

文章编号: 1674 - 5566(2014)02 - 0179 - 07

色氨酸羟化酶在中华绒螯蟹中肠、肠球和后肠组织中的分布和定位

李 萌, 杨筱珍, 王 春, 何 杰, 洪宇航, 成永旭

(上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘 要: 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)存在于各种动物的消化道中,并影响甲壳动物的生长和繁殖。色氨酸羟化酶是 5-HT 生物合成中的限速酶,可作为 5-HT 免疫活性细胞的特异标志。运用组织学和免疫组织化学技术对中华绒螯蟹中肠、肠球和后肠的形态学及色氨酸羟化酶在其中的分布进行研究,结果显示:中华绒螯蟹肠道中肠和后肠组织结构组成基本相似,均由黏膜层、黏膜下层、肌层和外膜四部分组成。然而,肠球外膜非常发达,由结缔组织组成。其余组织形态一部分与中肠相似(近头端),另一部分与后肠相似(近尾端)。色氨酸羟化酶在中华绒螯蟹中肠、肠球和后肠均有分布,阳性物质呈棕褐色。在中肠,主要分布在黏膜上皮细胞的胞核中;在肠球,主要分布在近中肠端黏膜上皮细胞的胞核中、近后肠端的黏膜上皮细胞的胞浆中、以及外周结缔组织中;在后肠,主要分布在黏膜上皮细胞的胞浆中。为进一步了解 5-HT 在甲壳动物消化道中的生理调节机制奠定了基础。

研究亮点: 有关 5-HT 及其相关合成酶类在甲壳动物消化道中的研究较少。本研究运用免疫组织化学的方法对中华绒螯蟹肠道中色氨酸羟化酶进行了定位,发现中华绒螯蟹肠道各段均有色氨酸羟化酶的分布,为进一步探讨 5-HT 在中华绒螯蟹消化生理中所起的作用奠定了基础。

关键词: 中华绒螯蟹;色氨酸羟化酶;消化道;免疫组织化学

中图分类号: S 917

文献标志码: A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)隶属于十足目(Decapoda)、爬行亚目(Reptantia)、方蟹科(Grapsidae)和绒螯蟹属(*Eriocheir*),是我国特有的经济淡水蟹类^[1]。了解中华绒螯蟹的消化生理对其健康养殖有极其重要的作用,因而备受关注。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种重要的神经递质,其广泛分布于各种动物的消化道组织中,但在不同动物消化道组织中 5-HT 免疫活性细胞的分布情况差异较大^[2-12],消化道中的 5-HT 免疫活性细胞属于内分泌细胞类,其分泌的 5-HT 能刺激胃肠黏膜的分泌,平滑肌的收缩和血管扩张,对消化功能有重要的调节作用^[13]。

色氨酸羟化酶(Tryptophan hydroxylase, TPH)是 5-HT 生物合成中的限速酶,此在中枢神经系

统、胃肠道以及血管内稳态中起着重要的生理作用^[14]。研究表明,TPH 的表达量与分布和 5-HT 最终的合成量与分布有直接的相关性^[15-16]。目前,在哺乳动物中发现的 TPH 主要有两种不同基因编码的亚型即 TPH1 和 TPH2^[17-18]。其中研究较多的为 TPH1 即经典的色氨酸羟化酶,其在哺乳动物消化道的神经元^[19]、肥大细胞^[20]和胃肠嗜铬细胞^[21]中的分布与功能的研究已有大量报道。

目前,已发现 5-HT 对甲壳动物的行为、生殖、蜕皮、消化吸收和代谢起着重要的调节作用^[22]。近期研究表明,饲喂生物胺类的物质能明显影响甲壳动物的生长和繁殖^[23-26],对幼蟹的生长也有明显的影响^[27],但生物胺类活性物质在甲壳动物消化道组织中的分布及功能的相关研

收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2014-01-08

基金项目: 国家自然科学基金(31272677); 国家农业科技成果转化项目(2012GB2C000147); 上海市科委科技合作专项(13340721500); 上海市高校知识服务平台(ZF1206)

