

竹叶青蛇消化道内分泌细胞的 免疫组织化学定位*

张志强 张盛周 吴孝兵**

(安徽师范大学生命科学学院, 安徽芜湖 241000)

摘要 应用 8 种特异性胃肠激素抗血清对竹叶青蛇 (*Trimeresurus stejnegeri*) 消化道内分泌细胞进行了免疫组织化学定位。5-羟色胺细胞和生长抑素细胞在整个消化道中均有分布。5-羟色胺细胞以十二指肠和回肠密度为最高, 空肠、直肠和幽门其次, 胃体较低, 食道和贲门中偶见; 生长抑素细胞在十二指肠处数量最多, 胃体、幽门和空肠其次, 其余消化道各段偶见; 胰高血糖素细胞只见于十二指肠和空肠; 血管活性肠肽在贲门和胃体处有少量阳性细胞分布, 食道中偶见。以上各处内分泌细胞的分布密度差异显著。未检出胃泌素、P-物质、胰多肽和胰岛素免疫反应阳性细胞。上述内分泌细胞的分布特点可能与竹叶青的摄食习性和生活环境有关。

关键词 竹叶青蛇 消化道 内分泌细胞 免疫组织化学

应用免疫组织化学方法对爬行动物的消化道内分泌细胞进行定位研究, 已有一些报道。检测出的内分泌细胞类型, 鳄类中有 12 种 (吴孝兵等, 1999; Buchan *et al.*, 1983), 蜥蜴类中有 14 种 (Arena *et al.*, 1990; Grimelius, 1981; Morescalchi *et al.*, 1997; Perez-Tomas *et al.*, 1989), 蛇类有 3 种 (Masini, 1986)。这些研究结果表明, 爬行动物消化道内分泌细胞的分布型不但与哺乳动物和禽类 (周占祥等, 1987; 邓泽沛等, 1994) 不同, 而且各个物种间亦存在较大的差异。爬行动物在整个脊椎动物进化过程中居于承上启下的位置, 对其消化道内分泌细胞进行研究, 无疑具有重要的比较内分泌学意义。竹叶青是一种比较常见的毒蛇, 作者拟通过对其消化道内分泌细胞的研究, 丰富比较内分泌学的资料, 同时增加对蛇类消化道内分泌细胞类型的了解。

1 材料和方法

1.1 材料

竹叶青蛇 (*Trimeresurus stejnegeri*) 5 条, 体全长 320~350 mm。断头处死, 迅速按下列消化道各段取材: 食道、胃贲门部、胃体、胃幽门部、

十二指肠、空肠、回肠和直肠。生理盐水洗净, 用无冰醋酸的 Bouin's 液固定 18~24 h, 常规脱水透明, 石蜡包埋, 切片 5~7 μm , 贴片。

1.2 主要试剂

8 种胃肠激素的免抗血清 (胰岛素为鼠抗), 详见表 1, 链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶 (streptavidin peroxidase, SP) 免疫组织化学试剂盒购于北京中山生物技术公司。

1.3 免疫组织化学方法

本实验应用 8 种消化道激素的抗血清, 以 ABC (avidin-biotin-peroxidase complex) 免疫组织化学方法 (ZYMED 公司, 1986) 进行内分泌细胞定位。一抗 (激素抗血清) 孵育条件为 4, 16 h, 生物素化二抗 (均为羊抗兔 IgG 抗血清) 和 ABC 的孵育均为室温 1 h。DAB-H₂O₂ 显色后, 苏木精复染, 常规脱水透明, 封固。对照实验采用正常血清和 PBS 代替一抗, 其余步骤同上。在 Olympus BH-2 型显微镜下观察, 拍照, 并对每个部位的切片随机取 10 个 400 倍视野计数, 取平均值 \pm 标准误 (范围) [$\bar{X} \pm SE$ (range)], 表示内分泌细胞的分布密度, 并用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对各部位中同一种内分泌细胞的绝对数量进行统计。

