

生长抑素免疫阳性细胞在莱芜黑山羊消化系统的分布规律

侯衍猛, 王树迎*, 尹逊河, 黄丽波, 冯华朋, 刘冠华

(山东农业大学动物医学院, 泰安 271018)

摘要: 采用免疫组织化学 SABC 法, 探究莱芜黑山羊消化系统生长抑素(SS)免疫阳性细胞的形态结构和分布规律。消化道中 SS 免疫阳性细胞形态多样, 大多呈椭圆形和锥体形, 主要分布于幽门腺区, 而贲门腺区、结肠、盲肠和直肠中未见阳性细胞。胰腺中 SS 免疫阳性细胞数量较多, 主要分布于胰岛的外套层, 在胰岛的中央和外分泌部的腺泡细胞之间也有少量阳性细胞。结果表明: 消化系统 SS 阳性细胞出现最多的部位是幽门腺区和胰岛的外套层。

关键词: 生长抑素免疫阳性细胞; 消化系统; 免疫组织化学; 莱芜黑山羊

中图分类号: S852.16; Q48

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)08-1107-04

The Distribution of Somatostatin Immunoreactive Cells in the Digestive System of Laiwu Black Goat

HOU Yan-meng, WANG Shu-ying*, YIN Xun-he,

HUANG Li-bo, FENG Hua-peng, LIU Guan-hua

(College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: The distribution of somatostatin (SS) immunoreactive(IR) cells in Laiwu Black goat digestive system were researched by immunohistochemical SABC method. The shape of SS-IR cells were mainly ellipse and cone. SS-IR cells showed peak density in the pylorus, but not detected in the cardia, colon, cecum and rectum. In pancreatic islets, SS-IR cells were discerned predominately in the mantle regions, meanwhile SS-IR cells were also found in the exocrine portions and the central regions. In conclusion, SS-IR cells were showed up in the pylorus and the mantle regions of the pancreatic islets mostly.

Key words: somatostatin immunoreactive cell; digestive system; immunohistochemistry; Laiwu Black goat

生长抑素由 14 个氨基酸组成, 相对分子质量 1 400, 其主要作用是通过旁分泌方式抑制胃泌素、胆囊收缩素、胰泌素、高血糖素、胰岛素、胃动素、胃酸等的分泌以及氨基酸、糖和脂肪酸在胃肠道内的吸收。并参与胰岛激素分泌的调节。生长抑素还可以抑制消化道及有关器官的运动: 如抑制胃蠕动引起的胃排空、胆囊收缩, 甚至抑制神经系统的活动。

迄今为止, 已在多种哺乳动物消化系统中发现了生长抑素免疫反应细胞, 但在山羊的研究却较少。本试验采用组织学和免疫组织化学方法, 对莱芜黑山羊消化系统中生长抑素免疫阳性细胞的分布和形态进行了初步探讨, 以期揭示山羊生长抑素免疫阳性细胞的分布规律及特点, 从而为进一步研究山羊胃肠激素的作用机理以及胃肠疾病的发病机制提供

收稿日期: 2007-06-29

基金项目: 山东省教育厅资助项目(J03H03)

作者简介: 侯衍猛(1977-), 男, 山东泰安人, 助教, 硕士, 主要从事动物组织学与胚胎学研究

* 通讯作者: 王树迎, 主要从事动物形态学及发育生物学研究, Tel: 0538-8242235, E-mail: sywang@sdau.edu.cn

一定的参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

2005年7月在山东省莱芜市黑山羊育种研究所随机选出年龄2~3岁,体重20~30 kg,营养状况良好、健康的莱芜黑山羊6只。

1.2 取材和制备石蜡切片

颈动脉放血处死山羊,剖开腹腔后,分别取食管末段、贲门腺区、胃底腺区、幽门腺区、十二指肠、空肠中段、回肠中段、结肠中段、盲肠前段、直肠和胰腺十一个部位的组织样本,立即投入4%多聚甲醛液4℃固定。组织常规脱水,透明,石蜡包埋,连续切片,片厚5 μm。

1.3 免疫组织化学检测

本试验采用兔抗山羊生长抑素血清,以免疫组织化学SABC法对消化系统生长抑素免疫阳性细胞进行定位。兔抗SS抗体、即用型SABC免疫组织化学染色试剂盒、DAB显色试剂盒均购自武汉博士德公司。具体试验步骤如下:①载玻片经多聚赖氨酸防脱片处理,捞片后置烤箱(58~60℃)30~60 min以使切片紧密粘附。②切片常规脱蜡至水。③30% H₂O₂ 1份+蒸馏水10份混合,室温5~10 min以灭活内源性过氧化物酶,蒸馏水洗3次。④滴加复合消化液5~10 min,蒸馏水洗3次。⑤滴加5% BSA封闭液,室温20 min。甩去多余液体,不洗。

