: lqlzg@yahoo.com.cn

第一作者简介 罗振国, 男, 50 岁, 博士, 教授。研究方向: 神经生物学。

体 (Sigma, USA) 1 3 000、精氨酸血管加压素 (AVP) 抗体 (arginine vasopressin, Sigma, USA) 1 3 000、CCK 抗体 (Sigma, USA) 1 3 000、降钙素抗体 (calcitonin, Sigma, USA) 1 3 000、钙结合蛋白抗体 (calbindin D-28-K, Sigma, USA) 1 3 000、CGRP 抗体 (Sigma, USA) 1 3 000、-内啡肽 (-EP) 抗体 (Sigma, USA) 1 3 000、谷氨酸抗体 (glutamate, Sigma, USA) 1 3 000、-氨基丁酸 (GABA) 抗体 (-amino butyric acid IgG, Sigma, USA) 1 3 000、NPY 抗体 (Sigma, USA) 1 3 000、催产素 (OT) 抗体 (oxytocin, Sigma, USA) 1 3 000、生长抑素 (SOM) 抗体 (somatostatin, Sigma, USA) 1 3 000 和 VIP 抗体 (Sigma, USA) 1 3 000 在 4 孵育 12 h, 生物素化的猪抗兔 IgG (biotinylated swine anti-rabbit IgG, Dako) 1 200 在 37 孵育 120 min, 链霉素和素抗生物素-辣根过氧化物酶复合体 (streptavidin/HRP, Dako) 1 200 在 37 孵育 60 min, DAB 显色, 1%酒精-苏木素衬染。

对照实验: 以正常兔血清和 PBS 代替一抗分别行替换对照和空白对照, 同步进行上述免疫组织化学染色, 结果为阴性。

1.3 形态学测量

用装有目镜网格的显微镜, 10 × 10 放大倍数下, 分别计数抗体反应切片的脑、咽下神经节、腹神经节和肠的阳性细胞, 每种抗体每个部位观察计数 50 个视野。

2 结果

在参环毛蚓脑, AVP 阳性神经细胞 (图版 : 1)、ACTH 阳性神经细胞 (图版 : 2)、CCK 阳性神经细胞 (图版 : 3)、降钙素阳性神经细胞 (图版 : 4a)、谷氨酸阳性神经细胞 (图版 : 5)、NPY 阳性神经细胞, 染色浓重, 分布密集, 位于脑的后侧半 (图版 : 6), 尤其特别的是在降钙素阳性大神经细胞内含有粗大密集的分泌颗粒 (图版 : 4b)。-EP 阳性神经细胞染色较淡 (图版 : 5), OT 阳性神经细胞染色也较深, 但分布稀疏 (图版 : 7), calbindin-D、GABA、SOM、VIP、呈阴性反应; 在咽下神经节与腹神经节, 仅有少量 AVP 阳性神经细胞 (图版 : 8)、glutamate 阳性神经细胞 (图版 : 9) 和 NPY 阳性神经细胞散在分布 (图版 : 10); 在肠神经系统, -EP 阳性神经细胞 (图版 : 12)、CGRP 阳性神

经细胞 (图版 : 11), SOM 阳性神经细胞 (图版 : 14) 和 VIP 阳性神经细胞 (图版 : 15), 染色较深, 分布散在; 在肠上皮, CGRP 阳性上皮细胞 (图版 : 11)、calcitonin 上皮细胞 (图版 : 13) 和 VIP 阳性上皮细胞 (图版 : 15)、呈强阳性反应, 分布于阴性上皮细胞之间。

