

β -EP 和胃泌素在大鼠舌下腺的免疫组织化学定位*

吴靖芳^{①**} 薛刚^② 任君旭^① 周济远^①

(^① 张家口医学院组织胚胎学教研室, 张家口 075000)

(^② 河北张家口 张家口医学院第一附属医院耳鼻咽喉-头颈外科, 张家口 075000)

Immunohistochemical localization of β -EP and gastrin in rat sublingual glandular cells

WU Jing-Fang XUE Gang REN Jun-Xu ZHOU Ji-Yuan

(Department of Histology and Embryology, Zhangjiakou Medical College, Zhangjiakou 075000, China)

(Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, The First Affiliated

Hospital of Zhangjiakou Medical College, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

Abstract In order to study the distribution of β -EP and gastrin immunoreactive cells in the sublingual gland, we used the Advitin Biptin-Peroxidase Complex (ABC) immunohistochemical technique to detect the expression of β -EP and gastrin in rat sublingual glands. The results show that the epithelial cells of striated ducts and interlobular ducts appeared β -EP and gastrin positive in immunoreaction and the mucosus and serous acinar cells were immunoreactive negative. The positive substances were distributed in the cytoplasm with negative nuclei. These results suggest that β -EP and gastrin are expressed in the epithelial cells of ducts in the rat sublingual gland, which may play an important role in the secretion and functional regulation of the sublingual gland [Acta Zoologica Sinica 49(4): 534-536, 2003].

Key words Rat, Sublingual gland, β -EP, Gastrin, Immunohistochemistry

关键词 大鼠 舌下腺 β -EP Gas 免疫组织化学

舌下腺是以粘液性腺泡为主的混合性腺体, 导管系统包括闰管、纹状管、小叶间导管和总导管, 但不同于颌下腺导管系统, 小鼠、大鼠等啮齿动物颌下腺的导管具有颗粒曲管细胞 (Granular convoluted tube cell, GCT 细胞)。GCT 细胞可合成和分泌多种生物活性物质, 它们能直接分泌入血或唾液进入消化道, 对多种组织细胞的生理活动起重要的调节作用 (邹仲之, 2001)。大鼠舌下腺导管没有 GCT 细胞, 但最近有学者报道舌下腺分泌管上皮细胞含 P 物质 (Substance P, SP)、血液活性肽 (Vasoactive intestinal peptide, VIP)、神经肽 (Neuropeptide, NPY) (贾友苏等, 1998), 提示这些细胞可能也会含有其它生物活性物质。胃泌素 (Gastrin, Gas) 与 β -内啡肽 (β -endorphin, β -EP) 是与消化功能密切相关的两种生物活性物质, 舌下腺导管系统是否含有这两种物质未见报道。本研究用免

疫组织化学 ABC (Advidin Biptin-Peroxidase Complex) 方法, 对大鼠舌下腺内 β -EP、Gas 进行了定位观察, 以期探讨二者对舌下腺分泌功能的影响。

1 材料和方法

1.1 标本制备

用成年雄性 Wistar 大鼠 6 只, 体重 180~230 g, 取材前禁食 12 h, 不限饮水。动物用 3% 戊巴比妥钠腹腔麻醉, 4% 多聚甲醛 0.01 mol/L PBS (pH 7.4) 经心脏灌注固定后, 迅速取舌下腺, 入 Zamboni's 液后固定, 石蜡包埋, 连续切片 (厚 6 μ m), 每隔 10 片取 1 片, 裱贴于涂有铬明矾明胶的载玻片。

1.2 免疫组织化学染色

取 2 套切片以免疫组织化学 ABC 法染色。切片经常规脱蜡入水, 用甲醇-H₂O₂ 封闭后, 分别

2002-08-06 收稿, 2003-5-24 修回

* 张家口医学院青年基金资助 [This research was funded by the Young Research Fund of Zhangjiakou Medical College]

** 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: wjfxg@163.com

第一作者简介 吴靖芳, 女, 34 岁, 硕士, 研究方向: 大鼠实验性胃溃疡自愈的内分泌调节。

© 2003 动物学报 Acta Zoologica Sinica

滴加 β -EP_{1-31}} 抗血清 1:100 (第二军医大学神经生物教研室提供, 与 α -EP、 γ -EP、甲硫氨酸脑啡肽、亮氨酸脑啡肽、强啡肽 A、强啡肽 B 等均无交叉反应) Gas 抗血清 1:200 (北京大学医学部生理教研室提供), 置 4℃ 过夜。第二抗体为生物素标记的羊抗兔抗血清 (1:100), 37℃ 1 h。ABC 复合物 1:100 (华美生物工程公司提供) 37℃ 1 h。DAB 液显色, 常规脱水、透明和封片。在显微镜下观察, 拍照。方法对照用 PBS 代替第 I 抗血清, 其余步骤相同。