1999-12-13 收稿, 2000-06-20 修回

* 安徽省自然科学基金资助项目 (No. 99042419)、安徽跨世纪学科带头人专项基金资助项目和安徽师范大学青年科研基金资助项目

** 通讯作者 yxbwu@263.net

第一作者简介 张志强, 男, 26 岁, 硕士研究生。研究方向: 两栖爬行动物生物学。现工作单位: 安徽农业大学畜牧水产学院水产系, 合肥 230036。

表 1 用于检测竹叶青蛇消化道内分泌细胞的胃肠激素抗血清
Table 1 Details of the anti-gut hormone antisera used observing endocrine cells
in the digestive tract of *Trimeresurus stejnegeri*

| 所用激素抗血清 Anti-hormone antisera | 产品代号 Code No. | 特异性 Specificity | 稀释倍数 Dilution | 来源 Source |
|--|------------------|--|-----------------------|---------------------------|
| 5-羟色胺 (5-HT) (5-Hydroxytryptamine) | ZA-0231 | — | 即用型 (Ready-to-use) | ZYMED 公司 (ZYMED Corp.) |
| 合成环行生长抑素 (SS) (Synthetic cyclic somatostatin) | ZA-0232 | — | 即用型 (Ready-to-use) | 同上 (Same above) |
| 猪胰高血糖素 (Glu) (Porcine glucagon) | ZA-0122 | — | 1 50 | 同上 (Same above) |
| 合成血管活性肠肽 (VIP) (Synthetic vasoactive intestinal polypeptide) | ZA-0265 | — | 1 50 | 同上 (Same above) |
| 胃泌素 (Gas) (Gastrin) | ZA-0115 | — | 1 50 | 同上 (Same above) |
| P 物质 (SP) (Substance P) | ZA-0235 | — | 1 50 | 同上 (Same above) |
| 人胰多肽 (PP) (Human pancreatic polypeptide) | ZA-0211 | 与人血清蛋白无交叉反应 (No cross-reaction with human serum protein) | 1 50 | 同上 (Same above) |
| 单克隆鼠抗胰岛素 (Ins) (Insulin) | ZM-0155 | 与大多数哺乳类有交叉反应 (Cross-react with insulin in a large number of mammalian species) | 1 50 | 同上 (Same above) |

2 结果

8 种胃肠激素抗血清在竹叶青消化道显示的内分泌细胞种类及分布密度见表 2。

表 2 显示, 5-HT 细胞见于整个消化道, 以十二指肠和回肠密度为最高, 空肠、直肠和幽门其次, 胃体较低, 贲门和食道偶见, 分布差异显著 (one-way ANOVA: $F_{(7,343)} = 47.09$, $P < 0.0001$); 食道 5-HT 细胞位于上皮基底部, 呈圆形、椭圆形 (图版 : 1); 胃 5-HT 细胞主要分布于胃腺部, 腺泡外围或腺上皮中数量较多, 呈圆形、椭圆形、三角形、梨形或不规则形; 肠 5-HT 细胞主要位于上皮细胞间, 细胞呈圆形、楔形、长梭形, 有的细胞具较长的胞突伸向肠腔或固有膜 (图版 : 2)。

生长抑素细胞在十二指肠处数量最多, 胃体、幽门和空肠其次, 其余消化道各段偶见, 分布差异

显著 (one-way ANOVA: $F_{(7,343)} = 18.24$, $P < 0.0001$)。细胞大多呈圆形和椭圆形 (图版 : 3), 但有的呈长梭形, 具胞突伸向邻近细胞或肠腔 (图版 : 4)。固有层结缔组织内偶见圆形阳性细胞。

胰高血糖素细胞在十二指肠和空肠中的分布密度相近 (one-way ANOVA: $F_{(1,49)} = 1.48$, $P > 0.05$), 其余各段未见分布; 空肠密度较大, 十二指肠次之; 细胞呈圆形 (图版 : 5)、楔形, 有的具胞突伸向肠腔或固有膜。

