

## 大熊猫胃肠道内分泌细胞分布型的研究

杨贵波 陈茂生 邓泽沛 王 平

(北京大学生命科学院, 北京, 100871)

## 摘 要

本文用 PAP 法对 3 只大熊猫胃底、幽门腺区、十二指肠、空肠、回肠、结肠和直肠的五羟色胺、生长抑素、胃素、胆囊收缩素、神经降压素、胃动素、抑胃多肽、胰高血糖素、血管活性肠肽和内啡肽的 IR 细胞进行了研究。结果表明, 大熊猫胃肠道粘膜上皮中具有前八种 IR 细胞。对 7 年龄个体胃肠各段相对数量的比较和各段内分布情况的观察结果表明, 除五羟色胺 IR 细胞在空肠分布较多外, 大多数种类的 IR 细胞集中分布于幽门区和十二指肠, 幽门区的 IR 细胞主要集中在腺颈部附近。与已有的研究比较, 大熊猫胃肠道中五羟色胺、胆囊收缩素、胰高血糖素、生长抑素 IR 细胞的分布型较为特殊, 可能与其特殊的食性和分类地位有关。

关键词 大熊猫; 胃肠道; 内分泌细胞; 分布

大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 为食肉目动物, 但由于长期以竹类为主食 (潘文石等, 1988; 胡锦涛, 1990), 胃肠道的大体 (北京动物园等, 1986) 和显微 (王平等, 1983, 1989) 形态结构发生了深刻的适应变化。但尚无胃肠道内分泌细胞 (GIEC) 的种类、数量和分布的适应性变化的报道。由于 GIEC 在胃肠神经和体液调节中具有重要的作用, 因此本文用免疫组化方法对 GIEC 的种类、数量和分布作一初步探讨, 以期进一步理解大熊猫胃肠功能及其对食物的适应, 从而为大熊猫的饲养和保护提供理论依据。

## 材料和方法

取病死后保存于 10% 福尔马林的年龄为 75 日、1 年和 7 年的雄性大熊猫的胃底

表 1 本文所用抗血清一览表

Table 1 List of the antisera used in this paper

所用抗原 Antigen of the antisera	代号 Codes	工作浓度 Working dilution	交叉反应 Cross reaction	来源 Source
五羟色胺 (5-HT)	Lot, 8310027	1: 10000	—	INC
胆囊收缩素 (CCK)	Lot, 8343012	1: 8000	gastrin	INC
胰高血糖素 (Glu)	Gl-5	1: 2000	—	N. Yanaihara
胃动素 (Mot)	R-1104	1: 1000	—	N. Yanaihara
胃素 (Gaw)	GP-1304	1: 5000	—	N. Yanaihara
抑胃多肽 (GIP)	Lot, 924	1: 1000	—	CRB
生长抑素 (SS)	—	1: 1000	—	M. Suzuki
神经降压素 (NT)	R-3501	1: 1000	—	N. Yanaihara
血管活性肠肽 (VIP)	R-502	1: 2000	—	N. Yanaihara
内啡肽 (End)	—	1: 500	—	JCC

• 本文于 1994 年 5 月 16 日收到, 1994 年 10 月 7 日收到修改稿

腺区、幽门腺区、十二指肠、空肠、回肠、结肠和直肠(王平等, 1983, 1989), 常规石蜡切片, 厚 5—7 $\mu$ m。用 PAP 法使胃肠内分泌细胞染成棕黄色 (Sternberger, 1979)。所用抗血清见表 1, 使用过程中对工作浓度作了适当调整。对每个个体胃肠粘膜内免疫反应阳性 (IR) 细胞的种类和分布区作了观察, 并统计了 7 年龄个体胃和小肠中 IR 细胞的数量 (各 5 张切片, 每一切片抽取 10 个 200 倍视野)。为便于比较, 文中皆使用频率。

## 结 果

### 1. 胃肠胺类和肽类活性物质 IR 细胞种类和分布

在 7 年龄和 75 日龄个体中均检测出 8 种 IR 细胞 (表 2)。3 只个体间检出的免疫反应阳性细胞在分布部位和范围等方面存在一定的差异, 如 5-HT、CCK 和 Gas 在 7 年龄个体中有较广泛的分布, 而在 75 日龄个体中仅局限于某一部位。

