

大鼠颌下腺 5-羟色胺及生长抑素的表达

胡 赞, 梁文妹

胡赞, 梁文妹, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室 贵州省贵阳市 550004
胡赞, 女, 1978-08-07 生, 贵州省六盘水市人, 汉族. 2001 年贵阳医学院本科毕业, 2004 年贵阳医学院硕士研究生毕业, 助教, 主要从事正常及海洛因依赖大鼠颌下腺分泌生物活性物质的研究.

贵州省优秀科技教育人才省长专项资金, No. 2001-3

通讯作者: 梁文妹, 550004, 贵州省贵阳市北京路 9 号, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室. wenmeiliang@126.com

电话: 0851-6909539

收稿日期: 2004-12-07 接受日期: 2005-01-05

Expression of 5-hydroxytryptamine and somatostatin in submandibular gland of rats

Yun Hu, Wen-Mei Liang

Yun Hu, Wen-Mei Liang, Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Supported by the Proprietary Fund of the Provincial Governor of Guizhou Province, No. 2001-3

Correspondence to: Wen-Mei Lian, Department of Histology and Embryology, 9 Beijing Road, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. wenmeiliang@126.com

Received: 2004-12-07 Accepted: 2005-01-05

Abstract

AIM: To investigate the expression of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and somatostatin (SS) in rat submandibular gland.

METHODS: The submandibular glands were taken from 14 SD rats. The expression of 5-HT and SS was determined by immunohistochemical SABC single staining, double staining on adjacent sections, and image analysis techniques.

RESULTS: The expression of 5-HT was observed in the cytoplasm of duct cells, serous cells, and accessory sympathetic nerve ganglion cells in the submandibular gland of male rats. In contrast, only striated duct cells expressed 5-HT in the females. SS was positive stained in the cytoplasm of duct cells of submandibular gland. The co-localization of 5-HT- and SS was detected in striated ducts by double staining technique on adjacent sections. The mean staining density of SS in female tissues was significantly weaker than in male tissues (88.1 ± 7.6 vs 98.4 ± 14.4 , $t = 0.63$, $P = 0.005$).

CONCLUSION: 5-HT and SS are expressed in the submandibular gland of rats. The expression is different between males and females, which may be related to

androgen. 5-HT and SS co-locate in the striated duct, indicating an interaction between them.

Key Words: 5-Hydroxytryptamine; Somatostatin; Submandibular gland

Hu Y, Liang WM. Expression of 5-hydroxytryptamine and somatostatin in submandibular gland of rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(6):752-754

摘要

目的: 检测大鼠颌下腺 5-羟色胺(5-HT)及生长抑素(SS)的表达情况.

方法: SD 大鼠 14 只, 雌雄各半. 取其颌下腺, 用免疫组织化学 SABC 单染法、邻片单染双标法及图像分析方法进行研究.

结果: 雄性大鼠颌下腺的导管、浆液性腺泡、副交感神经节等部位均有 5-HT 表达, 而雌性大鼠仅纹状管有 5-HT 存在; 雄、雌性大鼠颌下腺导管上皮细胞胞质均呈 SS 免疫反应(immunoreactive, IR)阳性; 5-HT-IR 细胞与 SS-IR 细胞部分定位相同, 主要定位于纹状管; 雌性大鼠颌下腺 SS-IR 细胞的平均黑度明显低于雄性大鼠 (88.1 ± 7.6 vs 98.4 ± 14.4 , $t = 0.63$, $P = 0.005 < 0.01$).

结论: 大鼠颌下腺表达 5-HT 及 SS, 且雌雄差异明显, 推测他们的表达受雄激素影响. 5-HT 与 SS 有在纹状管上皮细胞内共存现象, 提示这两种生物活性物质可能有相互作用.

关键词: 5-羟色胺; 生长抑素; 颌下腺

胡赞, 梁文妹. 大鼠颌下腺 5-羟色胺及生长抑素的表达. *世界华人消化杂志* 2005;13(6):752-754

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/752.asp>

0 引言

颌下腺能合成和分泌多种生物活性物质, 参与机体的多种生理反应. 因而颌下腺的结构和功能越来越受到人们关注. 目前, 有关 5-HT 及 SS 在颌下腺的定位研究较少见, 尤其尚未见到分析颌下腺 5-HT 与 SS 间相互关系的报道. 本实验用免疫组织化学 SABC 法, 对 5-HT 及 SS 在大鼠颌下腺的定位、分布特点及其共存现象进行了观察, 并运用图像分析方法对 SS 的雌雄

差异进行了定量分析. 为深入研究颌下腺的功能以及为探讨5-HT与SS间可能的相互作用提供了形态学资料.