血管活性肠肽 (VIP) 细胞在胃体和贲门处有少量阳性细胞存在 (图版 : 6), 在食道中偶见, 分布差异显著 (one-way ANOVA: $F_{(2,97)} = 25.31$, $P < 0.0001$)。VIP 细胞主要分布于固有层和肌肉层中, 上皮中偶见。

消化道各段均未检出胃泌素、P-物质、胰多肽和胰岛素免疫反应阳性细胞。

表 2 竹叶青蛇消化道内分泌细胞的分布与密度

Table 2 Distribution and density of the endocrine cells in the digestive tract of *Trimeresurus stejnegeri*

| | 5-羟色胺 | 生长抑素 | 胰高血糖素 | 血管活性肠肽 | 胃泌素 | P 物质 | 胰多肽 | 胰岛素 |
|-------------------------------|---|---|---|---|-----|------|-----|-----|
| | 5-HT | SS | Glu | VIP | Gas | SP | PP | Ins |
| 食道 (Oesophagus) | 0.30 ^d ± 0.09 (0.21 ~ 0.39) | 0.20 ^c ± 0.11 (0.09 ~ 0.31) | 0 | 0.29 ^b ± 0.14 (0.15 ~ 0.43) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 胃贲门部 (Stomachus cardiacus) | 0.70 ^d ± 0.19 (0.51 ~ 0.89) | 0.20 ^c ± 0.11 (0.09 ~ 0.31) | 0 | 0.57 ^a ± 0.30 (0.27 ~ 0.87) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 胃体 (Stomachus Corpus) | 1.50 ^c ± 0.32 (1.18 ~ 1.82) | 0.70 ^b ± 0.25 (0.45 ~ 0.95) | 0 | 0.56 ^a ± 0.18 (0.38 ~ 0.74) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 胃幽门部 (Stomachus pyloricus) | 2.20 ^b ± 0.31 (1.89 ~ 2.51) | 0.60 ^b ± 0.21 (0.39 ~ 0.81) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 十二指肠 (Duodenum) | 3.80 ^a ± 0.44 (3.36 ~ 4.24) | 1.00 ^a ± 0.29 (0.71 ~ 1.29) | 1.70 ^a ± 0.20 (1.50 ~ 1.90) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 空肠 (Jejunum) | 2.70 ^b ± 0.29 (2.41 ~ 2.99) | 0.60 ^b ± 0.22 (0.38 ~ 0.82) | 1.86 ^a ± 0.12 (1.74 ~ 1.98) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 回肠 (Ileum) | 3.60 ^a ± 0.71 (2.89 ~ 4.31) | 0.30 ^c ± 0.14 (0.16 ~ 0.44) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 直肠 (Rectum) | 2.37 ^b ± 0.50 (1.87 ~ 2.87) | 0.25 ^c ± 0.15 (0.10 ~ 0.40) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注 (Notes): 数据用平均值 ± 标准误 (范围) 表示, 样本含量为 50, 数据经平方根转换 [$x = (x + 1/2)^{1/2}$], 符合正态分布, Bartlett 检验: $X^2_{7,0.05} = 14.067$, $K^2 = 11.625$, $K^{2*} = 13.903$ ($K^2 < X^2_{7,0.05}$, $K^{2*} < X^2_{7,0.05}$); $X^2_{2,0.05} = 5.991$, $K^{2**} = 0.738$ ($K^{2**} < X^2_{2,0.05}$), 方差具有同质性。不同上标的平均值之间差异显著 (Tukey's 检验, $\alpha = 0.05$) {Data are expressed as mean ± SE (range). $n = 50$. Data are normal distribution by square root transformation [$x = (x + 1/2)^{1/2}$], Bartlett test: $X^2_{7,0.05} = 14.067$, $K^2 = 11.625$, $K^{2*} = 13.903$ ($K^2 < X^2_{7,0.05}$, $K^{2*} < X^2_{7,0.05}$); $X^2_{2,0.05} = 5.991$, $K^{2**} = 0.738$ ($K^{2**} < X^2_{2,0.05}$), variance are homogeneity. Means with different superscripts are statistically different (Tukey's test, $\alpha = 0.05$) }