3 讨论

3.1 环节动物神经化学神经细胞的种类、分布特点

哺乳动物的脑神经细胞是以功能性核团的形式存在, 某个核团以一种或数种神经化学神经细胞为主。严格来说, 环节动物并不具备真正的脑, 它所谓的脑不过是个神经节而已, 它的脑不存在有功能性核团, 神经化学神经细胞的分布较为弥散, 各种神经化学神经细胞的分布没有显著的区域性。然而, 环节动物的脑神经节在神经化学神经细胞的种类、分布方面远较哺乳动物的神经节复杂。这是因为环节动物的脑神经节某种程度上还起脑的作用, 指挥整体的活动。若将鼠神经节与环节动物的脑神经节作一比较, 可以看出环节动物的脑神经节含有种类较丰富的神经化学神经细胞。若就神经化学神经细胞的形态进行比较, 鼠的下丘脑分泌神经细胞分为两类, 一类为小细胞分泌神经细胞 (parvocellular neuroendocrine cells), 呈锥形或三角形, 体积较小, 具有典型的鹰眼核样; 另一类为大细胞分泌神经细胞 (magnocellular neuroendocrine cells), 呈圆形或卵圆形, 体积肥大, 核大而偏位, 核仁清楚。此类神经细胞主要分布在下丘脑室旁核、视上核, 其纤维投射到神经垂体, 释放调节性神经递质和神经肽入血循环。环节动物的某些递质能神经细胞形态上与大细胞分泌神经细胞类似, 也呈卵圆形, 体积较大, 在 calcitonin 阳性大神经细胞内含有粗大密集的分泌颗粒。因此这些大神经细胞极可能还是分泌性神经细胞。

在高等动物中, 约有 10 多种神经递质和神经肽既存在于胃肠道又存在于脑 (张殿明等, 1991), 在环节动物参环毛蚓, 此类脑肠双重分布的仅有降钙素、谷氨酸和血管活性肠肽, 前两者不包括在高等动物的神经递质和神经肽种类内, 表明脑、肠双重分布的神经递质和神经肽的进化经历了复杂的过程, 在低等动物脑肠共存的神经递质和神经肽, 随着机体结构与功能的改变而消亡, 新的脑肠神经递质和神经肽应新的结构与功能的要求而不断产生,

表 1 13 种神经递质和神经肽免疫反应阳性细胞在参环毛蚓神经系统中的分布

Table 1 Distribution of 13 neurochemically positive cells in the nervous system of the earthworm (Pheretima aspergillum)

抗体 Antibody	脑 Brain		咽下神经节 Subpharyngeal ganglion		腹神经节 Ventral ganglion		肠神经系统 Enteric nervous system		肠上皮细胞 Enteric epithelial cells	
	强度	细胞数/视野	强度	细胞数/视野	强度	细胞数/视野	强度	细胞数/视野	强度	细胞数/视野
	(Intensity)	(Cell number /field)	(Intensity)	(Cell number /field)	(Intensity)	(Cell number /field)	(Intensity)	(Cell number /field)	(Intensity)	(Cell number /field)
促肾上腺皮质激素 (ACTH)	+++	160.35 ±3.54	-	-	-	-	-	-	-	-
精氨酸血管加压素 (AVP)	+++	50.12 ±2.26	+++	20.02 ±3.05	+++	6.04 ±0.9	-	-	-	-
降钙素 (Calcitonin)	++	130.82 ±5.39	-	-	-	-	-	-	+++	67.09 ±5.72
钙结合蛋白 (Calbindin-D)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
胆囊收缩素 (CCK)	+++	113.47 ±1.75	-	-	-	-	-	-	-	-
降钙素基因相关肽 (CGRP)	-	-	-	-	-	-	+++	30.05 ±3.44	+++	33.93 ±4.58
-内啡肽 (-EP)	+	58.42 ±4.31	-	-	-	-	+++	28.56 ±4.02	-	-
谷氨酸 (Glutamate)	+++	49.38 ±2.50	+++	16.06 ±1.73	+++	8.63 ±1.84	-	-	-	-
-氨基丁酸 (GABA)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
神经肽 Y (NPY)	+++	140.60 ±7.92	+++	7.17 ±1.39	+++	7.77 ±0.96	-	-	-	-
催产素 (OT)	++	46.37 ±1.98	++	6.15 ±0.98	++	5.03 ±0.47	-	-	-	-
生长抑素 (SOM)	-	-	-	-	-	-	+++	10.09 ±2.01	-	-
血管活性肠肽 (VIP)	-	-	-	-	-	-	+++	14.80 ±3.14	+++	9.87 ±1.90

