

# 长爪沙鼠肠道 5-羟色胺细胞密度的季节变化

张志强<sup>1,2</sup> 刘全生<sup>1Δ</sup> 王德华<sup>†</sup>

(1中国科学院动物研究所, 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101)

(2安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036)

**摘要:** 为探讨季节性环境对长爪沙鼠肠道 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 细胞密度动态的影响, 于 2003 年 11 月 (冬季) 和 2004 年 7 月 (夏季), 采用卵白素-生物素-过氧化物酶复合物 (avidin-biotin-peroxidase complex, ABC) 免疫组织化学法, 对其肠道 5-HT 细胞进行了定位研究。结果显示: 5-HT 细胞主要分布于肠上皮基底部和肠腺上皮中, 多呈圆形或椭圆形, 少数呈长棒状、锥体形或不规则形, 其形态学特征无季节性差异。冬季在小肠密度最高, 十二指肠、盲肠和直肠其次, 结肠最低; 夏季在小肠和十二指肠密度最高, 其它各段密度相似, 这可能与食物质量的季节性变化有关。除十二指肠和结肠外, 冬季肠道各段的密度都高于夏季, 这有利于提高处理和消化食物的能力, 是对冬季食物质量和摄食量增加的适应。5-HT 细胞的形态学特征和季节动态说明, 长爪沙鼠肠道在细胞水平上可对环境条件的变化产生反应, 具有适应性调节的能力。

**关键词:** 肠道; 5-羟色胺; 免疫组织化学; 季节; 食物质量; 长爪沙鼠

中图分类号: Q494

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2009) 02- 0167- 05

## Seasonal variations in densities of 5-hydroxytryptamine immunoreactive cells in the gut of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*)

ZHANG Zhiqiang<sup>1,2</sup>, LU Quansheng<sup>1Δ</sup>, WANG Dehua<sup>†</sup>

(1 State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China) (2 College of Animal Science and Technology, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China)

**Abstract** To explore the relationship between the density of 5-Hydroxytryptamine (5-HT) cells and seasonal environmental conditions, localizations and comparisons of 5-HT-immunoreactive (IR) cells in the five portions (duodenum, small intestine, caecum, colon and rectum) of the gut in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) were studied in both late November (winter) in 2003 and July (summer) in 2004, respectively, using an avidin-biotin-peroxidase complex immunohistochemical method. 5-HT-IR cells were distributed mainly in the basal portion of the epithelium of the gut and epithelium of the gut gland, and showed similar morphological features both in winter and in summer. Most of 5-HT-IR cells were round or oval in shape, while fewer were long-bar, cone, or irregular in shape. In winter, the number of 5-HT-IR cells was the highest in the small intestine, fewer in the duodenum, caecum and rectum, and the lowest in the colon. In summer, the highest densities of 5-HT-IR cells were located in the duodenum and small intestine; densities were lower and similar in the other portions of the gut. The distribution of 5-HT-IR cells in different seasons may be related to the seasonal changes of food components. Except for the duodenum and colon, the cell densities of the other portions of the gut in winter were significantly higher than those of summer, which is beneficial for enhancing digestion and assimilation, may be an adaptive strategy to deal with differences in food quality and the increased food intakes needed to survive winter successfully. Both morphological features and seasonal dynamics of 5-HT-IR cells suggested that, at the cellular level, the gut of Mongolian gerbils can respond to complex environmental conditions, and this has adaptive regulation functions.

**Key words** Food quality; Gut; 5-Hydroxytryptamine (5-HT); Immunohistochemistry; Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*); Season

消化道作为动物体消化和吸收食物的场所, 其形态结构的变化与食性、食物质量和能量需求等因

基金项目: 科技部 973 资助项目 (2007BC109103); 中国科学院知识创新工程资助项目 (KSCX2-YW-N-06)