作者简介: 李 萌(1988—),女,硕士研究生,研究方向为中华绒螯蟹消化道功能。E-mail: 15903381160@yeah.net

通信作者: 成永旭, E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

究少见报道。本试验主要采用免疫组织化学技术研究了 TPH1 在中华绒螯蟹中肠、肠球和后肠中的分布,旨在探索 5-HT 在甲壳动物消化道组织中的生理调节机制提供相关依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

本试验用中华绒螯蟹雌雄各 5 只,体重(42.57 ± 4.69)g,体长(42.69 ± 1.91)mm,体宽(44.69 ± 2.07)mm,暂养一周,饥饿 48 h 后取样,解剖并分离出肠道,分中肠、肠球和后肠取样,并采集成年兔小肠作为阳性对照组织,新鲜样品放入 Bouin's 液中固定 48 h,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,常规切片厚度 5 ~ 7 μm,40 °C 烘片机烘干备用。

1.2 免疫组织化学染色

石蜡切片脱蜡至水,3% H₂O₂ 室温孵育 20 min,以灭活内源性过氧化物酶,PBS(0.01 mol/L,pH 7.4)冲洗 5 min × 3 次,枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)进行抗原热修复,水浴加热 94 °C,40 min,PBS 冲洗 5 min × 3 次,滴加 5% BSA 封闭非特异性抗原,室温孵育 30 min,倾去血清,滴加兔抗 TPH1 抗体(工作浓度 1:50,兔抗 TPH1 抗体,多聚体抗兔 HRP 免疫组化试剂盒购自武汉博士德生物有限公司),4 °C 过夜。次日,PBS 冲洗 5 min × 3 次,滴加二抗,37 °C 孵育 80 min,PBS 冲洗 5 min × 3 次,DAB 显色,自来水冲洗,梯度乙醇脱水,中性树脂封片。阴性对照用 PBS 代替一抗,其余步骤同上,OLYMPUS-2 显微镜观察拍照。

1.3 苏木精-伊红染色

石蜡切片脱蜡至水,苏木精染色 25 min,乙醇盐酸分色 10 s,流水冲洗 30 min 进行反蓝,伊红染色 1 min,梯度乙醇脱水,中性树脂封片,OLYMPUS-2 显微镜观察拍照。

2 结果

2.1 中肠、肠球和后肠的组织学结构

中华绒螯蟹的肠道组织组成由内至外分别为黏膜层,黏膜下层,肌层和外膜。

2.1.1 中肠

中肠黏膜层上皮细胞为单层高柱状,胞核位于基部,固有膜和黏膜肌层不明显。肠腔表面,大部分肠绒毛呈指状,小而密集,肠绒毛凸起部分主要由上皮细胞的胞质组成(图版 I - 1

“→”),胞核常位于绒毛基部成群分布(图版 I - 1“▶”),少部分无凸起,表面平滑(图版 I - 3“→”),胞核位于基部呈线形整齐排列(图版 I - 3“▶”)。黏膜下层较薄,肌层也较薄,外膜发达为浆膜,由疏松结缔组织构成。

2.1.2 肠球

中肠末端和后肠前端外膜膨大环绕其外呈球形(图版 II - 1“▶”),称肠球,其直径约为(2.24 ± 0.45)mm,它是中肠和后肠的分界点。肠球的外膜异常发达由结缔组织组成(图版 II - 1,4“▶”),而内部肠腔组织形态具中肠向后肠过渡的形态特征,近中肠端处黏膜上皮表面无角质层(图版 II - 1“*”),近后肠端处黏膜上皮表面出现角质层(图版 II - 1“→”)。

2.1.3 后肠

后肠开口于肠球下方,后肠黏膜层上皮细胞为单层高柱状(图版 II - 10“▶”),胞核位于基部,呈线形整齐排列(图版 II - 6“▶”),上皮细胞外具有较厚的角质层(图版 II - 10“→”),肠腔内有大而少的皱襞(图版 II - 3,7“→”),固有膜十分发达,内含内分泌细胞、结缔组织和黏膜肌(图版 II - 6“→”),黏膜下层较薄,肌层十分发达(图版 II - 7“▶”),外膜发达为浆膜,由疏松结缔组织构成。