表 2 IR 细胞在不同年龄大熊猫胃肠中出现的部位

Table 2 The sites of occurrence of immunoreactive cells in the gut of the giant panda of different ages

抗原 Antigen	年龄 Ages	胃底 1 区 Fundus 1	胃底 2 区 Fundus 2	幽门腺区 Pylorus	十二指肠 Duodenum	空 肠 Jejunum	回 肠 Ileum	结 肠 Colon	直 肠 Rectum
5-HT	75d		—	—	+	—	—	—	—
	1y		—	—	—	—	—	—	—
	7y	+	+	+	+	+	+	—	—
CCK	75d		—	—	+	—	—	—	—
	1y		—	+	—	—	—	—	—
	7y	+	+	+	+	+	+	—	—
Gas	75d		—	—	+	—	—	—	—
	1y		—	+	+	—	—	—	—
	7y	—	—	+	+	+	+	—	—
GIP	75d		—	—	—	+	+	+	+
	1y		—	—	—	—	+	—	—
	7y	—	—	—	+	+	+	—	—
Mot	75d		—	—	—	+	+	—	—
	1y		—	—	—	—	—	—	—
	7y	—	—	—	+	+	—	—	—
NT	75d		—	—	—	—	+	+	—
	1y								
	7y	—	—	—	—	—	+	—	—
Glu	75d		—	—	—	+	+	+	+
	1y		—	+	—	—	—	—	—
	7y	—	—	—	+	+	+	—	—
SS	75d		—	—	+	—	—	—	—
	1y		—	—	—	—	—	—	—
	7y	—	—	+	+	—	—	—	—
VIP	75d		—	—	—	—	—	—	—
	1y		—	—	—	—	—	—	—
	7y	—	—	—	—	—	—	—	—
End	75d		—	—	—	—	—	—	—
	1y		—	—	—	—	—	—	—
	7y	—	—	—	—	—	—	—	—

注: 表左列 GIEC 分泌物所含抗原中文名称见表 1 左列 (以下各表同); 75d=75 日; 1y=1 年; 7y=7 年

### 2. 胃肠道各部位间 GIEC 分布的比较

在 7 年龄大熊猫胃肠道不同段间 IR 细胞分布的多少有所不同, 如幽门腺区有 90% 胃素的 IR 细胞, 而回肠中仅分布 1%; 不同种类的 IR 细胞在胃肠中出现的高频部位也有不同, 如胆囊收缩素 IR 细胞在幽门腺区分布频率最高, 而胰高血糖素 IR 细胞则在回肠分布频率最高 (表 3)。

表 3 7 年龄大熊猫胃与小肠粘膜中 IR 细胞的分布频率

Table 3 Frequency of occurrence of the immunoreactive cells in the stomach and the small intestine of the 7-year old giant panda

抗原 Antigen	胃底 1 区 Fundus 1	胃底 2 区 Fundus 2	幽门腺区 Pylorus	十二指肠 Duodenum	空 肠 Jekunum	回 肠 Ileum
5-HT	0.09	0.07	0.25	0.21	0.31	0.07
CCK	0.05	0.01	0.49	0.16	0.28	0.01
Glu	0.00	0.00	0.00	0.08	0.07	0.84
Mot	0.00	0.00	0.00	0.53	0.47	0.00
Gas	0.00	0.00	0.90	0.05	0.04	0.01
GIP	0.00	0.00	0.00	0.24	0.38	0.38
SS	0.00	0.00	0.98	0.02	0.00	0.00
NT	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

### 3. 小肠各部位内 GIEC 分布的比较

7 年龄个体小肠绒毛上部、下部及肠腺间各种 IR 细胞数占该部位内各种阳性细胞总数的比例 (表 4) 表明: 除胃素、抑胃多肽、胃动素和生长抑素的 IR 细胞外, 其余 4 种细胞的分布, 是远端肠腺粘膜中 IR 细胞小于其前端肠腺粘膜中 IR 细胞所占相应肠段粘膜中总的 IR 细胞的百分数。但总的看来, 小肠中 IR 细胞多数集中于腺上皮中, 且主要分布于腺的中下部。而在幽门腺区则主要分布于腺的颈部和小凹底部。胃底的泌酸腺区的 IR 细胞也是以腺中下部为主要分布区。

