

五种海洋鱼类消化道 G 细胞的定位

韩师昭¹, 朱艾嘉², 叶海辉¹, 黄辉洋¹

(1. 厦门大学海洋系 亚热带海洋研究所, 福建 厦门 361005; 2. 中国科学院 南海海洋研究所, 广东 广州 510301)

摘要: 应用胃泌素多克隆抗体和链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组织化学方法(SP法), 对中华乌塘鳢(*Bostrichthys sinensis*)、黄鳍鲷(*Sparus latus*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、褐篮子鱼(*Sigauns fuscens*)和大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)消化道胃泌素细胞(G细胞)进行免疫组化鉴别和定位。结果显示: 中华乌塘鳢 G 细胞主要分布在小肠, 直肠偶见。黄鳍鲷 G 细胞仅在小肠发现。牙鲆 G 细胞大量位于幽门胃和小肠。褐篮子鱼 G 细胞在幽门盲囊和小肠有少量分布。大弹涂鱼 G 细胞在贲门胃、幽门胃和小肠均有出现, 大量分布于幽门胃。5 种鱼类 G 细胞主要出现在胃和小肠的分布状况, 与胃泌素调节胃肠消化吸收的功能相一致。5 种鱼类 G 细胞形态类型多样, 提示了胃泌素以不同的内分泌方式参与消化生理过程。

关键词: 海洋鱼类; 消化道; 胃泌素细胞; 免疫组织化学

中图分类号: S965.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)01-0052-04

胃泌素具有刺激胃酸、胃蛋白酶分泌、胃窦收缩, 增加胃黏膜血流量, 刺激胃、小肠和结肠黏膜生长等生理功能, 是一种重要的胃肠激素^[1]。应用免疫组化技术, 在淡水鱼中, 已从鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙(*Aristichthys nobilis*)等无胃鱼和短盖巨脂鲤(*Colossoma brachyomum*)、黄鲷(*Monopterus albus*)、日本鳗鲡(*Anguilla japonicus*)等有胃鱼的消化道中检测出胃泌素细胞(G细胞)^[2~5]。迄今, 对海洋鱼类 G 细胞的研究不多, 仅见方永强等对鲷鱼有过报道^[6]。本研究报道了中华乌塘鳢(*Bostrichthys sinensis*)、黄鳍鲷(*Sparus latus*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、褐篮子鱼(*Sigauns fuscens*)和大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)等 5 种海水养殖鱼类消化道 G 细胞的分布和形态, 为海洋鱼类消化生理学、内分泌学和比较解剖学等提供新资料。

1 材料与方法

1.1 样品制备

中华乌塘鳢体长 13~16 cm; 黄鳍鲷体长 12~15 cm; 牙鲆体长 23~25 cm; 褐篮子鱼体长 10~13 cm; 大弹涂鱼体长 7~11 cm, 购自厦门农贸市场。置于清水中暂养 24 h 后活体解剖, 按食道、贲门胃、幽门胃、幽门盲囊、小肠、直肠等部位取材, 立即投入 Bouin's 液中固定 18~24 h, 常规脱水透明, 石蜡包埋, 切片 6 μm , 贴片, 37℃烘干备用。

1.2 主要试剂和工作浓度

兔抗胃泌素(Gastrin)抗体的工作浓度为 1:100,

链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶免疫组织化学试剂盒(SP Kit)为美国 ZYMED 公司产品, 3-3'-二氨基联苯胺盐酸盐(DAB)为美国 Sigma 公司产品, 上述试剂均购自北京中山生物技术公司。

1.3 SP 法的主要步骤

切片脱蜡至水。3% H_2O_2 /PBS 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, 封闭非特异性反应部位。倾去血清, 滴加兔抗胃泌素抗体, 37℃孵育 1.5 h。滴加即用型生物素标记的羊抗兔抗体, 37℃孵育 0.5 h。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。DAB 显色 5~10 min。自来水冲洗, 苏木精复染, 脱水, 透明, 封片。阴性对照实验采用相邻切片, 以正常羊血清代替第一抗体, 同步进行上述免疫组化反应程序。

1.4 观察

在 Olympus BX51 型显微镜下观察内分泌细胞形态, 并用 Olympus DP11 数码摄像机拍照。

2 结果

光镜下, 对胃泌素抗体显示棕褐色反应的细胞即为 G 细胞, 其胞质内充满棕褐色的颗粒, 胞核无

收稿日期: 2004-10-08; 修回日期: 2005-09-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40276040); 福建省自然科学基金资助项目(B0210003)