作者简介: 张志强 (1973-), 男, 博士, 副教授, 主要从事脊椎动物生理生态学研究。

收稿日期: 2008-09-08 修回日期: 2008-12-26

\* 通讯作者, corresponding author. E-mail: wangdl@ioz.ac.cn

Δ 现在工作单位: 华南濒危动物研究所

素密切相关 (Gross *et al.*, 1985)。5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 是参与调节胃肠道运动和分泌功能的重要内分泌细胞类型之一, 主要由肠粘膜层的嗜铬细胞 (enterochromaffin cells, EC) 分泌产生, 可局部调节胃肠道的兴奋和抑制, 形成由近端向远端的蠕动反射 (Solcia *et al.*, 1975; 丁健华等, 2005)。目前, 关于实验大鼠 (黄威权等, 1987) 和不同品系实验小鼠胃肠道 5-HT 细胞的结构、功能及其与疾病的关系研究较多 (Ku *et al.*, 2002, 2003, 2004a, 2004b)。对野生哺乳动物的研究发现, 肠道 5-HT 细胞密度高峰具有物种特异性和多样性, 如十二指肠 (Lee *et al.*, 1991)、空肠 (杨贵波等, 1995)、结肠 (Ohara *et al.*, 1986) 和直肠 (Kitamura *et al.*, 1990) 等部位都会出现高密度区, 这可能与各自的食性和分类地位有关 (杨贵波等, 1995)。此外, 取食行为不同也能影响肠道 5-HT 细胞的分布型 (杨贵波等, 1995; 杨贵波和王平, 1996)。在种内, 改变食物组成可引起大鼠胃肠道 5-HT 细胞的密度和分布型发生变化 (杨贵波和王平, 1997), 但在野生鼠中, 尚缺乏相关研究。

长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) 是一种栖息于典型草原和荒漠草原非冬眠群居性的小哺乳动物, 春、夏季主食植物的茎、叶, 秋、冬季主要以农作物的种子或草籽为食 (王梦军等, 1998)。室内实验表明, 当改变食物质量时, 长爪沙鼠消化器官的重量和长度、消化物滞留时间, 以及小肠的消化酶活性均可发生可塑性变化 (Pei *et al.* 2001; Liu and Wang 2007)。但在野外条件下, 关于长爪沙鼠肠道内分泌细胞的形态学特征和密度动态是否存在季节波动, 尚不清楚。探讨季节性环境对肠道 5-HT 细胞密度变化的影响, 可从细胞水平上阐明肠道形态学特征与其功能的关系, 进一步说明动物的消化适应策略。本文以长爪沙鼠为对象, 于 2003 年冬季和 2004 年夏季, 对其肠道 5-HT 细胞的分布型和密度进行了比较, 我们预测: 1) 由于食物质量的季节性转换, 冬、夏季长爪沙鼠具有不同的肠道 5-HT 细胞的分布型; 2) 与冬季摄食量增加和严酷的环境条件相适应, 长爪沙鼠肠道各段 5-HT 细胞的相对数量冬季高于夏季。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

实验用长爪沙鼠于 2003 年 11 月下旬 (冬季)

和 2004 年 7 月下旬 (夏季) 捕于内蒙古太仆寺旗, 该地区为撂荒地与农作物并存的农牧交错区。每一季节随机选取成年雄性长爪沙鼠各 5 只, 冬、夏季平均体重分别为  $47.6 \pm 0.3$  g 和  $45.6 \pm 0.2$  g, 平均体长分别为  $10.7 \pm 0.4$  cm 和  $10.4 \pm 0.2$  cm。饥饿 24 h 后, 断头处死, 迅速取出消化道, 浸于 PBS 缓冲液 (pH = 7.4, 浓度为 0.01 mol/L) 中, 截取盲肠、十二指肠、小肠、结肠和直肠各段, 每段各约取 1 cm。在 PBS 中洗净后, 投入无冰醋酸的 Bouin's 液中, 固定 18~24 h 后, 蒸馏水浸洗 3 h, 50% 酒精脱水 2 h, 置于 70% 的酒精中 12 h, 常规脱水、透明、石蜡包埋, 切片厚 5~7  $\mu$ m, 贴片。