表 4 7 年龄个体小肠各段内 IR 细胞的分布

Table 4 Distribution of immunoreactive cells within each segment of the small intestine of the 7-year old giant panda

部 位 Sites	十二指肠 Duodenum	空 肠 Jekunum	回 肠 Ileum	十二指肠 Duodenum	空 肠 Jekunum	回 肠 Ileum
	5-HT			CCK		
绒毛上部 (UHV)	0.01	0.01	0.10	0.00	0.01	0.00
绒毛下部 (LHV)	0.04	0.05	0.24	0.01	0.01	0.06
小肠肠腺 (CL)	0.95	0.94	0.66	0.99	0.98	0.94
	Glu			Mot		
绒毛上部 (UHV)	0.07	0.00	0.13	0.05	0.01	0.00
绒毛下部 (LHV)	0.07	0.17	0.21	0.11	0.02	0.00
小肠肠腺 (CL)	0.86	0.83	0.66	0.84	0.97	0.00
	Gas			GIP		
绒毛上部 (UHV)	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
绒毛下部 (LHV)	0.09	0.15	0.08	0.05	0.02	0.13
小肠肠腺 (CL)	0.91	0.78	0.92	0.95	0.98	0.88
	SS			NT		
绒毛上部 (UHV)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.44
绒毛下部 (LHV)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.13
小肠肠腺 (CL)	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.42

Note: UHV—the upper half of the villi; LHV—the lower half of the villi; CL—the cripts of Lieberkuhn

## 讨 论

五羟色胺 IR 细胞普遍存在于哺乳动物的胃肠粘膜中。已有研究表明,这些细胞出现频率最高的区域可以是幽门窦 (Yamada, 1984, 1988)、十二指肠 (Lee 等, 1991)、结肠 (Ohara 等, 1986) 和直肠 (Kitamura 等, 1990)。目前还未见 5-HT 在空肠分布频率高于幽门区或十二指肠的报道。大熊猫五羟色胺 IR 细胞在空肠频率最高的分布型可能是比较特殊的。胰高血糖素 IR 细胞多见于哺乳动物胃底腺区 (Lee 等, 1991; Kitamura 等, 1984; Ravazzola 等, 1979; Ohara 等, 1986; Kitamura 等, 1982)。也有见于整个胃肠道的报道 (Kawano 等, 1983; Kitamura 等, 1990; Yamada, 1984)。在奶牛 (Kitamura 等, 1985) 和水牛 (李克平等, 1988) 中仅见于肠道中。大熊猫的分布情况与大多数动物都不相同, 唯与奶牛和水牛中的分布相似。生长抑素 IR 细胞在胃肠道中分布范围较大, 一般在幽门腺区 (Lee 等, 1991; Kitamura 等, 1985; Kitamura 等, 1990; Kitamura 等, 1982; Kawano 等, 1983; Yamada, 1984, 1988) 或胃底泌酸腺区 (Kitamura 等, 1984; Keast 等, 1987; Ohara 等, 1986) 分布最丰富。大熊猫的生长抑素 IR 细胞仅见于幽门和十二指肠腺处的粘膜中, 分布区较小, 数量也较少。大多数动物的胆囊收缩素 IR 细胞多见于肠道中 (Kitamura 等, 1982, 1984, 1985), 偶尔见于一些动物的幽门腺区 (Ohara 等, 1986)。大熊猫的胆囊收缩素 IR 细胞见于胃和小肠, 以幽门腺区最丰富, 其在胃底区的出现较特殊, 尚未见有类似报道。其胃素 IR 细胞主要分布于胃幽门腺区和小肠, 以幽门腺区最丰富, 向胃肠远端逐渐减少 (Lee 等, 1991; Kitamura 等, 1984, 1985; Kawano 等, 1983)。在盲肠、结肠 (Ohara 等, 1986) 和直肠 (Kitamura 等, 1990) 中也偶有报道。神经降压素 IR 细胞在兽类胃肠道中的分布情况似乎是相对稳定的, 主要集中在回肠, 空肠分布较少, 偶尔见于少数动物的十二指肠中 (Helmstaedter 等, 1977; Kitamura 等, 1984, 1985)。抑胃多肽 IR 细胞和胃动素 IR 细胞主要分布于小肠中 (Kitamura 等, 1985; Kawano 等, 1983; )。这 4 种细胞在大熊猫中的分布与其它动物基本相似。