3 讨论

5-HT 是爬行动物体内分布较广和数量较多的一种激素, 它对调节消化功能起着重要的作用。扬子鳄 (*Alligator sinensis*)、金氏胎生蜥 (*Egernia kingii*) 和黄喉水龟 (*Mauremys mutica*) 分别以十二指肠、幽门腺区和大肠的阳性细胞密度为最高 (吴孝兵等, 1999; Arena *et al.*, 1990; 唐晓雯等, 1991)。此外, El-salhy 等 (1985) 和唐晓雯等 (1991) 认为, 在鸟、兽食道中缺 5-HT 细胞, 而两栖类和爬行类却有分布。竹叶青消化道 5-HT 的分布以十二指肠和回肠为最多, 食道和贲门偶见, 这可能与竹叶青的食性有关。杨贵波等 (1995) 在大熊猫的研究中认为, 其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, 之后又在大鼠的研究中 (1997) 发现, 改变食物组成可以影响胃肠的大体形态和 5-HT 细胞分布型的变化。小肠是消化和吸收的主要部位, 十二指肠和

回肠 5-HT 细胞密度高可能与 5-HT 刺激胃肠粘液分泌, 平滑肌收缩和血管扩张的功能相一致 (El-Salhy *et al.*, 1985)。作者的近期研究结果表明, 眼镜蛇和乌梢蛇等陆栖性蛇类肠道 5-HT 细胞从十二指肠至直肠分布密度逐渐减小, 至直肠处最少, 这与竹叶青的分布密度不同。竹叶青不但食性与上述蛇类不同, 而且生活环境也与它们有差异 (陈璧辉等, 1991), 由此可见, 除了食性以外, 不同的生活环境也可能影响 5-HT 细胞的分布。

SS 细胞在爬行动物的消化道中分布广泛, 但分布型差异较大。鳄类中, 密河鳄 (*Alligator mississippiensis*) 和宽吻凯门鳄 (*Caiman latirostris*) 整个胃肠道均有分布, 而扬子鳄仅见于胃部和十二指肠 (Buchan *et al.*, 1983; Yamada *et al.*, 1987; 吴孝兵等, 1999)。蜥蜴类中, 绿安乐蜥 (*Anolis carolinensis*) SS 细胞仅在十二指肠有分布; 四棱南蜥 (*Mabuya quinquetaeniata*) 则见于除直肠外的所有部位; 金氏胎生蜥中, SS 细胞

在胃和十二指肠交接处数量最大,小肠段逐渐减少,从结肠到泄殖腔都缺少分布 (Seino *et al.*, 1979; El-Salhy *et al.*, 1981; Arena *et al.*, 1990)。蛇类的胃肠道中也有 SS 分布的报道 (Masini, 1986)。竹叶青整个消化道中均有 SS 细胞的分布,其中以十二指肠处密度为最大,胃体、幽门和空肠其次,其余消化道各段偶见,其分布特点与金氏胎生蜥相似。生长抑素对多种胃肠激素、酶及胃肠运动有普遍的抑制作用 (张席锦, 1985a),它在竹叶青消化道内广泛分布,但数量又不多,可能对各种激素的含量起平衡作用。SS 细胞有的具突起伸向邻近细胞或肠腔,说明 SS 可能以旁分泌或外分泌的方式对消化过程起调节作用。