### 1.2 主要试剂

兔抗人多克隆 5-HT 抗血清和卵白素-生物素-过氧化物酶复合物 (avidin-biotin-peroxidase complex, ABC) 免疫组织化学试剂盒购于北京中杉金桥生物技术有限公司。5-HT 产品代号为 ZA-0231, 稀释倍数为 1:100, 由美国 ZYMED 公司生产。

### 1.3 免疫组织化学方法

以 ABC 免疫组织化学方法对 5-HT 细胞定位。为消除内源性过氧化物酶的影响, 脱蜡后的切片浸于 3% 的  $H_2O_2$ -甲醇溶液中 15 min。一抗 (激素抗血清) 孵育条件为 4  $^{\circ}C$ , 16 h, 置于冰箱内的湿盒中孵育; 生物素化二抗 (羊抗兔 IgG 抗血清) 和 ABC 的孵育均为湿盒内室温 1 h, 孵育后均用 PBS 缓冲液浸洗 3 次, 每次 3 min, DAB- $H_2O_2$  显色, 显微镜动态监测染色过程, 每张切片约染 8~10 s, 浸入 PBS 缓冲液中, 苏木精复染, 常规脱水透明, 封片。对照实验采用正常血清和 PBS 代替一抗, 其余步骤同上。用 GSM 显微图像分析管理系统 (版本号: 3.13, 产品编号: HM 306) 拍照。

### 1.4 统计分析

在 Olympus BH-2 型显微镜下观察, 对每只实验个体肠道的每个部位随机取 50 个 400 倍视野进行计数 (每间隔 10 张切片计数 1 张切片上的阳性细胞数, 共计数 5 张, 每张计数 10 个视野), 取平均值表示 5-HT 细胞的密度。对同一季节十二指肠、小肠、盲肠、结肠和直肠各段 5-HT 细胞的密度差异, 用单因素方差 (One Way ANOVA) 分析进行统计学处理; 对不同季节十二指肠、小肠、盲肠、结肠和直肠段 5-HT 细胞密度的差异用独立样本 *t* 检验 (Independent sample *t* test) 进行处理。文中数值均以平均值  $\pm$  标准误 (Mean  $\pm$  SE) 表示,

$P < 0.05$  (双尾检验) 为差异显著。

## 2 结果

经染色处理的切片背景均呈淡蓝色, 5-HT 免疫反应阳性细胞细胞质呈深棕色, 细胞核无色。对照组均为阴性反应, 呈均一的淡蓝色。

### 2.1 5-HT细胞的形态学特征

冬、夏季肠道 5-HT 细胞均分为开放型和闭合型

型两种类型。在形态学上, 开放型细胞呈圆锥形 (图 1-1)、长棒状 (图 1-2)、楔形或三角形, 主要分布于肠上皮和肠腺上皮中, 一些细胞具有细胞质突起伸向肠腔 (图 1-3), 也有少量细胞具有突起伸向邻近细胞 (图 1-4)。闭合型细胞呈圆形 (图 1-5) 或椭圆形 (图 1-6), 主要分布于肠上皮的基底部。