⑥滴加适当稀释的一抗(1:150),4℃过夜,PBS(pH7.2~7.6)洗2 min×3次。⑦滴加生物素化山羊抗兔IgG,20℃,20 min。PBS(pH7.2~7.6)洗2 min×3次。⑧滴加试剂SABC,20℃,20 min。PBS(pH7.2~7.6)洗5 min×4次。⑨DAB显色,使用DAB显色试剂盒(AR1022)。室温显色,显微镜下控制反应时间。苏木素轻度复染,脱水,透明,封片。阴性对照用正常兔血清代替一抗,其它步骤与试验组相同。

1.4 细胞计数

6只山羊的每个取样部位分别做免疫组织化学检测,每个部位取3张切片,显微镜下观察,拍照,并对每个部位随机选取9个400倍视野统计细胞数,其中胰岛再分为中央区、周边区和外套层^[1]。

2 结果

在莱芜黑山羊消化系统,SS免疫阳性细胞呈棕黄色,阳性着色位于胞质,胞核区清晰可见。细胞形态多样,大多呈锥体形(图1a)和椭圆形(图1b、1c),有的细胞有突起(图1d)。对照片呈阴性,不着色(图2)。

2.1 SS免疫阳性细胞在消化道的分布特点

SS免疫阳性细胞在幽门腺区(图3)数量最多,胃底腺区(图4)、十二指肠(图5)和回肠较多,食管和空肠较少,贲门腺区、结肠、盲肠和直肠中均未发现。

表1 莱芜黑山羊消化道内SS免疫阳性细胞的分布

部位 Location	食管 Esophagus	胃底腺区 Fundic	幽门腺区 Pylorus	十二指肠 Duodenum	空肠 Jejunum	回肠 Ileum	个/视野
SS细胞 SS-IR cell	3.50±0.50	5.50±0.50	7.50±1.12	5.50±1.12	3.00±0.71	5.75±0.83	

2.2 SS免疫阳性细胞在胰腺的分布特点

SS免疫阳性细胞主要位于胰岛的外套层,在中央区也可见有阳性细胞分布(图6、7),细胞可见

突起,细胞的长突起伸至其他细胞之间(图7);在胰外分泌部也有散在的细胞,位于腺泡细胞之间(图8)。

表2 莱芜黑山羊胰腺SS免疫阳性细胞的分布

部位 Location	外分泌部 Exocrine portion	胰岛 Pancreatic islets			个/视野
		中央区 Central region	周边区 Peripheral region	外套层 Mantle zone	
SS细胞 SS-IR cell	1.33±0.47	5.75±0.43	—	7.25±0.43	