Glu 细胞在密河鳄中存在于胃窦粘膜中,肠道没有分布 (Buchan *et al.*, 1983)。蜥蜴类中,四棱南蜥在胃底部有分布,铜蜥 (*Chalcides chalcides*) 和马达加斯加蜥蜴 (*Zoonosaurus madagascariensis*) 偶见于肠上皮,蓝斑蜥蜴 (*Lacerta lepida*) 则大量分布于消化道中 (El-Salhy *et al.*, 1981; Morescalchi *et al.*, 1997; Perez-Tomas *et al.*, 1989)。Masini (1986) 在毒蛙 (*Viper aspis*) 等的小肠中未见到胰高血糖素。竹叶青胰高血糖素细胞仅在空肠和十二指肠有分布,这与铜蜥和马达加斯加蜥蜴的分布特点相似。胰高血糖素的分布特点,可能与蛇类耐饥饿的特性有关,胰高血糖素在营养物质供应不足或机体代谢需要增加时释放,以动员肝脏合成葡萄糖以及供应自由脂肪酸和酮体等替代性能源物质 (张席锦, 1985b)。

VIP 细胞的分布特点各不相同。在扬子鳄中主

要分布于胃贲门部,少数见于胃体和胃幽部门部,密河鳄则整个胃肠道都有大量的 VIP 神经分布 (吴孝兵等, 1999; Buchan *et al.*, 1983)。蜥蜴类中,四棱南蜥和金氏胎生蜥中有 VIP 免疫反应神经纤维和细胞体分布 (El-Salhy *et al.*, 1981; Arena *et al.*, 1990)。蛇类只在毒蛙的小肠终神经内发现了 VIP 细胞,另外两种游蛇却未见 VIP 的分布 (Masini, 1986)。竹叶青 VIP 细胞分布型与扬子鳄相似,在胃体和贲门处有少量分布,食道中偶见。VIP 能引起胃容受性舒张,抑制胃酸分泌,刺激小肠分泌 (梅懋华, 1985),这可能与蛇类常整个吞食食物的习性有关,有利于食物在消化道内顺利运行。

竹叶青消化道中未检出胃泌素、P-物质、胰多肽和胰岛素免疫反应阳性细胞。胃泌素曾在许多爬行动物中有过报道,但本实验未检出。P-物质只在密河鳄中有发现,四棱南蜥和扬子鳄中未见。宽吻凯门鳄和蜥蜴类中有牛胰多肽 (BPP) 细胞,人胰多肽细胞在爬行类中未见报道 (El-Salhy *et al.*, 1981; Buchan *et al.*, 1983; Masini, 1986; Yamada *et al.*, 1987; 吴孝兵等, 1999)。胰岛素迄今尚未有在爬行动物消化道中存在的报道。以上证据说明,爬行动物各个物种间消化道内分泌细胞的类型存在较大的差异。上述四种激素未被发现,一是可能与所用的是哺乳类激素抗血清有关,爬行动物的分子结构可能与哺乳类不同;二是可能由于这些激素在消化道中含量太少而被漏检;三是可能竹叶青消化道中根本就不存在这四种激素。

参 考 文 献 (References)

- Arena, P. C., K. C. Richardson and J. Yamada 1990 An immunohistochemical study of endocrine cells in the alimentary tract of the King's skink (*Egernia kingii*). *J. Ana.* **170**: 73 ~ 85.
- Buchan, A. M. J., V. Lance and J. M. Polak 1983 Regulatory peptides in the gastrointestinal tract of *Alligator mississippiensis*. *Cell Tissue Res.* **231**: 439 ~ 449.
- Chen, B. H. ed. 1991 The Amphibian and Reptilian Fauna of Anhui. Hefei: Anhui Science and Technology Press. [陈璧辉主编 1991 安徽两栖爬行动物志. 合肥: 安徽科学技术出版社.]
- Deng, Z. P., Z. X. Zhou and J. Yamada 1994 Immunohistochemical studies on the endocrine cells in the digestive tract of Beijing duck. *Acta Zool. Sin.* **40** (4): 383 ~ 389. [邓泽沛, 周占祥, 山田纯三 1994 北京鸭消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究. *动物学报* **40** (4): 383 ~ 389.]
- El-Salhy, M. and L. Grimelius 1981 The endocrine cells of the gastrointestinal mucosa of a squamate reptile, the grass lizard (*Mabuya quinquetaeniata*). A histological and immunohistochemical study. *Biomedical Research* **2** (6): 639 ~ 658.
- El-Salhy, M., E. Wilander and N. Lunquist 1985 Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cells in the digestive tract of vertebrates. *Biomedical Research* **6** (6): 371 ~ 375.
- Guo, Y. S. 1985 Gastrin. In: Wang, Z. J. ed. Gut Hormone. Beijing: Science Press, 104 ~ 112. [郭燕世 1985 胃素. 见: 王志均主编. 胃肠激素. 北京: 科学出版社, 104 ~ 112.]