免疫反应产物相对强度: +++ 深 ++ 中 + 淡 - 阴性 (Relative intensity of immunoreaction: +++ high ++ moderate + low - negative)

若将不同进化阶段的动物脑肠神经递质和神经肽进行比较, 可能会观察到进化的动态过程。

3.2 神经递质和神经肽的功能意义

哺乳动物 AVP、OT 在下丘脑室旁核、视上核合成。AVP 主要调节肾小管对水的重吸收, 还能使血管平滑肌收缩, 血压升高 (王尧等, 1997)。免疫电镜研究发现在神经核团内部存在有 AVP-AVP、OT-OT 阳性突触, 证明在此它们充当神经递质。谷氨酸广泛分布于高等动物中枢神经系统以大脑皮质含量最高, 其次为小脑和纹状体, 再次为延髓和脑桥, 被认为是兴奋性递质。在哺乳动物神经系统, 谷氨酸作用于其受体, 生理意义在于促进兴奋在兴奋性突触的传递, 参与伤害性信息的感受和传递。CCK 广泛分布于高等动物中枢神经系统与周围神经系统, -EP 主要分布在下丘脑, 它们在神经细胞之间充当递质。CGRP 分布脑内与听觉、味觉及体表感觉有关的区域, 与知觉的传递有关。NPY 主要分布于下丘脑、边缘系统及新皮质, 与摄食、血压、心率、呼吸的控制有关。ACTH 主要在下丘脑充当递质。就环节动物而言, 这些化学物质的分布没有显著的区域性, 功能复杂性要低于

哺乳动物, 它们在阳性细胞之间、阳性细胞与阴性细胞之间极可能充当神经递质, 进一步的免疫电镜研究将提供支持性的证据。某些神经递质和神经肽, 如降钙素还可能有旁分泌、内分泌的激素样作用。

肠 CGRP、VIP、calcitonin 阳性上皮细胞的存在提示它们对消化道的功能具有调节作用, 在哺乳动物 CGRP 有强烈的血管扩张作用, VIP 促进胰液、肠液分泌, 推测在参环毛蚓具有类似作用, 降钙素的作用尚待认识。

3.3 结论

本文证实参环毛蚓神经系统存在着其它环节动物所观察到的神经递质和神经肽: 促肾上腺皮质激素 (ACTH)、血管活性肠肽 (VIP)、-内啡肽 (-endorphin)、胆囊收缩素 (CCK)、神经肽 Y (NPY)、降钙素基因相关肽 (CGRP); 亦存在着文献从未报道过的神经递质和神经肽: 降钙素 (calcitonin)、精氨酸血管加压素 (AVP)、催产素 (OT)、谷氨酸 (glutamate)、生长抑素 (SOM); calcitonin、CGRP、VIP 还分布于非神经组织的肠上皮细胞, 本文首次提供了形态学的证据。

参 考 文 献 (References)