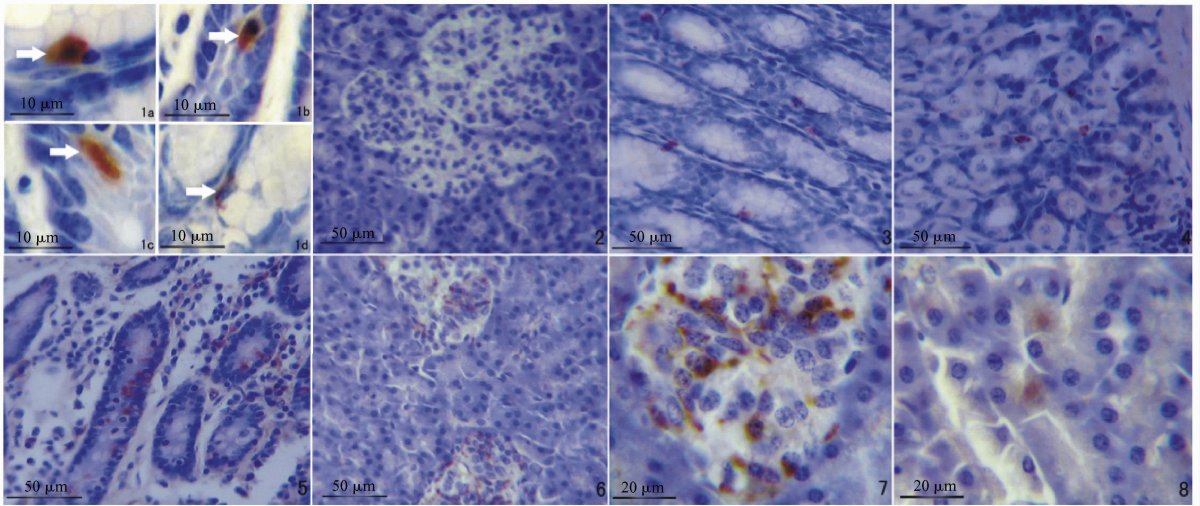


图 1a 腺上皮内锥体形的 SS 免疫阳性细胞,标尺示 10 μm ;图 1b、1c 腺上皮内椭圆形 SS 免疫阳性细胞,标尺示 10 μm ;图 1d 腺上皮内有突起的 SS 免疫阳性细胞,标尺示 10 μm ;图 2 胰岛阴性对照片,标尺示 50 μm ;图 3 幽门腺 SS 免疫阳性细胞散在分布于腺上皮中,标尺示 50 μm ;图 4 胃底腺 SS 免疫阳性细胞,细胞分布在腺上皮细胞之间,标尺示 50 μm ;图 5 SS 免疫阳性细胞分布在十二指肠肠腺上皮细胞之间,标尺示 50 μm ;图 6 高倍镜示胰岛内 SS 免疫阳性细胞,标尺示 50 μm ;图 7 油镜示胰岛内 SS 免疫阳性细胞形态,可见椭圆形和锥体形细胞,也有细胞有突起,标尺示 20 μm ;图 8 腺泡细胞间的 SS 免疫阳性细胞,标尺示 20 μm

Fig. 1a Metuliform SS-IR cell in the epithelium (Bar=10 μm); Fig. 1b, 1c Ellipse SS-IR cell in the epithelium (Bar=10 μm); Fig. 1d Ecphyoma SS-IR cell in the epithelium (Bar=10 μm); Fig. 2 Negative compared section (Bar=50 μm); Fig. 3 In the epithelium of Pylorus, the SS-IR cell were scattered (Bar=50 μm); Fig. 4 The SS-IR cells which located between glandular epithelial cells were found in the epithelium of fundic gland (Bar=50 μm); Fig. 5 SS-IR cells lie in the intestinal gland of duodenum (Bar=50 μm); Fig. 6 SS-IR cells in pancreas islets under high power objective (Bar=50 μm); Fig. 7 SS-IR cells in pancreas islets by immersion objective. The cells were metuliform, ellipse and ecphyoma (Bar=20 μm); Fig. 8 SS-IR cells between the exocrine portion epithelium cells (Bar=20 μm)

3 讨论

3.1 消化道 SS 免疫阳性细胞的分布特点

消化道不仅是重要的消化器官,同时也可以看作是体内最大的内分泌器官。至今已发现的在消化道存在 40 多种内分泌细胞。近来的研究表明,许多发现于消化道的肽类也存在于脑内,这种双重分布的肽类称脑-肠肽,生长抑素就是其中重要的一种。SS 发现于从鱼类到哺乳类的各种动物,但不同动物消化道的 SS-IR 细胞分布型不同。黄鳝胃肠的 SS-IR 细胞只在胃体部显现,主要分布在胃腺中,个别出现在黏膜上皮^[2]。大鼠消化道 SS-IR 细胞分布于胃肠各段,胃窦部较密集,小肠各段次之,结肠和直肠较少^[3]。莱芜黑山羊 SS-IR 细胞大量出现在胃的幽门腺区,与某些禽类的分布^[4-6]一致。与同属反刍动物的骆驼比较,SS-IR 细胞在小肠的分布相似,但在骆驼的结肠却发现了山羊没有的 SS-IR 细胞^[7]。

3.2 胰腺 SS 免疫阳性细胞的分布特点

胰腺是动物体内最重要的消化腺,与动物的生

长发育密切相关,胰岛是分散分布在胰腺内的由高血糖素细胞、胰岛素细胞和生长抑素细胞等组成的内分泌组织,对糖、脂肪和蛋白质的代谢有调节作用。对狗^[8]、猪^[8]、牛^[8-9]、豚鼠^[8,10]、大鼠^[8,11]、沙鼠^[1]等有代表性的哺乳动物及鸭^[12]、鹅^[13]胰腺内胰岛细胞进行了免疫组织化学定位研究。结果显示,胰腺 SS-IR 细胞形态、分布及数量基本一致,均散在分布于胰岛内。在豚鼠的外分泌部中也发现了散在分布的 SS-IR 细胞,与本试验结果一致。