- Masini, M. A. 1986 Immunohistochemical localization of gut peptides in the small intestinal of snakes. *Bas. Appl. Histochem.* **30**: 317 ~ 324.
- Mei, M. H. 1985 Vasoactive intestinal polypeptide. In: Wang, Z. J. ed. *Gut Hormone*. Beijing: Science Press, 217 ~ 222. [梅懋华 1985 血管活性肠肽. 见: 王志均主编. 胃肠激素. 北京: 科学出版社, 217 ~ 222.]
- Morescalchi, A. M., M. Gaccioli, G. Faraldi and G. Tagliaferro 1997 The gastro-enteric-pancreatic neuroendocrine system in two reptilian species: *Chalcides chalcides* and *Zoonosaurus madascariensis* (Sauridae). *Eru. J. Histochem.* **41** (1): 29 ~ 40.
- Perez-Tomas, R., J. Ballesta, L. M. Pastor, J. F. Madrid and J. M. Polak 1989 Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles. *Gen. Comp. Endocrinology* **76** (2): 171 ~ 191.
- Seino, Y., D. Porte and P. H. Smith 1979 Immunohistochemical localization of somatostatin-containing cells in the intestinal tract: a comparative study. *General and Comparative Endocrinology* **38**: 229 ~ 233.
- Tang, X. W. and Y. S. Zheng 1991 Distribution of 5-Hydroxytryptamine immunostaining cells in digestive tracts of different kind vertebrates. *Zool. Res.* **12** (3): 293 ~ 298. [唐晓雯, 郑一守 1991 不同脊椎动物消化道内 5-羟色胺免疫染色细胞的分布. 动物学研究 **12** (3): 293 ~ 298.]
- Wu, X. B., S. Z. Zhang, B. H. Chen, Z. P. Deng, Z. X. Zhou, C. L. Wang, J. S. Nie and W. S. Xie 1999 Immunohistochemical studies on endocrine cells in the digestive tract of *Alligator sinensis*. *Acta Zool. Sin.* **45** (2): 155 ~ 161. [吴孝兵, 张盛周, 陈璧辉, 邓泽沛, 周占祥, 王朝林, 聂继山, 谢万树 1999 扬子鳄消化道内分泌细胞的免疫组织化学研究. 动物学报 **45** (2): 155 ~ 161.]
- Yamada, J., V. J. M. Campos, N. Kitamura *et al.* 1987 An immunohistochemical study of the endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the Caiman latirostris. *Archives of Histology Japan* **50**: 229 ~ 241.
- Yang, G. B., M. S. Chen, Z. P. Zheng and P. Wang 1995 The distribution of endocrine cells in the gut mucosa of the giant panda. *Acta Theriol. Sin.* **15** (1): 4 ~ 10. [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** (1): 4 ~ 10.]
- Yang, G. B. and P. Wang 1997 Effects of food composition on enterochromaffin cells in the gut mucosa of rat. *Acta Zool. Sin.* **43** (1): 55 ~ 60. [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** (1): 55 ~ 60.]
- Zhang, X. J. 1985a Glucagon. In: Wang, Z. J. ed. *Gut Hormone*. Beijing: Science Press, 184. [张席锦 1985 高糖素. 见: 王志均主编. 胃肠激素. 北京: 科学出版社, 184.]
- Zhang, X. J. 1985b Somatostatin. In: Wang, Z. J. ed. *Gut Hormone*. Beijing: Science Press, 201 ~ 203. [张席锦 1985 生长抑素. 见: 王志均主编. 胃肠激素. 北京: 科学出版社, 201 ~ 203.]
- Zhou, Z. X. and B. R. Li 1987 Immunohistochemical studies on the endocrine cells in the pyloric region of brown eared pheasant. *Acta Zool. Sin.* **33** (4): 223 ~ 224. [周占祥, 李宝仁 1987 褐马鸡幽门区内分泌细胞的免疫组织化学研究. 动物学报 **33** (3): 223 ~ 224.]