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠14只, 雌雄各半, 体质量180~220 g, 用30 g/L戊巴比妥钠ip麻醉, 经心脏用生理盐水灌洗, Bouin液灌注固定后取颌下腺. Bouin液再固定, 常规石蜡包埋, 制成4 μm 厚连续切片.

1.2 方法 免疫组织化学SABC单染法步骤:100 ml/L甲醇-过氧化氢室温10 min, 正常羊血清(1:50)室温30 min, 兔抗5-HT(1:4 000, 第四军医大提供)、兔抗SS(1:250, 第二军医大提供)分别于4℃孵育过夜, 羊抗兔IgG(1:100, 博士德生物工程公司提供)37℃孵育20 min, SABC复合物(1:100)37℃孵育20 min, DAB-H₂O₂液显色, 苏木精复染细胞核, 中性树胶封片. 免疫组织化学邻片单染双标法步骤:取相邻两张切片, 一张滴加兔抗5-HT(1:4 000), 另

一张滴加兔抗SS(1:250). 余步骤同上. 随机选取雌雄大鼠颌下腺切片各5张, 应用BioMias 29图像分析系统进行检测. 在40倍物镜下, 每张切片随机选取5个视野, 测得5-HT-IR, SS-IR细胞的平均黑度.

统计学处理 所得数据用 t 检验(mean \pm SD)进行统计学处理.

2 结果

2.1 免疫组织化学染色结果 在雄性大鼠导管上皮细胞、浆液性腺细胞、副交感神经节细胞、毛细血管及小血管内皮细胞胞质内均有5-HT免疫反应物. 雌性大鼠颌下腺5-HT-IR细胞少, 且免疫染色浅, 主要定位于纹状管(图1A-D). 光镜下, 经DAB-H₂O₂显色, 见大鼠颌下腺SS-IR细胞分布于导管, 同一导管断面SS-IR细胞的免疫染色强弱不等. 副交感神经节细胞胞质也呈SS免疫反应阳性. 腺泡细胞为阴性反应. 雌性大鼠颌下腺SS-IR细胞数量少且免疫染色浅(图1E-I). 用免