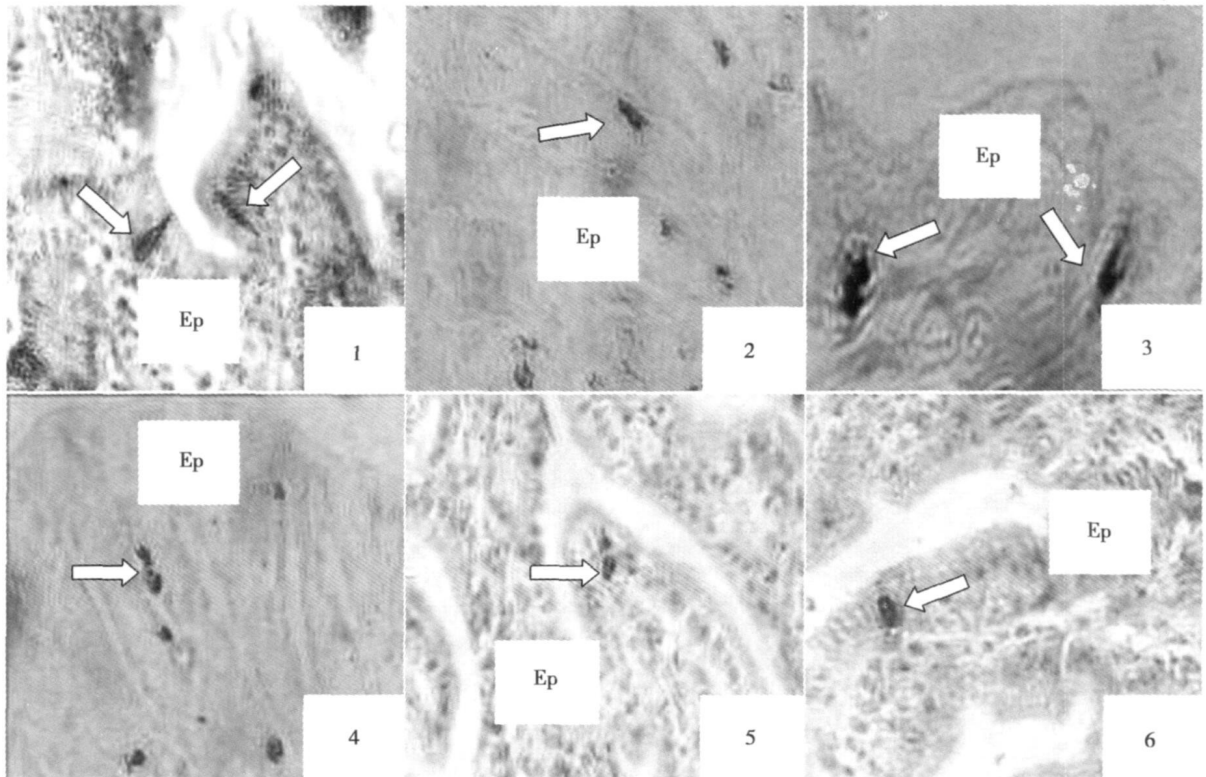


图 1 5-HT细胞的形态学特征 .1: 肠道圆锥形 5-HT细胞; 2: 肠道长棒状 5-HT细胞; 3: 肠上皮有细胞质突起伸向肠腔的 5-HT细胞; 4: 肠上皮有细胞质突起伸向邻近细胞的 5-HT细胞; 5: 肠上皮基底部的圆形的 5-HT细胞; 6: 肠上皮基底部的椭圆形的 5-HT细胞 .Ep 上皮层; 白箭头所示为 5-HT细胞, 放大倍数均为  $\times 200$ 。

Fig. 1 Morphological character of 5-Hydroxytryptamine (5-HT) cell 1: Cone-shaped 5-HT cells in the gut 2: Long bar-shaped 5-HT cells in the gut 3: 5-HT cells with cytoplasmic processes which extended to the intestine lumen in the epithelium of gut 4: 5-HT cells with cytoplasmic processes which extended to the adjacent cells in the epithelium of gut 5: Round 5-HT cells in the basal portions of the epithelium of the gut 6: Oval 5-HT cells in the small intestine in winter Ep: Epithelium; White arrows refer to 5-HT cells, magnification,  $\times 200$ .

### 2.2 不同季节肠道 5-HT 细胞的密度

冬季小肠段密度最高, 十二指肠、盲肠和直肠其次, 结肠最低 ( $F_{(4, 24)} = 9.824, P < 0.05$ )。夏季十二指肠和小肠密度最高, 盲肠、结肠和直肠接近, 但都显著低于十二指肠和小肠 ( $F_{(4, 24)} = 12.023, P < 0.05$ ) (图 2)。

除十二指肠 ( $t = 0.104, df = 8, P > 0.05$ ) 和结肠 ( $t = 0.605, df = 8, P > 0.05$ ) 外, 冬季小肠 ( $t = 3.688, df = 8, P < 0.05$ )、盲肠 ( $t = 20.077,$