3.3 SS 与消化系统功能

SS 对胃、肠、胰功能调节的意义主要在于通过对消化系统功能的调节,影响机体对养分的吸收利用。其调节主要表现在抑制胃酸分泌、减慢胃的排空以及控制酸性食糜排入十二指肠的速度。其次,通过抑制胰外分泌功能来控制胰腺各消化酶对食物的分解^[14]。本试验发现 SS-IR 细胞在幽门腺区数量多,胰腺腺泡细胞间也有分布,笔者认为,SS-IR 细胞可能以旁分泌的形式参与消化系统功能调节。

3.4 SS与消化管黏膜保护

面对食物和消化液对消化道黏膜的直接作用,消化道的细胞保护显得尤为重要。从临床分析,许多消化道疾病在一定程度上与消化道细胞保护的减弱或消失有关。有研究发现,生长抑素能保护肠黏膜机械屏障,但是大肠黏膜机械屏障却较小肠易遭破坏^[15]。本试验发现SS-IR细胞在大肠没有分布。以上结果表明,内源生长抑素对大肠黏膜机械屏障保护作用不足。笔者认为,在消化系统疾病治疗中可利用外源生长抑素增强大肠黏膜机械屏障的保护。

参考文献:

- [1] KU S K, LEE H, PARK K, et al. An immunohistochemical study on the pancreatic islets cells of the Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatu* [J]. *J Vet Sci*, 2001, 2(1): 9-14.
- [2] 舒妙安, 徐海圣. 黄鳝胃肠的生长抑素分泌细胞及超微结构[J]. *水产学报*, 2002, 26(3): 206-212.
- [3] 梁文妹, 石爱荣. 大鼠出生后发育期间胃肠道生长抑素、5-羟色胺及胃泌素免疫反映细胞的分布及形态学观察[J]. *解剖科学进展*, 1999, 5(3): 266-269.
- [4] YAMADA J, KITAMURA N, YANAIHARA T. Avian gastrointestinal endocrine cells[M]//MIKAMI S, HOMMA K, WADA M. *Avian Endocrinology and ecological Perspectives*. Tokyo: Jpn Sci Soc Press, 1983: 67-79.
- [5] 邓泽沛, 周占祥, 山田纯三. 北京鸭消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究[J]. *动物学报*, 1994, 40(4): 383-389.
- [6] 邓泽沛, 周占祥, 山田纯三. 鹅胃肠内分泌细胞的免疫组织化学定位[J]. *解剖学报*, 1996, 27(3): 314-317.
- [7] ALI M A, FRED NYBERG S I, Chandranath S, et al. Distribution of neuroendocrine cells in the small and large intestines of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) [J]. *Neuropeptides*, 2007, 5(41): 293-299.
- [8] 王瑞安, 蔡文琴, 苏慧慈. 人、大鼠、豚鼠、猪、狗和牛胰腺SSIR细胞形态和分布的比较研究[J]. *解剖学报*, 1995, 26(2): 176-179.
- [9] NAKAJIMA S, KITAMURA N, YAMADA J, et al. Immunohistochemical study on the endocrine pancreas of cattle with special reference to coexistence of serotonin and glucagon or bovine pancreatic polypeptide [J]. *Acta Anat (Basel)*, 1988, 131(3): 235-240.
- [10] 张远强, 王文超, 黄荫乔, 等. 豚鼠胰腺生长抑素和高血糖素免疫反应细胞形态学观察[J]. *第四军医大学学报*, 1989, 10(6): 372-375.
- [11] 吴梅, 黄岩. 大鼠生后发育期间胰岛胰高血糖素细胞免疫组织化学研究[J]. *北京医科大学学报*, 1994, 26(4): 255-256.
- [12] 沈元新, 吴旧生. 鸭胰腺内高血糖素、胰岛素和生长抑素免疫反应细胞的形态及分布[J]. *中国兽医学报*, 1999, 19(6): 579-583.
- [13] NURHAYAT G, HAKAN K, SAHIN A, et al. Immunohistochemical distribution of cells containing insulin, glucagon and somatostatin in the goose (*Anser anser*) pancreas [J]. *Turk J Vet Anim Sci*, 2004, 28: 403-407.
- [14] 刘燕强, 辛天蓉, 任自立. 生长抑素及其受体[J]. *生理科学进展*, 2005, 36(1): 86-92.
- [15] 凌东进, 傅华群. 生长抑素对大鼠不同肠段黏膜机械屏障损伤的保护作用[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2005, 11(2): 137-138.