2.2 TPH 在中肠、肠球和后肠组织中的免疫定位

TPH 在中华绒螯蟹中肠、肠球和后肠组织中均有分布,阳性物质呈棕褐色。在中肠,此物质主要分布在黏膜上皮细胞胞核中(图版 I - 2,4“▶”);肠球外周结缔组织中有阳性物质的分布(图版 II - 2,5“▶”),肠腔靠近中肠端,阳性物质主要分布在黏膜上皮细胞胞核中(图版 II - 2“*”),靠近后肠端阳性物质主要分布在黏膜上皮细胞胞浆中(图版 II - 2“→”);在后肠,此物质主要分布在黏膜上皮细胞胞浆中(图版 II - 8,11“▶”);成年兔子小肠阳性对照片呈现明显的阳性反应,阳性细胞主要分布在黏膜上皮基部,少量分布在肌层(图版 II - 9“▶”),用 PBS 代替一抗均呈阴性反应(图版 II - 12)。

3 讨论

3.1 中肠、肠球和后肠的组织学结构

本研究结果显示中华绒螯蟹中肠和后肠肠

壁的组织结构均由黏膜层,黏膜下层,肌层和外膜四部分构成,此组织结构与三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)^[28]、锯齿米虾(*Caridina denticulata*)^[29]和中国龙虾(*Panulirus stimpsoni*)^[30]等多种甲壳动物的肠道组织结构组成一致。本研究发现中肠肠腔表面分布着大量小而密集的肠绒毛,陈炳良和堵南山^[31]等的研究表明中华绒螯蟹中肠具有消化和吸收营养物质的功能,说明甲壳动物中肠具有较强的消化吸收功能。中肠较强的吸收功能在中国对虾(*Penaeus chinensis*)的中肠研究也有报道^[32]。本研究发现中肠密集的肠绒毛大大增加了肠腔的表面积,为中肠具有消化吸收功能提供了组织学依据。中肠肠绒毛主要由黏膜上皮细胞构成,固有膜和黏膜肌层不明显(图版 I - 1),许多研究表明固有膜内分布着大量内分泌细胞^[8-11],而中华绒螯蟹的中肠主要分布在上皮细胞内,由此说明甲壳动物肠道上皮细胞可能具有更多的生理功能。

肠球在解剖位置上位于中肠和后肠之间,经组织切片发现,肠球内部的组织形态也同时包含有中肠和后肠的形态,且近中肠端以中肠组织形态为主,而近后肠端以后肠组织形态为主。在近后肠端上皮细胞边缘出现明显的角质层,此为区分中肠与后肠的主要标志。结合以往的研究,王巧伶^[33]及方之平等^[34]学者均提出了中华绒螯蟹肠球具有中肠和后肠的过渡型形态,但其过渡的具体形态并未见描述。本研究的结果为进一步证实肠球的功能及其与中肠和后肠的关系奠定了组织学基础。

中华绒螯蟹后肠与中肠有明显差异,主要表现在后肠皱襞中有明显的固有膜和黏膜肌层(图版 II - 6)。后肠的主要功能是将来自胃和中肠消化后的食物残渣排出体外^[34],其发达的皱襞和延伸至固有膜的肌层能够促进肠道蠕动,将残渣排出体外。此外,后肠黏膜上皮表面出现较厚的角质层,这也与中肠有明显的区别,此结构差异主要与后肠由外胚层发育而来,而中肠由内胚层发育而来有关^[33],虽然现有文献中已有对中华绒螯蟹肠道组织结构的描述,但未给出中肠与后肠间明显区别的依据^[33-34]。