- Adelman, G. 1987 Encyclopedia of Neuroscience (supplements). American Boston: Birkhauser. 77~79.
- Alumets, J., R. Hakanson, F. Sundler and J. Thorell 1979 Neuronal localization of immunoreactive enkephalin and beta-endorphin in the earthworm. *Nature*: **279** (5716): 805~806.
- Aros, B., T. B. Wenger and I. Vigh-Teichmann 1980 Immunohistochemical localization of substance P and ACTH-like activity in the central nervous system of the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Acta Histochem.* **66** (2): 262~268.
- Csoknya, M., I. Lengvari, I. Benedeczy and J. Hamori 1992 Immunohistochemical and ultrastructural study of the enteric nervous system of earthworm (*Lumbricus terrestris*). *Acta. Biol. Hung.* **43** (1~4): 241~51.
- Lkhider, M., R. Marcel and G. Tramu 1987 Establishment of a map of neurons in the brain of *Eisenia fetida* (Annelida, Oligochaeta) containing substances immunologically specific to vertebrate peptides. *Gen. Comp. Endocrinol.* **65** (3) 457~68.
- Reglodi, D., A. Lubics, M. Szeli and I. Lengvari 1999 Gastrin- and cholecystikinin-like immunoreactivities in the nervous system of the earthworm. *Peptides* **20** (5): 569~577.
- Remy, C., G. Tramu and M. P. Dubois 1982 Immunohistological demonstration of a CRF-like material in the central nervous system of the annelid *Dendrobaena*. *Cell Tissue Res.* **227** (3): 569~575.
- Sundler, F., R. Hakanson, J. Alumets and B. Walles 1977 Neuronal location of pancreatic polypeptide (PP) and vasoactive intestinal peptide (VIP) immunoreactivity in the earthworm (*Lumbricus terrestris*). *Brain Res. Bull.* **2** (1): 61~5.
- Wang, Y. and Z. W. Du 1997 Neurobiochemistry and Molecular Biology. Beijing: People Sanitation Press, 176~177. [王 尧, 杜子威 1997 神经生物化学与分子生物学. 北京: 人民卫生出版社, 176~207.]
- Zhang, D. M. and L. S. Xu 1991 Neuroendocrinology. Beijing: China Medicine-Drug Science Press, 262~264. [张殿明, 徐隆绍 1991 神经内分泌学. 北京: 中国医药科技出版社, 314~329.]

外 文 摘 要 (Abstract)

LOCALIZATION OF 13 NEUROCHEMICAL SUBSTANCES IN THE NERVOUS SYSTEM OF THE CHINESE EARTHWORM (PHERETIMA ASPERGILLUM) : AN IMMUNOCYTOCHEMICAL STUDY *

LUO Zhen-Guo ** ZHAO Yue HAN Qing-Guo ZHANG Xiao-Yun

(Department of Biotechnology, Shenzhen University, Shenzhen 518060, Guangdong, China)

About 10 neurochemical substances have been found in the nervous system of Annelids, but no detailed research in this area has been conducted on the Chinese earthworm, *P. aspergillum*. This research aims to establish if neurochemical substances discovered in other Annelids also exist in *P. aspergillum* and also if there are any new neurochemical substances in this species. Chinese earthworms were fed with paper pulp and agar to cause them excrete previously ingested earth and sand. They were then deeply anesthetized with 10% ethanol and dissected. The samples were fixed in fixative containing 4% paraformaldehyde and 2% picric acid in 0.01 mol/L PBS (pH 7.2) at 4 °C for 6 hours, then transferred to 30% sucrose-PBS until completely infiltrated. Samples were then embedded in OCT compound (USA), quick frozen in liquid nitrogen and sectioned into 20 μm thicknesses using a LEICA CM 1100 cryostat (Pharmacia). The serial sections were stained with antibodies anti-adrenocorticotropin hormone (ACTH), anti-arginine vasopressin (AVP), anti-calcitonin, anti-cholecystokinin (CCK), anti-β-endorphin (β-EP), anti-glutamate, anti-calbindin-D, anti-calcitonin gene-related peptide (CGRP), anti-neuropeptide Y (NPY), anti-oxytocin (OT), anti-somatostatin (SOM), anti-vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and anti-γ-aminobutyric acid (GABA) using immunocytochemistry techniques. The immunostained consecutive sections were observed and the positive cells and fibers were examined under a light mi-

* This work was supported by a grant from National Natural Science Foundation of China (No.39770383)