2 结果

舌下腺实质主要为粘液性腺泡, 可见浆半月,

导管系统包括纹状管、小叶间导管和总导管, 闰管不明显。免疫组织化学结果显示: β -EP 和 Gas 免疫反应阳性物质呈棕黄色, β -EP 免疫反应阳性细胞呈强阳性, 着色深; Gas 免疫反应阳性细胞呈中等阳性反应。背景不着色, 反差明显, 易于识别。两种阳性产物均分布于舌下腺纹状管和小叶间导管上皮细胞的胞质, 核为阴性; 闰管短, 无 β -EP 和 Gas 阳性物质分布 (图 1: 1, 2)。高倍镜观察: 纹状管上皮细胞内阳性颗粒明显, 基底部纵纹清晰 (图 1: 3); 小叶间导管和总导管上皮细胞也呈 β -EP 和 Gas 免疫反应阳性, 但着色浅, 颗粒不明显。阴性对照结果和粘液性腺泡均为阴性。

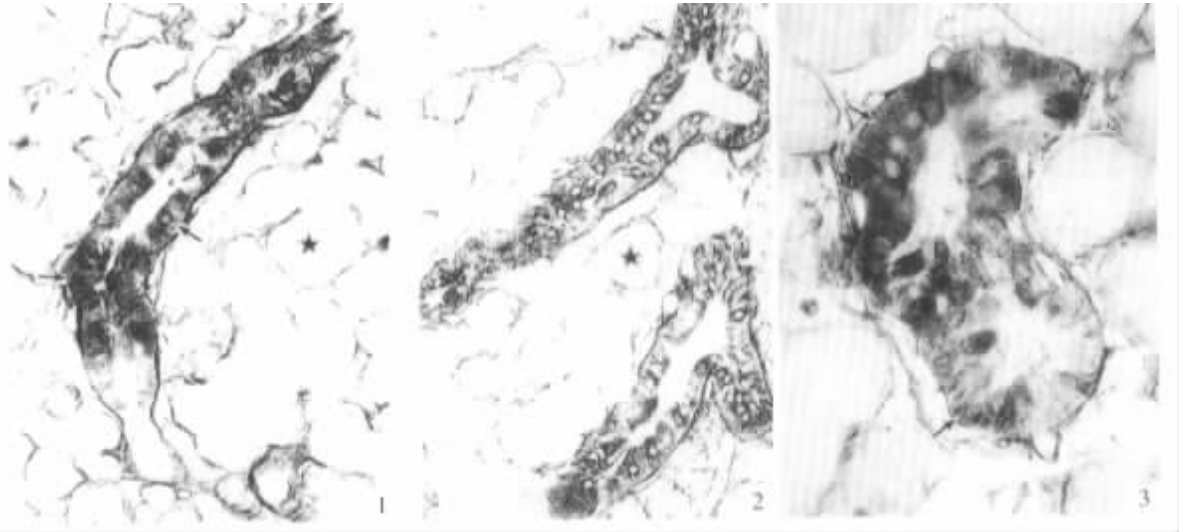


图 1 β -EP、Gas 在大鼠舌下腺的免疫组织化学定位

Fig.1 Immunohistochemical localization of β -EP and gastrin in rat sublingual glandular cells

1. 大鼠舌下腺纹状管上皮细胞 (↑) 呈 β -EP 阳性, 腺泡细胞阴性 (★) [The epithelial cells (↑) of striated duct were β -EP positive, the acinar cells (★) negative] $\times 200$
2. 大鼠舌下腺纹状管上皮细胞 (↑) 呈 Gas 阳性, 腺泡细胞阴性 (★) [The epithelial cells (↑) of rat striated duct were β -EP positive, the acinar cells (★) negative] $\times 200$
3. 示纹状管上皮细胞纵纹 (↑) [Showing the obvious striations of epithelial cells (↑) in striated duct] $\times 400$