外 文 摘 要 (Abstract)

IMMUNOHISTOCHEMICAL LOCALIZATION OF THE ENDOCRINE CELLS IN THE DIGESTIVE TRACT OF TRIMERESURUS STEJNEGERI*

ZHANG Zhi-Qiang ZHANG Sheng-Zhou WU Xiao-Bing**

(College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, Anhui, China)

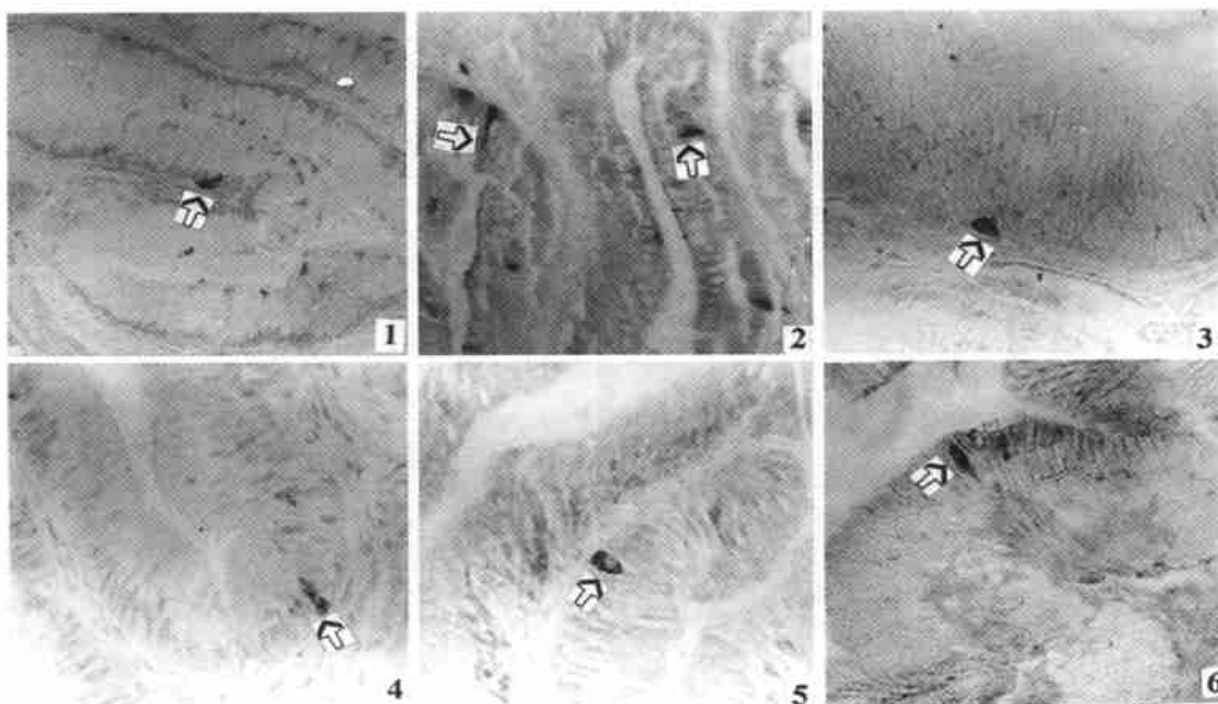
At present, the gastrointestinal tract of reptiles has received a little attention from comparative endocrinologist and the available information being mainly limited to the crocodiles and lizards. To date there have been few studies of regulatory peptides in the gastrointestinal tract of snakes. However, Masini reported immunoreactivity for gastrin \cholecystokinin (combined) and somatostatin in small intestinal endocrine cells of three species of snake, the Asp viper (*Vipera aspis*), the Grass snake (*Natrix natrix*) and the Viperine snake (*N. maura*), but found that immunoreactivity to pancreatic glucagon, secretin or motilin was absent. In addition, somatostatin-containing cells had been detected in the stomach and small intestine of the European adder (*Viper aberus*). There is, however, no systematic study of regulatory peptides of the entire length of the digestive tract