** Corresponding author. lqlzg@yahoo.com.cn

croscope. It was found that ACTH positive neurons, AVP positive neurons, calcitonin positive neurons containing dense large granules, CCK positive neurons, NPY positive neuron and glutamate positive neurons were stained heavily and distributed densely, but the β -EP positive neurons were stained lightly. A few OT positive neurons were detected sparsely distributed in brain tissue. Calbindin-D, CGRP, GABA, SOM, VIP immunocytochemical reactions were negative. AVP positive neurons, glutamate positive neurons and NPY positive neurons also were detected in the subpharyngeal ganglion and ventral ganglion. β -EP positive neurons, CGRP positive neurons, SOM positive neurons and VIP positive neurons were found in the enteric nervous system. Calcitonin positive epithelial cells, CGRP positive epithelial cells and VIP positive epithelial cells were distributed between negative epithelial cells. The results indicate the presence of not only previously discovered neurochemical substances: ACTH, CCK, CGRP, NPY, VIP, β -endorphin also found in the nervous systems of other Annelids, but also new neurochemical substances: calcitonin, glutamate, AVP, OT, SOM. In addition, calcitonin, glutamate, VIP positive epithelial cells were distributed in the digestive system of this species.

Key words Earthworm (*Pheretima aspergillum*), Neuropeptide, Immunocytochemistry

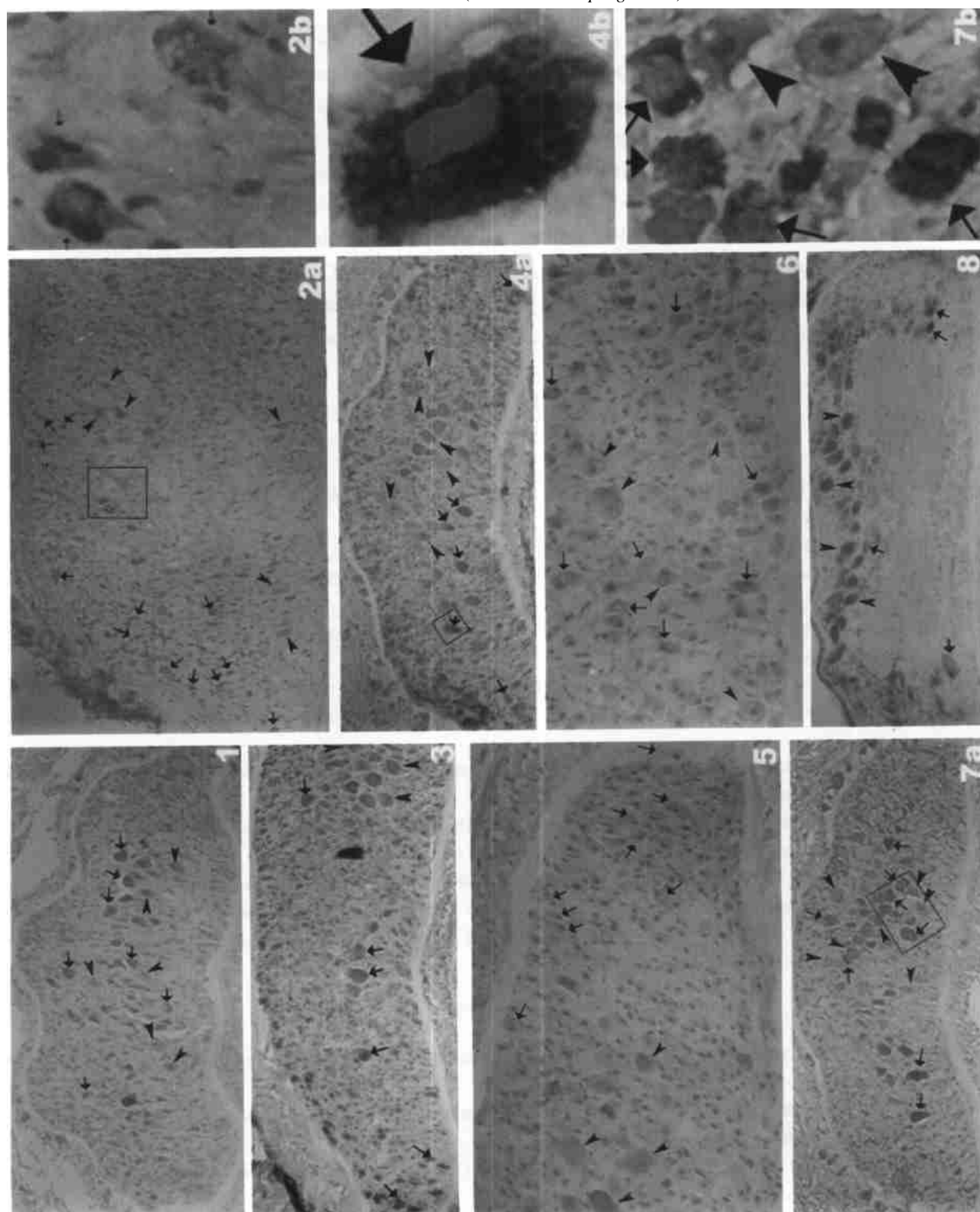