作者简介: 韩师昭(1980), 女, 福建漳州人, 硕士研究生, 研究方向为海洋动物生理学, 电话: 0592-2185539, E-mail: hsz_208@163.com; 叶海辉, 通讯作者, E-mail: haihuiye@163.com

色,对比鲜明,易与消化道其它细胞区别。对照组均呈阴性反应。5 种鱼类 G 细胞的分布部位及免疫阳性强度如表 1 所示。

表 1 5 种鱼类消化道 G 细胞的分布状况

Tab. 1 The distribution of G cells in the digestive tract of five kinds of fish

鱼种	G 细胞分布					
	食道	贲门胃	幽门胃	幽门盲囊	小肠	直肠
中华乌塘鳢	-	-	-	/	++	+
黄鳍鲷	-	-	-	-	+	-
牙鲆	-	-	+++	-	+++	-
褐篮子鱼	-	-	-	+	+	-
大弹涂鱼	-	++	+++	/	++	-

注: +++: 阳性反应强; ++: 阳性反应较强; +: 阳性反应较弱; -: 阴性反应; /: 无该部位

中华乌塘鳢 G 细胞主要分布在小肠, 多数呈长条形、长颈瓶形或蝌蚪形, 具单个狭长胞突伸向肠腔(图 1-1), 或有两个胞突分别伸向肠腔与上皮基部。有的呈圆形或椭圆形, 位于上皮基部或黏膜下层(图

1-1)。直肠只有少量分布, 位于杯状细胞之间, 呈蝌蚪形或梭形, 一般有单个突起伸向肠腔(图 1-2), 有的呈椭圆形、圆形, 分布于上皮细胞间或上皮基部。黄鳍鲷 G 细胞仅在小肠发现, 分布较少, 呈近圆形, 位于上皮基部(图 1-3)。牙鲆 G 细胞在幽门胃及小肠均有大量分布, 幽门胃数量较多。在幽门胃有的呈梭形, 位于上皮细胞间, 具单个胞突伸向胃腔; 有的为椭圆形细胞, 分布于上皮基部或黏膜下层(图 1-4)。在小肠多数呈梭形, 位于上皮细胞间。褐篮子鱼 G 细胞在幽门盲囊及小肠均有少量分布, 多位于上皮细胞间, 呈梭形, 胞突伸向消化腔(图 1-5); 偶见圆形细胞位于上皮基部或黏膜下层。大弹涂鱼消化道 G 细胞分布较广, 整个消化道除食道及直肠外均有分布, 以幽门胃最多。在胃内 G 细胞多呈圆形或椭圆形, 位于上皮基部或黏膜下层; 有的为梭形或蝌蚪形, 位于上皮细胞间, 具单个狭长突起伸向胃腔; 偶见梭形细胞, 具两个突起, 一个突起伸向胃腔, 另一突起伸向上皮基部邻近细胞(图 1-6)。在小肠有的呈蝌蚪状位于上皮细胞间, 胞突伸向上皮基部; 有的呈圆形, 位于上皮基部或黏膜下层。