3.2 TPH 在中肠、肠球和后肠组织中的免疫定位

TPH 是 5-HT 合成的限速酶,直接影响着 5-

HT 的表达和分布,可作为 5-HT 免疫阳性细胞的特异标志。哺乳动物中目前发现的 TPH 有两种亚型:即 TPH1 和 TPH2。TPH1 为合成外周 5-HT 所必需,代表非神经性 TPH 基因^[17]。在哺乳动物胃肠道组织中,TPH1 主要存在于肠嗜铬细胞和肥大细胞中^[20-21],而在鱼类和甲壳动物中对此类细胞的研究报道较少。在罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[8]和大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[10]的研究中发现肠道 5-HT 免疫活性细胞主要分布在黏膜上皮细胞之间及固有膜结缔组织中。通过对 5-HT 递质及其受体的免疫识别,在甲壳动物消化道中此类神经递质的分布也已被证实^[35-36],但分布部位有所不同。如中国对虾(*Penaeus chinensis*)和日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)^[11]肠道组织中,5-HT 免疫活性细胞主要分布在固有膜结缔组织中,少数分布在肌层,另外在中国对虾的后肠上皮中也有少量分布,而在锯缘青蟹(*Scylla serrata*)^[12]中,其主要分布在中肠的黏膜上皮基部和黏膜下层及后肠皱襞中,本研究结果显示,5-HT 的合成酶 TPH1 主要分布于中华绒螯蟹肠道的黏膜上皮细胞中,但中华绒螯蟹肠道上皮细胞具有几种细胞类型及功能如何还有待于进一步研究。

5-HT 对甲壳动物的行为、生殖、蜕皮、消化吸收和代谢起着重要的调节作用^[22],研究表明,水体中适量的 5-HT 能够促进中华绒螯蟹仔蟹的生长^[25],因此,TANGVUTHIPONG 等曾建议,将 5-HT 作为罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)幼体饲料添加成份,以促进其生长^[37]。在关于鱼类的研究中,有报道称 5-HT 作为调节胃肠运动的一种重要介质,能够通过促进胃肠激素的释放,与胃肠道的蠕动及内分泌作用有密切关系^[8-10],另有研究表明,胃肠激素不仅可参与调节食物在胃肠道的消化吸收过程,还对摄食行为具有控制作用并能促进其消化吸收^[13]。本研究发现 TPH1 主要分布于中华绒螯蟹肠道黏膜层上皮细胞中,这也为 5-HT 可能参与了甲壳动物胃肠道消化吸收的调节过程提供了理论依据。此外还发现,除黏膜层上皮细胞外 TPH1 在肠球外周结缔组织中也有分布,但有关肠球在中华绒螯蟹肠道中的作用及其在生物胺类神经递质调节中的作用尚不清楚。