图 版 说 明

图 版 (Plate)

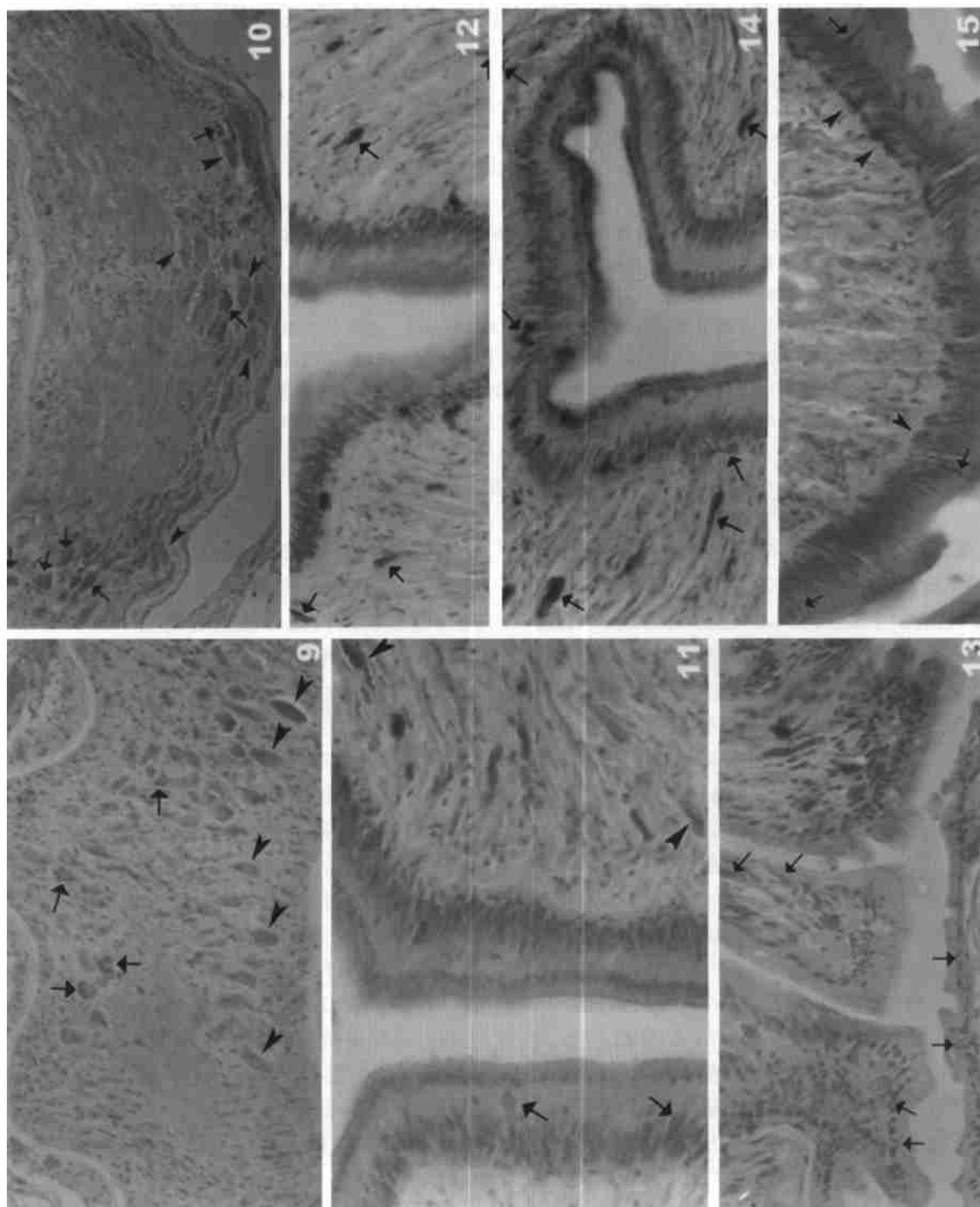
1. 参环毛蚓脑(咽上神经节) AVP 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [AVP negative neurons (), positive neurons (➡) in Chinese earthworm *P. aspergillum* cerebroganglion] ×68
- 2a. 参环毛蚓脑(咽上神经节) ACTH 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [2a. ACTH negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×36 2b. 阳性神经细胞高倍 (2b. Amplification of NPY positive neurons) ×216
3. 参环毛蚓脑(咽上神经节) CCK 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [CCK negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×68
- 4a. 参环毛蚓脑(咽上神经节) 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [4a. Calcitonin negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×70 4b. 阳性神经细胞高倍 (4b. Amplification of NPY positive neurons) ×436
5. 参环毛蚓脑(咽上神经节) β -EP 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [β -EP negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×68
6. 参环毛蚓脑(咽上神经节) glutamate 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [Glutamate negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×68
- 7a. 参环毛蚓脑(咽上神经节) NPY 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [7a. NPY negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×68 7b. 阳性神经细胞 (7b. Amplification of NPY positive neurons) ×402
8. 参环毛蚓腹神经节 AVP 免疫反应神经阳性细胞 (➡) 及阴性神经细胞 () [AVP positive neurons (➡) and negative neurons () in ventral ganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×68