$df = 8, P < 0.05$ ) 和直肠 ( $t = 4.156, df = 8, P < 0.05$ ) 的密度都显著高于夏季 (图 2)。

## 3 讨论

长爪沙鼠肠道 5-HT 细胞可分为开放型和闭合型两种类型, 这与大鼠和其他哺乳动物的研究结果一致 (黄威权等, 1987; 杨贵波等, 1995; 杨贵波和王平, 1996)。有些细胞具有突起伸向肠腔或邻近细胞, 这为外分泌和旁分泌方式的存在提供了形

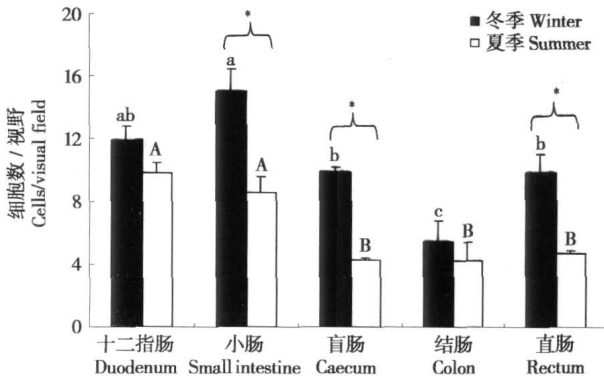


图2 不同季节长爪沙鼠肠道5-羟色胺细胞的密度(细胞数/400倍视野)。\*表示不同季节同一部位之间5-羟色胺细胞的密度差异显著( $P < 0.05$ ),不同字母表示同一季节不同部位之间5-羟色胺细胞的密度差异显著( $a > b > c$ ,  $A > B$ ,  $P < 0.05$ )。

Fig. 2 The densities of 5-hydroxytryptamine immunoreactive cell in the gut of Mongolian gerbils (*Meriones uinguiolatus*) in different seasons (cells/400 times visual field). The asterisk represents significant differences of densities of 5-hydroxytryptamine (5-HT) cells for the same portion in different seasons ( $P < 0.05$ ). The different letters represent significant differences of densities of 5-HT cells for the different portions in the same season ( $a > b > c$ ,  $A > B$ ,  $P < 0.05$ ).

态学证据,可能与5-HT刺激胃肠粘液分泌和平滑肌收缩的生理功能有关(Solcia et al., 1975)。从形态学特征来看,不同季节之间未见差异,说明在细胞水平上长爪沙鼠肠道结构未发生明显变化。

冬、夏季长爪沙鼠肠道5-HT细胞的密度都以小肠为最高,结肠最低。中华竹鼠(*Rhizomys sinensis*, 杨贵波和王平, 1996)和灰松鼠(*Sciurus vulgaris*, Lee et al., 1991)在十二指肠处密度最高,而大鼠在十二指肠和结肠(黄威权等, 1987),日本田鼠(*Microtus montebelli*, Ohara et al., 1986)在结肠,臭鼩(*Suncus murinus*)则在直肠处最高(Kitamura et al., 1990)。大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)中,空肠的密度高于十二指肠(杨贵波等, 1995)。这表明,哺乳动物肠道5-HT细胞的分布型具有物种特异性和多样性,这与动物的分类地位关系不大,可能与物种的食性差异有关(杨贵波和王平, 1996)。研究发现,食性相似的中华竹鼠和大熊猫5-HT细胞的密度高峰都位于小肠前半区(杨贵波等, 1995; 杨贵波和王平, 1996)。杨贵波和王平(1997)发现,改变食物中非淀粉多糖的含量,可以影响大鼠肠道5-HT细胞的数量和分布型。冬、夏季长爪沙鼠肠道5-HT细胞的密度高峰和低谷表现一致,但具体的分布模式不同:冬季直肠的密度显著高于结肠,而夏季两个部位的