从以上分析看出, 五羟色胺、胰高血糖素、生长抑素和胆囊收缩素 IR 细胞的分布范围和数量与其它动物有明显的差异, 可能是大熊猫胃肠内分泌细胞 (GIEC) 分布的主要特点。我们认为, 五羟色胺 IR 细胞等分布型变化 (种间差异) 较大的 GIEC 的分布形式与动物之间食性 (食物的组成和理化性质等) 差异很大有关, 而那些分布型较稳定的 GIEC 的分布形式则与胃肠道基本功能的维持更为相关。大熊猫是以竹类为主食的食肉目动物, 取食量大, 食物粗糙, 食糜通过肠道的时间相对较短, 可被消化吸收的糖分相对较少, 而纤维素、半纤维素等成分相对较多 (Dierenfeld 等, 1982; 胡锦鑫等, 1985; 潘文石等, 1988; 胡锦鑫, 1990)。它们胃肠道的大体结构除具食肉目动物胃肠道的一般特点外, 胃较发达, 角切迹处有明显的狭窄 (北京动物园等, 1986), 可分为由贲门区、胃底和胃体组成的前部和由幽门区组成的后部。扩大的前部明显有利于受纳大量的食物, 而发达的后部与食物中固体成分的排空相关。因此, 大熊猫胃的大体形态特征表现出对食量大和食物中固体成分多相适应。对大熊猫胃肠道的显微结构研究, 发现有单细胞和多细胞粘液腺, 小肠绒毛和肠道肌层与大熊猫食物粗糙、可吸收营养浓度低和大量食物较快地通过胃肠道相适应 (王平等, 1983)。由于 5-HT 能刺激胃肠粘液分泌、平滑肌收缩和血管扩张 (Solcia 等, 1975) 等, 所以 5-HT 细胞的分布可能与上述发生了适应变化的器官、组织和细胞功能的调节有关。因此, 大熊猫 5-HT 细胞的大量分布和特殊分

布型似乎与大熊猫的特殊食性相适应。至于 CCK 在胃底区的分布,是否与食道下括约肌的松弛和胃底的受容性扩张以适应大量地取食,胰高血糖素是否与大熊猫食物中可吸收糖分的含量有关,生长抑素是否表明大熊猫胃肠道较多地处于较高水平的功能状态等等,还有待对其分布和功能的深入研究。

大熊猫胃底腺区内分泌细胞主要零星散布于腺的中下部,小肠中主要分布于肠腺底部和绒毛下部,与其它哺乳动物的情况一致。而在幽门腺区分布的内分泌细胞则主要分布于胃小凹下部和幽门腺颈部,向底部逐渐减少,与马的生长抑素 IR 细胞和猫的生长抑素、胃素和血管活性肠肽 IR 细胞在幽门腺区的分布相一致 (Kitamura 等, 1982, 1984)。在许多其它哺乳动物中,此区胃肠内分泌细胞皆集中于腺的中下部 (Inokuchi 等, 1984; Yamada 等, 1988)。由于 GIEC 可通过自分泌、旁分泌和内分泌等方式起作用,它们的分布部位可能与接受刺激、作用对象和方式等有关。腺颈部分泌细胞可能具有既有利于接受刺激又有利于调节腺体分泌等双重优点。大熊猫幽门区内分泌细胞分布部位可能有利于接受大量刺激、释放大量调节物调控幽门区频繁而强烈的排空和腺体的分泌。似乎,这种分布形式也是对其特殊食性的适应。