3 讨论

颌下腺含有多种生物活性物质, 这些物质主要分布于大鼠颌下腺 GCT 细胞。而大鼠舌下腺的导管系统中没有 GCT 细胞, 但我们的实验结果发现舌下腺纹状管细胞含有 β -EP 和 Gas 两种物质。与大鼠舌下腺的纹状管上皮细胞呈 SP、VIP、NPY 和 5-HT 免疫反应阳性, 反应产物分布于胞质内 (贾友苏等, 1998; 王炜等, 1996) 的报道一致。本研究首次观察到大鼠舌下腺导管系统的纹状管和小叶间导管呈 β -EP 和 Gas 免疫反应阳性。贾友苏等 (1998) 认为舌下腺与颌下腺在胚胎发生、形态

结构和功能方面关系密切, 舌下腺纹状管细胞与颌下腺纹状管细胞的生理特征大致相同, 舌下腺纹状管细胞的神经肽也参与多种组织和细胞的生理活动调节。

生理学实验证明, β -EP 同其它阿片样肽一样, 在消化道可能有相似的作用, 能增加胃窦及小肠肌肉的紧张性, 使十二指肠内容物推进减慢; β -EP 也可作为一种激素或神经递质, 通过肌间神经丛, 抑制乙酰胆碱引起的平滑肌收缩, 减弱禁食状态大鼠胃肠的运动 (Camiller *et al.*, 1984)。 β -EP 可抑制侧脑室注射 TRH 引起的胃酸分泌增多 (Hernandez, 1989)。大鼠胃和十二指肠溃疡时, 外源性

β -EP 能阻止 G 细胞增多, 使胃酸分泌减少, 间接起到保护、营养作用 (Zverkov *et al.*, 1984)。胃窦 G 细胞分泌的 Gas 能促进胃酸分泌, Zavros *et al.* (2002) 报道各种因素所致的胃酸分泌过少症小鼠易患慢性胃炎, 抗生素治疗后胃粘膜壁细胞和 G 细胞数增加, 胃酸分泌量增加, 胃炎痊愈。Smith *et al.* (1998) 认为胚胎时期胰岛 Gas 细胞随胎龄增长而减少, 认为 Gas 对胰岛细胞的分化有营养作用。本文研究结果表明舌下腺纹状管上皮细胞存在 β -EP 和 Gas 免疫反应阳性细胞, β -EP 和 Gas 两种物质可能直接分泌入血液或唾液进入消化道, 对多种组织细胞的生理活动起重要的调节或营养作用, 作用机理有待进一步证实。

参考文献 (References)

- Camiller, M., J. R. Malagelada and P. C. Kao 1984 Effect of somatovisceral reflexes and selective dermatomal stimulation post-cibal antral pressure activity. *Am. J. Physiol.* **247**: G703 ~ 708.
- Hernandez, D. E. 1989 Neurobiology of brain-gut interactions: implications for ulcer disease. *Dig. Dis. Sci.* **34** (12): 1 809 ~ 1 816.
- Jia, Y. S., X. M. Jia, H. Z. Wang and W. Q. Qi 1998 Localization of substance P, vasoactive intestinal polypeptide and neuropeptide Y in rat sublingual gland. *Acta Anatomica Sinica* **29** (2): 213 ~ 215. [贾友芬, 贾雪梅, 王惠珠, 齐威卿 1998 P 物质、血管活性肠肽和神经肽 Y 在大鼠舌下腺的免疫组织化学定位. 解剖学报 **29** (2): 213 ~ 215.]
- Smith, J. P., M. W. Hamory, M. F. Verderame and I. S. Zagon 1998 Quantitative analysis of gastrin mRNA and peptide in normal and cancerous human pancreas. *Int. J. Mol. Med.* **2** (3): 309 ~ 315.
- Wang, W. and W. Q. Huang 1996 Immunohistochemical study of 5-hydroxytryptamine and its receptors in sublingual gland of rat. *Chinese Journal of Anatomy* **19** (4): 322 ~ 324. [王 炜, 黄威权 1996 5-羟色胺及其受体在大鼠舌下腺的免疫组织化学研究. 解剖学杂志 **19** (4): 322 ~ 324.]
- Zavros, Y., G. Rieder, A. Ferguson, L. C. Samuelson and J. L. Merchant 2002 Genetic or chemical hypochlorhydria is associated with inflammation that modulates parietal and G-cell populations in mice. *Gastroenterology* **122** (1): 119 ~ 133.
- Zou, Z. Z. 2001 Histology and Embryology. 5th edn. Beijing: People's Health Press, 169. [邹仲之 2001 组织学与胚胎学, 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 169.]
- Zverkov, I. V., A. D. Dmitriev and S. P. Veselova 1984 Effect of β -endorphin on G cells of rats in experimental duodenal ulcer. *Bull. Eksp. Biol. Med.* **97** (11): 28 ~ 31.