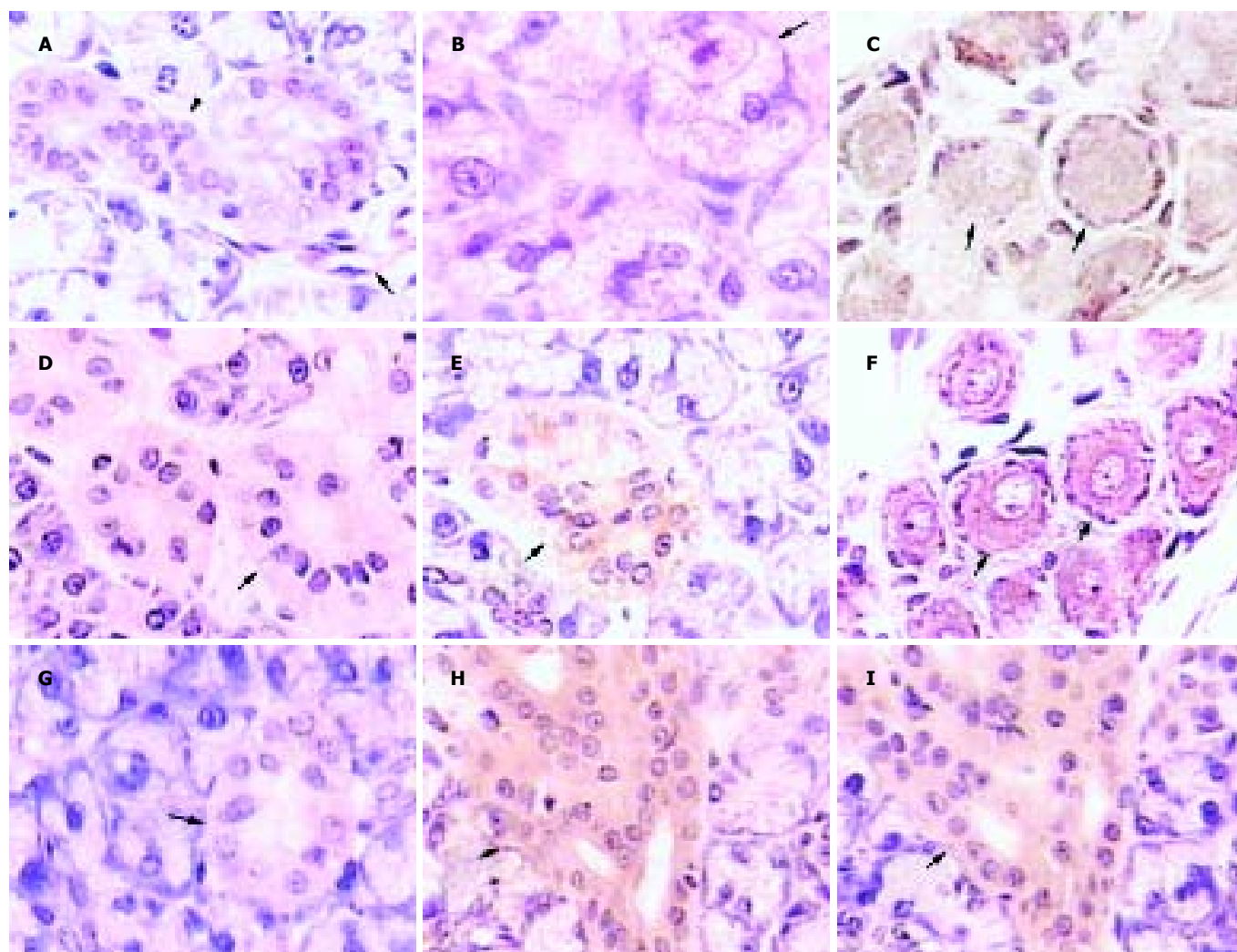


图1 正常大鼠颌下腺5-HT-IR细胞或/和SS-IR细胞(SABC法). A: 雄性, 5-HT-IR细胞, ▲示导管, ↑示血管内皮细胞, $\times 200$; B: 雄性, 5-HT-IR细胞, ↑示5-HT免疫反应阳性的浆液性腺泡, $\times 400$; C: 雄性, 5-HT-IR细胞, ↑示副交感神经节细胞, 其胞质呈5-HT免疫反应阳性, $\times 400$; D: 雌性, ↑示纹状管, 5-HT-IR细胞数量少且染色浅, $\times 200$; E: 雄性, ↑示SS-IR细胞, $\times 2200$; F: 与C为邻片, 雄性, SS-IR细胞, ↑示副交感神经节细胞, 其胞质也呈SS免疫反应阳性, $\times 400$; G: 雌性, ↑示SS-IR细胞; H-I: 为邻片, 分别显示5-HT-IR及SS-IR细胞, ↑示部分细胞同时定位于纹状管.

疫组织化学邻片单染双标法分别显示大鼠颌下腺 5-HT-IR 细胞与 SS-IR 细胞, 见部分 5-HT-IR 细胞(图 1H) 与 SS-IR 细胞(图 1I) 定位相同, 主要定位于纹状管. 此外, 在副交感神经节细胞也有共存现象(图 1C, F).

2.2 统计分析结果 雌雄性大鼠颌下腺 SS-IR 细胞平均黑度值有明显差异 (88.1 ± 7.6 vs 98.4 ± 14.4 , $t = 0.63$, $P = 0.005 < 0.01$)

3 讨论

我们观察到雄性大鼠颌下腺 5-HT 的定位表达与 Huang *et al*^[1] 的报道结果一致. SS 与贾雪梅 *et al*^[2] 报道的存在于大鼠颌下腺导管上皮细胞及神经节细胞胞质结果相同. 此外我们发现, 5-HT 及 SS 的表达存在雌雄差异. 推测这种差异与雄激素有关. 在雌性大鼠, 5-HT 主要定位于颌下腺的纹状管. 这与 Huang *et al*^[1] 报道 5-HT 定位于雌性大鼠颌下腺的排泄管的结果有所差异. 5-HT 是体内重要的神经递质和调节物, 与多方面的生理功能有关, 如睡眠^[3]、行为和记忆^[4]、下丘脑-垂体前叶功能^[5]、疼痛感受^[6]等. 5-HT 对神经细胞的发生发育有重要作用. 目前有研究表明, 5-HT 与阿尔茨海默病及亨廷顿病密切相关^[7]. 在 BD 病毒感染大鼠大脑皮质及海马等部位, 其 5-HT 的含量增加^[8]. 5-HT 也是调节肠道功能的一个重要因子, 对肠蠕动、肠分泌及脑-肠轴中感觉信号的传递都起着关键作用^[9]. 有学者用免疫组织化学 SABC 法观察到淋巴结副皮质区的 T 淋巴细胞、淋巴滤泡生发中心的巨噬细胞等部位都有 5-HT 的表达. 提出 5-HT 是神经内分泌免疫网络中共同的生物语言, 对免疫系统和神经内分泌系统起着双向调节作用^[10]. 外源性的 5-HT 在一定浓度范围内 (10^{-9} – 10^{-7} mol/L) 能刺激颌下腺分泌 NGF, 而 5-HT 浓度超过 10^{-7} mol/L 时则表现为抑制作用. 提示 5-HT 对颌下腺 NGF 的分泌可能起双向调节作用^[11].