尽管关于胃肠激素和活性胺类功能的报道很多。但 GIEC 弥散分布,细胞间相互调节和受神经支配等多种因素使得对它们真正生理功能的了解较少,还不足以解释胃肠内分泌细胞在胃肠道中的特殊分布型与胃肠道的整体功能的确切关系和分布型与食性的相关性。但是,一些报道指出,在个体发育中,动物进食前后和断奶前后胃肠道内分泌细胞的分布型不同,在饥饿和再喂食后也有明显的变化 (Krause 等, 1989; Koshimizu, 1983),这些从一定程度上表明 GIEC 的分布型与食物相关。一些作者基于 GIEC 种类的比较未能发现 GIEC 与食物的相关性,可能是因为真兽亚纲内 GIEC 对食物的适应不是通过细胞种类的变化,而是通过重新组织每类已有 GIEC 在各部位的分布(有无和多少),协调胃肠道整体功能来实现的。因此,对应于不同的食物有不同的胃肠道内分泌细胞分布型。由此看来,大熊猫胃肠内分泌细胞的特殊分布型可能是其长期进化过程中对特殊食性适应的结果。而对 GIEC 分布型的研究对分析胃肠形态与食物的适应关系是十分有用的。

## 参 考 文 献

- 王平,曹焯,陈茂生,李放. 1983. 大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 的组织学研究 I: 消化道的显微结构. 北京大学学报, (5): 67-78.
- 王平,陈茂生. 1989. 大熊猫的组织学研究 II. 消化道显微结构的年龄变化. 动物学报, 35 (1): 33-40.
- 北京动物园,北京大学,北京农业大学,北京第二医学院,北京自然博物馆,陕西动物研究所. 1986. 大熊猫解剖. 北京: 科学出版社.
- 李克平,方之平,叶长发. 1988. 水牛消化道五羟色胺免疫反应细胞的分布和形态学研究. 华中农业大学学报, 7 (1): 70-72.
- 胡锦鑫,夏勒,潘文石,朱靖. 1985. 卧龙的大熊猫. 成都: 四川科技出版社.
- 胡锦鑫. 1990. 大熊猫生物学研究与进展. 成都: 四川科技出版社.
- 潘文石,高邦生,吕植,夏正楷,张妙第,马荣龄,孟广礼,折晓叶,刘序倬,崔海亭,陈凤翔. 1988. 秦岭大熊猫的自然庇护所. 北京: 北京大学出版社.
- Dierenfeld E, Hintz H, Robertson J, Soest V, Oftedal O. 1982. Utilization of bamboo by the giant panda. *J Nutrition*, 112: 636-641.
- Helmstaedter V, Taugner Ch, Feurle G E, Forssmann W G. 1977. Localization of neurotensin-immunoreactive cells in the small intestine of man and various mammals. *histoch*, 53: 35-41.
- Inokuchi H, Kawai K, Takenuchi Y, Sano Y. 1984 Immunohistochemical study on the morphology of enterochromaffin