图 版 (Plate)

9. 参环毛蚓脑(咽上神经节) OT 免疫反应阳性神经细胞 (➡), 阴性神经细胞 () [OT negative neurons (), positive neurons (➡) in cerebroganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×80
10. 参环毛蚓咽下神经节 NPY 免疫反应神经阳性细胞 (➡) 及阴性神经细胞 () [NPY positive neurons (➡) and negative neurons () in subpharyngeal ganglion of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×86
11. 参环毛蚓肠 CGRP 免疫反应阳性神经细胞 () 和上皮细胞 (➡) [CGRP positive neurons () and epithelial cells (➡) in intestine of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×44
12. 参环毛蚓肠 β -EP 免疫反应阳性神经细胞 (➡) [β -EP positive neurons (➡) in intestine of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×84
13. 参环毛蚓肠上皮细胞 calcitonin 免疫反应阳性细胞 (➡) [Calcitonin positive cells (➡) in intestinal epithelium of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×80
14. 参环毛蚓肠 SOM 免疫反应阳性神经细胞 (➡) [SOM positive neurons (➡) in intestine of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×88
15. 参环毛蚓肠 VIP 免疫反应阳性神经细胞 () 和上皮细胞 (➡) [VIP positive neurons () and epithelial cells (➡) in intestine of Chinese earthworm *P. aspergillum*] ×84



图版说明见文后 (Explanation at the end of the text)



图版说明见文后 (Explanation at the end of the text)