SS 在体内分布广泛, 对多种生理功能均具有抑制作用, 同时又具有免疫调节功能, 是神经内分泌免疫网络中重要的信号传导分子^[12]. 有研究报道, SS 能抑制干扰素 2γ (IFN- 2γ)、肿瘤坏死因子 2α (TNF- 2α) 及 IL-22 的释放以及抑制自然杀伤细胞 (NK 细胞) 的活性^[13]. 而 SS 在免疫系统也有分布^[14]. 这些研究结果提

示颌下腺可能属于神经-内分泌-免疫网络的一部分. 我们观察到在大鼠颌下腺 5-HT 与 SS 有共存现象, 为探讨二者间的可能关系提供了一定的形态学依据.

4 参考文献

- 1 Huang W, Sun L, Lu B, Wang W, Pu R, Chen L, Xia Y. Localization and in situ quantification of 5-hydroxytryptamine and its receptor in rat submaxillary gland. *J Mol Histol* 2004;35: 47-53
- 2 贾雪梅, 齐威琴, 王慧珠, 蔡龙虎. 大鼠颌下腺颗粒曲管神经肽的分布. *解剖学报* 2000;30:94-96
- 3 Steriade M. Slow-wave sleep: serotonin, neuronal plasticity, and seizures. *Arch Ital Biol* 2004;142:359-367
- 4 Evers EA, Tillie DE, van der Veen FM, Lieben CK, Jolles J, Deutz NE, Schmitt JA. Effects of a novel method of acute tryptophan depletion on plasma tryptophan and cognitive performance in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 2005;178:92-99
- 5 Veenema AH, Koolhaas JM, de Kloet ER. Basal and stress-induced differences in HPA axis, 5-HT responsiveness, and hippocampal cell proliferation in two mouse lines. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1018:255-265
- 6 Oberlander TF, Grunau RE, Fitzgerald C, Papsdorf M, Rurak D, Riggs W. Pain reactivity in 2-month-old infants after prenatal and postnatal serotonin reuptake inhibitor medication exposure. *Pediatrics* 2005;115:411-425
- 7 Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 2004;27:589-594
- 8 Dietz D, Vogel M, Rubin S, Moran T, Carbone K, Pletnikov M. Developmental alterations in serotonergic neurotransmission in Borna disease virus (BDV)-infected rats: a multidisciplinary analysis. *J Neurovirol* 2004;10:267-277
- 9 Yeo A, Boyd P, Lumsden S, Saunders T, Handley A, Stubbins M, Knaggs A, Asquith S, Taylor I, Bahari B, Crocker N, Rallan R, Varsani S, Montgomery D, Alpers DH, Dukes GE, Purvis I, Hicks GA. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut* 2004;53:1452-1458
- 10 李继锋, 王舟, 纪祥瑞, 王旭, 高继发. 5-HT 在人正常淋巴结及淋巴瘤中表达的研究. *中国免疫学杂志* 2002;18:56-58
- 11 吕葆真, 黄威权, 蒲若蕾. 5-HT 受体亚型在大鼠颌下腺的免疫组织化学定位及 5-HT 的功能研究. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2002;11:125-127
- 12 李霞. 生长抑素的免疫调节作用. *国外医学免疫学分册* 2004;27: 154-157
- 13 Levite M, Chowdhury Y. Nerve-driven immunity: neuropeptides regulate cytokine secretion of T cells and intestinal epithelial cells in a direct, powerful and contextual manner. *Ann Oncol* 2001;12(Suppl 2):S19-25
- 14 Dalm VA, van Hagen PM, van Koetsveld PM, Achilefu S, Houtsmuller AB, Pols DH, van der Lely AJ, Lamberts SW, Hofland LJ. Expression of somatostatin, cortistatin, and somatostatin receptors in human monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:E344-353

编辑 潘伯荣 审读 张海宁