* This work was supported by the Anhui Natural Science Fund (No. 99042419) and the Special Fund for Training Discipline Leader in Anhui

** Corresponding author

in any snake. In view of the evolutionary position of reptiles, an investigation of the gastrointestinal regulatory peptide system was considered to be of particular interest. *Trimeresurus stejnegeri*, a member of the reptilia suborder serpents, was studied as an example of poisonous snakes. The purpose of this study was to conduct a detailed examination of the distribution of the endocrine cells in the digestive tract of this snake. The tunica mucosa of the entire length of the digestive tract was examined to determine the types, relative frequencies and distributions of endocrine cells found there by using an immunohistochemical method (Avidin-biotin-peroxidase complex method). The eight gastrointestinal peptides involved, which had been reported to occur in mammals, were 5-Hydroxytryptamine, somatostatin, glucagon, vasoactive intestinal polypeptide, gastrin, substance P, pancreatic polypeptide and insulin. The results showed that four of them were observed in the digestive tract of *Trimeresurus stejnegeri*, namely 5-Hydroxytryptamine, somatostatin, glucagon and vasoactive intestinal polypeptide. 5-Hydroxytryptamine and somatostatin-immunoreactive cells distributed throughout the digestive tract, while 5-Hydroxytryptamine-immunoreactive cells were found with the highest density in the duodenum and ileum, the second highest in the jejunum, rectum and stomachus pyloricus, numberously in the stomachus corpus, occasionally in the oesophagus and stomachus cardiacus. Somatostatin-immunoreactive cells were mainly located in the duodenum, numberously in the stomach pyloric, stomachus corpus and jejunum, but rarely in any other regions. The glucagon-immunoreactive cells were only present in the duodenum and jejunum. The vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive cells were found moderately in the corpus stomachus and cardiacus, while sparsely in the oesophagus. Data are statistically different among these regions. No immunoreactivity was observed with the antisera to gastrin, substance P, pancreatic polypeptide and insulin. The evidence collected in this study indicates that the distributive mode of endocrine cells in the digestive tract of *Trimeresurus stejnegeri* differs from the other snakes. This may be related to its feeding and habitation.

Key words *Trimeresurus stejnegeri*, Digestive tract, Endocrine cells, Immunohistochemistry



1. 食道 5-羟色胺免疫反应细胞 (5-HT-immunoreactive cells in the oesophagus) $\times 400$
2. 回肠 5-羟色胺免疫反应细胞 (5-HT-immunoreactive cells in the jejunum) $\times 400$
3. 胃生长抑素免疫反应细胞 (Somatostatin-immunoreactive cells in the stomach) $\times 800$
4. 十二指肠生长抑素免疫反应细胞 (Somatostatin-immunoreactive cells in the duodenum) $\times 800$
5. 十二指肠胰高血糖素免疫反应细胞 (Glucagon-immunoreactive cells in the duodenum) $\times 800$
6. 贲门血管活性肠肽免疫反应细胞 (Vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive cells in the stomach cardiacus) $\times 800$