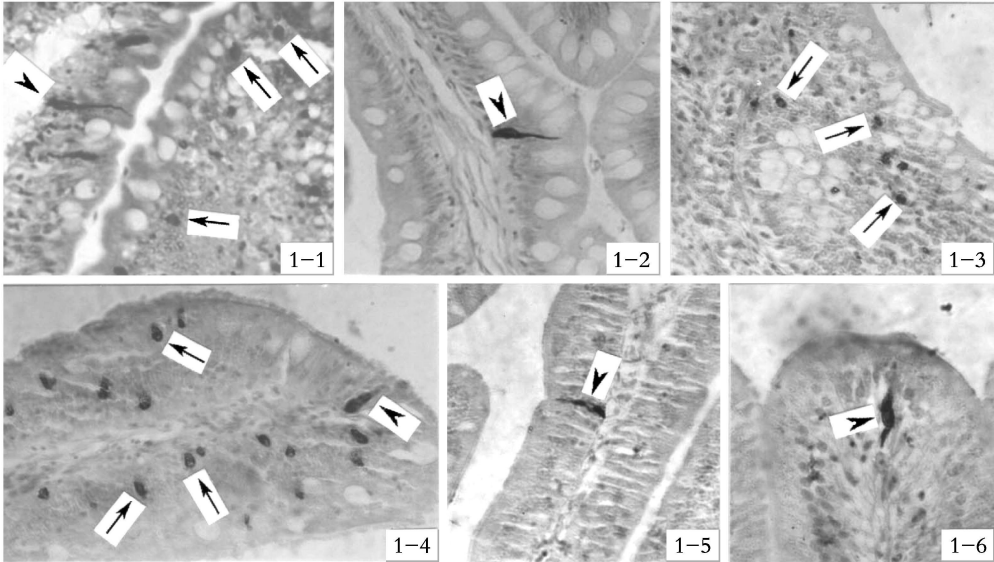


图 1 5 种鱼类消化道 G 细胞的形态

Fig. 1 The morphology of G cells in the digestive tract of 5 kinds of fish

1-1. 中华乌塘鳢小肠 G 细胞, 蝌蚪形, 位于上皮细胞间(➤), 圆形, 位于黏膜下层结缔组织(↖); 1-2. 中华乌塘鳢直肠 G 细胞, 蝌蚪形, 单个突起伸向肠腔(➤); 1-3. 黄鳍鲷小肠 G 细胞, 椭圆形, 位于上皮基部(↖); 1-4. 牙鲆幽门胃 G 细胞, 梭形, 位于上皮细胞间, 单个突起伸向胃腔(➤); 1-5. 褐篮子鱼幽门盲囊 G 细胞, 梭形, 胞突伸向消化腔(➤); 1-6. 大弹涂鱼幽门胃 G 细胞, 具两个胞突(➤); × 280

1-1. The G cells in the intestine of *B. sinensis*, the cells in the shape of tadpole like appearance located between the epithelia(➤), the round cells located in connective tissue(↖); 1-2. The G cells in the rectum of *B. sinensis*, the cells in the shape of tadpole like appearance stick up to the cavity of intestine(➤); 1-3. The G cells in the intestine of *S. latus*, the round cells located in the bottom of epithelium(↖); 1-4. The G cells in the pylorus of *P. olivaceus*, the cells in the shape of shuttle located between the epithelia, stick up to the gastric antrum(➤); 1-5. The G cells in the pyloric caecum of *S. fuscus*, the cells in the shape of shuttle stick up to the enteron antrum(➤); 1-6. The G cells in the pylorus of *B. pectinirostris* with two saliences like neuronal synapse(➤); × 280

3 讨论

据报道,短盖巨脂鲤 G 细胞仅在贲门胃有少量分布^[3],黄鳍 G 细胞分布在食道和贲门胃^[4]。尼罗非鲫(*Tilapia nilotica*)、鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)消化道未能发现 G 细胞^[3,7]。日本鳊鱼 G 细胞位于胃体、幽门部、前肠和中肠^[5]。鳊鱼胃肠均有 G 细胞的分布^[6],本研究的 5 种鱼类中, G 细胞几乎不出现在食道和直肠;在胃内分布差异很大,但在小肠中均有分布(表 1)。根据已有研究资料,看来鱼类消化道中 G 细胞的分布状况差异很大。胃泌素的主要生理功能作用是刺激胃酸、胃蛋白酶分泌、胃窦收缩和增加胃黏膜血流量^[1]。胃、小肠是食物消化吸收主要的场所, G 细胞在 5 种海洋鱼类主要分布于胃和小肠,与胃泌素调节消化吸收功能相一致。胃泌素还有刺激胃、小肠和结肠黏膜生长等功能^[1]。本研究的 5 种鱼类中,大弹涂鱼食性特殊,刮食底栖硅藻和有机碎屑,摄入的硅藻、泥沙等无疑对黏膜上皮产生了磨损作用,其 G 细胞广泛分布于贲门胃、幽门胃和小肠,可能与胃泌素促进消化道黏膜生长的作用有关,从而弥补硅藻、泥沙等不易消化物对黏膜的磨损。