密度彼此接近。长爪沙鼠夏季主食植物的茎、叶,冬季主要以农作物的种子或草籽为食(王梦军等, 1998)。5-HT可通过调节肠道局部的兴奋和抑制使胃肠道形成由近端向远端的蠕动反射,或直接作用于一些肠神经元和肌细胞等效应器来调节肠道运动(丁健华等, 2005)。长爪沙鼠的小肠和十二指肠中5-HT细胞数量较多,与肠道受到机械和化学刺激较强,蠕动频率较快有关,能促进消化和吸收过程。夏季由于食物中水分和纤维素含量较高,形成的粪粒较疏松,盲肠、结肠和直肠中都含有密度相似的5-HT细胞,能促进食物的排空;冬季结肠部位的5-HT细胞数量下降,直肠又略有回升,可能与冬季食物中的水分含量下降,形成的粪粒较干燥,对肠腔的机械作用加强有关。

除十二指肠和结肠外,长爪沙鼠冬季小肠、盲肠和直肠的5-HT细胞密度都显著高于夏季,这可能与长爪沙鼠食物质量的季节性更替和变化的环境条件有关。严冬季节,长爪沙鼠主要以秋季贮存的农作物的种子或草籽为食,食物的颗粒较小,营养较高;而随着夏季植物生长旺季的到来,食物资源较丰富,但食物的质量相对较差,植物茎叶的纤维素和水分含量都高于种子。实验室条件下,取食高纤维食物时,长爪沙鼠消化道总长度和总重量增加不显著,消化道内容物总重量、小肠的重量,以及盲肠的长度和重量显著增加(Pei et al., 2001)。与标准食物相比,喂食经过纤维素稀释后的食物,长爪沙鼠小肠的长度增加,但重量不变,盲肠和结肠的长度和重量都增加(Liu and Wang, 2007)。上述研究结果说明,长爪沙鼠消化器官的长度和重量的变化具有可塑性。而在野外条件下,消化器官的适应性变化除受食物质量影响外,也受光周期和温度等因素的影响。在细胞水平上,冬季单位面积小肠、盲肠和直肠的5-HT细胞的数量显著高于夏季,随着肠道长度的延长,肠道各段的5-HT细胞的数量必将大幅度提高,其分泌物有利于参与调节摄食过程。EC细胞对肠腔内的压力和化学刺激非常敏感,一旦肠腔内压力升高即可分泌5-HT,十二指肠和小肠是消化和吸收食物的主要场所,较高的5-HT细胞密度保证了对所获食物资源的处理效率。冬季小肠段的5-HT细胞数量显著高于夏季,这与冬季摄食量的增加和消化效率的提高是一致的。盲肠的数量较多,可能与冬季食物质量较高,食物残渣中可重新吸收的营养物质较多有关;长爪沙鼠冬季的粪粒较夏季干燥,水分含量相对较低,

直肠数量较多的 5-HT 细胞能促进平滑肌蠕动, 有利于粪粒的排出。

我们的研究结果表明, 长爪沙鼠肠道 5-HT 细胞的形态学特征无季节差异, 但密度具有季节差异。5-HT 细胞密度的季节动态, 反映出长爪沙鼠具有适应不同食物质量和生活环境的能力。在冬季, 肠道 5-HT 细胞的密度明显升高, 其数量与动物处理和消化食物的能力有关, 这是提高冬季生存适应能力, 满足其高能量需求的生理学机制之一。

致谢: 感谢中国科学院动物研究所钟文勤研究员, 太仆寺旗植保站刘文东站长对野外工作的支持和帮助。感谢中国科学院动物研究所动物生理生态学研究组全体成员对论文初稿所提出的修改建议。感谢安徽农业大学动物科技学院陶勇博士为拍摄照片提供的方便条件。