- cells in the human fundic mucosa. *Cell Tis Res*, 235, 703—705.
- Kawano H, Yamashita T, Yamada J, Kitamura N. 1983. A light microscopic study of the gastroenteropancreatic endocrine cells of the mink (*Mustela vison*). *Arch histol jap*, 46, 559—573.
- Keast J, Furness J, Costa M. 1987. Distribution of peptide-containing neurons and endocrine cells in the rabbit gastrointestinal tract, with particular reference to the mucosa. *Cell Tis Res*, 248, 565—577.
- Kitamura N, Yamada J, Calingasan N Y, Yamashita Y. 1984. Immunocytochemical distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the horse. *Equine Veterinary Journal*, 16 (2), 103—107.
- Kitamura N, Yamada J, Calingasan N, Yamashita Y. 1985. Histologic and immunocytochemical study of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cow and calf. *Am J Vet Res*, 46, 1381—1386.
- Kitamura N, Yamada J, Watanabe T, Yamashita T. 1990. An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the musk shrew, *Suncus murinus*. *Histology and Histopathology*, 5, 83—88.
- Kitamura N, Yamada J, Yamashita T. 1982. Immunocytochemical study on the glucagon cells in the feline gastric glands. *Jpn J Vet Sci*, 44, 849—851.
- Kitamura N, Yamada J, Yamashita T, Yanaiharu N. 1982. Endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cat. *Biomedical Research*, 3, 612—622.
- Koshimizu T. 1983. The Development of pancreatic and gastrointestinal somatostatin-like immunoreactivity and its relationship to feeding in neonatal Rats. *Endocrinology*, 112, 911—916.
- Krause W, Yamada J, Cutta J. 1989. Enteroendocrine cells in the developing opossum small intestine and colon. *J Anat*, 162, 83—96.
- Lee H S, Yoshiharu H, Yasuhiro K, Sugimura M. 1991. An immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine cells in the alimentary tract of the Korean tree squirrel, *Sciurus vulgaris corea*. *Jpn J Vet Res*, 39, 117—131.
- Ohara N, Kitamura N, Yamada J, Yamashita T. 1986. Immunohistochemical study of gastroenteropancreatic endocrine cells of the herbivorous Japanese field vole, *Microtus montebelli*. *Res Vet Sci*, 41, 21—27.
- Ravazzola M, Siperstein A, Moody A J, Sundby F, Jacobsen H, Orci L. 1979. Glicentin immunoreactive cells; their relationship to glucagon-producing cells. *Endocrinology*, 105, 499—508.
- Solcia E, Capella C, Vassallo G, Buffa R. 1975. Endocrine cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol*, 42, 223—286.
- Sternberger, L A. 1979. Immunocytochemistry. New York, John Wiley & Sons, 104—169.
- Yamada J, Li B, Deng Z, Kitamura N, Yamashita T, Phillips C. 1988. An immunohistochemical study of gut endocrine cells in two species of insectivorous vespertilionid bats (Chiroptera: *Pipistrellus abramus* and *Plecotus auritus sacrimontis*). *Gegenhaur's morphol Jahrb Leipzig*, 134, 1, s. 79—91.
- Yamada J, Campos V, Kitamura N, Pacheco A, Yamashita T, Caramaschi U. 1984. Immunocytochemical study of gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine cells in the vampire bat (*Desmodus rotundus*). *Gegenhaur's morphol Jahrb Leipzig*, 130, 6, s. 845—856.

## THE DISTRIBUTION OF ENDOCRINE CELLS IN THE GUT MUCOSA OF THE GIANT PANDA

YANG Guibo CHEN Maosheng DENG Zepei WANG Ping

(College of Life Sciences, Peking University, Beijing, 100871)

### Abstract

Endocrine cells containing 5-hydroxytryptamine, somatostatin, gastrin, cholecystokinin, neurotensin, motilin, gastric inhibitory polypeptide, glucagon, vasoactive intestinal peptide, and endorphin in the mucosa of the fundus, pylorus, duodenum, jejunum, ileum, colon, and rectum of 3 giant pandas were studied by PAP method to gain an insight into the adaptive characteristics for the special feeding habit. The former 8 kinds of endocrine cells were detected in the mucosa of the 75 day-old and 7 year-old giant pandas. Quantitative analyses of inter-and intra-segmental differences in the frequency of occurrence of each kind of the endocrine cells in the stomach and

small intestine of the 7 year-old individual showed that: 5-HT immunoreactive cells occur most frequently in the jejunum, which has not been observed in the other mammals. Cholecystokinin, gastrin, somatostatin immunoreactive cells occur most frequently in the pyloric antrum, while motilin immunoreactive cells occur most frequently in the duodenum, gastric inhibitory peptide, neurotensin, glucagon immunoreactive cells occur most frequently in the ileum. Endocrine cells distribute principally in the lower two-thirds of the fundic gland, near the neck portion of the pyloric gland, and in the crypts of Lieber-kuhn's gland with the exception of 57% of neurotensin immunoreactive cells distribute in the mucosa of the villus. These results indicate specific patterns of distribution of the endocrine cells in the mucosa of the giant panda, which might be related both to their specific feeding habit and their taxonomic position.

**Key words** Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*); Gastrointestinal tract; Endocrine cell; Distribution