消化道内分泌细胞根据形态学特征可分为两大类:一类是开放型细胞,有胞质突起,多数呈长梭形、长颈瓶形、蝌蚪形等形态。另一类是封闭型细胞,无胞突,多呈圆形、椭圆形^[8]。根据胞突的不同,学者又将消化道内分泌细胞进一步细分为四种类型: I 型细胞多呈长颈瓶形、蝌蚪形,具单个突起与胃肠腔或腺腔有直接接触,可认为具有腔分泌作用(分泌物入腔); II 型细胞具两个突起,一般为长梭形,一个突起与腔面有直接接触,另一突起伸向上皮基膜或邻近细胞,能把分泌物扩散至邻近靶细胞,故认为兼具腔分泌与旁分泌的功能; II 型细胞无任何胞质突起,分泌物入血液,与一般内分泌细胞一样,具内分

泌作用; IV 型细胞基部具有胞质突起,行使旁分泌局部调节胃肠功能^[9]。本研究中, 5 种鱼类均具有 I 型细胞和 II 型细胞; 中华乌塘鳢和大弹涂鱼还发现了 II 型细胞; 而 IV 型细胞仅见于大弹涂鱼。5 种海洋鱼类消化道 G 细胞形态类型多样,提示了胃泌素可能以不同的内分泌方式参与消化生理过程。有关鱼类胃泌素确凿的生理机能和调节过程尚需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 王志均. 胃肠激素[M]. 北京: 科学出版社, 1985. 104-112.
- [2] 潘黔生,方之平,樊启学,等. 鲢、鳙、银鲫和团头鲂肠道 G 细胞定位与免疫组化研究[J]. 动物学报, 1995, 41(2): 167-173.
- [3] 方之平,潘黔生,聂秀云,等. 两种有胃真骨鱼胃肠胰系统中内分泌细胞的鉴别与定位[J]. 华中农业大学学报, 1997, 16(6): 594-598.
- [4] 方之平,潘黔生,赵雅心,等. 5 种肽激素在黄鳍消化道内分泌细胞中的分布特点[J]. 解剖学报, 2003, 34(5): 560-563.
- [5] 林树根,吴德峰,王寿昆. 日本鳊鱼胃肠胰内分泌细胞的鉴别与定位[J]. 水产学报, 2003, 27(6): 513-518.
- [6] 方永强,翁幼竹,胡晓霞,等. 鳊鱼胃肠道内分泌细胞免疫组织化学的定位[J]. 水产学报, 2002, 26(6): 481-485.
- [7] 潘黔生,方之平. 几种激素在鳊鱼胃肠道内分泌细胞中存在的免疫细胞化学证据[J]. 水生生物学报, 2001, 25(6): 565-569.
- [8] 潘黔生,方之平. 鱼类胃肠胰内分泌系统 APUD 细胞研究的现状[J]. 水生生物学报, 1995, 19(3): 275-282.
- [9] 舒妙安,徐海圣,朱有法. 黄鳍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.

The localization of G cell in the digestive tract in five kinds of marine fish

HAN Shi-zhao¹, ZHU Ai-jia², YE Hai-hui¹, HUANG Hui-yang¹

(1. Department of Oceanography, Institute of Subtropical Oceanography of Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. South China Sea Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China)

Received: Oct. , 8, 2004

Key words: marine fish; digestive tract; gastrin cell; immunohistochemistry

Abstract: By using the gastrin antiserum and the immunohistochemical method of Streptavidin Peroxidase (S-P), the investigation on the distributions of G cells in the digestive tract of *Bostrichthys sinensis*, *Sparus latus*, *Paralichthys olivaceus*, *Siganus fuscescens* and *Boleophthalmus pectinirostris* was made. The distributions of the G cells are as follows: In *Bostrichthys sinensis*, the G cells are mainly located in intestine, rarely in rectum; In *Sparus latus*, the G cells were only observed in intestine, none in any other parts of the digestive tract; In *Paralichthys olivaceus*, the G cells were observed numerously in stomach pyloricus and intestine; In *Siganus fuscescens*, the G cells were distributed in pyloric caecum and intestine; In *Boleophthalmus pectinirostris*, the G cells were observed in stomach cariacus, stomach pyloricus and intestine, mainly located in stomach pyloricus. The G cells were detected mainly in the stomach and intestine in 5 kinds of marine fish, the results show that the gastrin was correlated with function of digestion and absorption. The G cells were of polymorphism in 5 kinds of marine fish. It was suggested that the gastrin might exert the digestive physiology in different modes of endocrine.

(本文编辑: 刘珊珊)