#### 参考文献:

- Ding JH, Fu CG, Zhao RH. 2005. Research progress of the effects of 5-HT on functional diseases in the gut. *World Chinese Journal of Digestology*, **13**: 2405-2408. (in Chinese)
- Gross JE, Wang ZW, Wunder BA. 1985 Effects of food quality and energy needs changes in gut morphology and capacity of *Microtus ochragaster*. *J Mammal*, **66**: 661-667.
- Huang WQ, Huang ZM, Wang WC. 1987. The distribution and morphological observation of 5-HT-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of rat. *Acta Anat Sin*, **18**: 422-424. (in Chinese)
- Kiama N, Yanada J, Watanabe T, Yanashita T. 1990. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the musk shrew, *Suncus murinus*. *Histol Histopathol*, **5**: 83-88.
- Ku SK, Lee H S, Lee JH, Park K D. 2002. The regional distribution and relative frequency of gastrointestinal endocrine cells in SKL-1 hairless mice: an immunohistochemical study. *Anat Histol Embryol* **31**: 78-84.
- Ku SK, Lee H S, Lee JH. 2003. An immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells in the C57BL/6 mice. *Anat Histol Embryol*, **32**: 21-28.
- Ku SK, Lee H S, Lee JH. 2004a. An immunohistochemical study of gastrointestinal endocrine cells in the BALB/c mouse. *Anat Histol Embryol*, **33**: 42-48.
- Ku SK, Lee H S, Lee JH. 2004b. An immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells in the ddY mice. *J Vet Sci*, **5**: 87-95.
- Lee H S, Hasimoto Y, Kon Y, Sugimura M. 1991. An immunohistochemical study of the gastro-entero-pancreatic endocrine cells in the alimentary tract of the Korean tree squirrel *Sciurus vulgaris corea*. *Jpn J Vet Res* **39**: 117-131.
- Liu Q S, Wang DH. 2007. Effects of diet quality on phenotypic flexibility of organ size and digestive function in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *J Comp Physiol B*, **177**: 509-518.
- Ohara N, Kiama N, Yanada J, Yanashita T. 1986. Immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine cells of the herbivorous Japanese field vole *Microtus montebelli*. *Res Vet Sci*, **41**: 21-27.
- Pei Y X, Wang DH, Hume ID. 2001. Effects of dietary on digesta passage, nutrient digestibility, and gastrointestinal tract morphology in the granivorous Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Physiol Biochem Zool*, **74**: 742-749.
- Solcia E, Capella C, Vassallo G, Buffa R. 1975. Endocrine cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol* **4**: 223-286.
- Wang M J, Zhong W Q, Wan X R. 1998. Ecology and management of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). In: Zhang Z B, Wang Z W eds. Ecology and management of rodent pests in agriculture. Beijing: China Ocean Press, 209-238. (in Chinese)
- Yang G B, Chen M S, Deng Z P, Wang P. 1995. The distribution of endocrine cells in the gut mucosa of the giant panda. *Acta Theriol Sin*, **15**: 4-10. (in Chinese)
- Yang G B, Wang P. 1996. Distribution of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the Chinese bamboo rat (*Rhizomys sinensis*). *Acta Theriol Sin*, **16**: 303-308. (in Chinese)
- Yang G B, Wang P. 1997. Effects of food composition on enterochromaffin cells in the gut mucosa of rat. *Acta Zool Sin*, **43**: 55-60 (in Chinese)
- 丁建华, 傅传刚, 赵荣华. 2005. 5-羟色胺在胃肠道功能性疾病中的研究现状. *世界华人消化杂志*, **13**: 2405-2408
- 王梦军, 钟文勤, 宛新荣. 1998. 长爪沙鼠的生态学及控制对策. 见: 张知彬, 王祖望主编. 农业重要害鼠的生态学和控制对策. 北京: 海洋出版社, 209-238.
- 杨贵波, 陈茂生, 邓泽沛, 王平. 1995. 大熊猫胃肠道内分泌细胞分布型的研究. *兽类学报*, **15**: 4-10.
- 杨贵波, 王平. 1996. 中华竹鼠胃肠道内分泌细胞分布型的研究. *兽类学报*, **16**: 303-308.
- 杨贵波, 王平. 1997. 改变食物组成对大鼠胃肠道嗜铬细胞的影响. *动物学报*, **43**: 55-60.
- 黄威权, 黄宗明, 王文超. 1987. 大鼠胃肠道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布及形态学观察. *解剖学报*, **18**: 422-424.