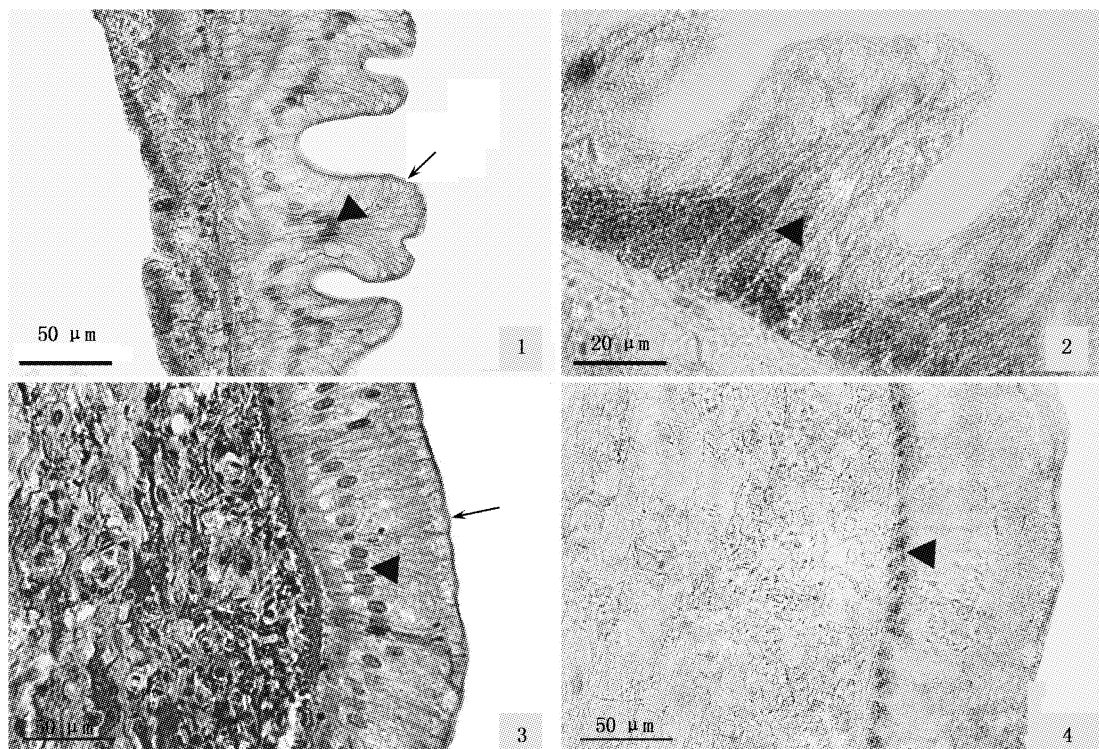
综上所述,目前有关 5-HT 及其限速酶 TPH

在甲壳动物胃肠道组织中的研究较少,对于 5-HT 对中华绒螯蟹胃肠道功能的影响,以及 TPH 的不同亚型及其来源的 5-HT 是否在胃肠道中发挥不同的作用,都需要进一步的研究和探讨,虽然本文只初步探讨了 TPH1 在中华绒螯蟹肠道中的定位,但对 TPH 不同亚型在消化道组织中的定位研究,将有助于阐明甲壳动物 5-HT 对其消化生理的调节机制。

参考文献:

- [1] 堵南山. 甲壳动物的经济意义[J]. 生物学教学,1958(5):13-15.
- [2] 唐晓雯,郑一守. 不同脊椎动物消化道内 5-羟色胺免疫染色细胞的分布[J]. 动物学研究,1991,12(3):293-298.
- [3] 甄靓靓,邱枫,李淑兰,等. 非洲爪蟾消化道的 5-羟色胺免疫活性细胞[J]. 解剖学杂志,2007,30(3):279-282.
- [4] 刘超,甄靓靓,李淑兰,等. 中华花龟消化道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布与形态学观察[J]. 四川动物,2007,26(2):274-277,10004.
- [5] 郭棚,李淑兰. 褐家鼠消化道的 5-羟色胺免疫活性细胞[J]. 解剖学杂志,2009,32(6):819-821.
- [6] 李淑兰,陈霞,赵文阁. 枕纹锦蛇消化道 5-羟色胺免疫活性内分泌细胞的分布与形态学观察[J]. 动物学研究,2004,25(1):63-67.
- [7] 张志强,吴孝兵. 王锦蛇消化道 5-羟色胺细胞的免疫组织化学定位[J]. 生物学杂志,2008,25(4):23-26.
- [8] 阚延胜. 罗非鱼消化道 5-HT 内分泌细胞的免疫组织化学研究[J]. 安徽农学通报,2007,13(17):27-28,97.
- [9] 林树根,黄小华,吴德峰. 花鲈消化道内分泌细胞的鉴别和定位[J]. 水生生物学报,2005,29(1):7-12.
- [10] 林树根,王全溪,王寿昆. 大黄鱼消化道内分泌细胞免疫组织化学的定位[J]. 福建农业学报,2005,20(4):238-242.
- [11] 陈洪洪,朱联九,潘洪珍,等. 中国对虾和日本沼虾胃肠道内分泌细胞的鉴别与比较[J]. 水生生物学报,2010,34(3):642-646.
- [12] 黄辉洋,李少菁,王桂忠,等. 锯缘青蟹消化系统 5-羟色胺免疫组织化学的研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2001,40(3):789-792.
- [13] EL-SALHY M, WILANDER E, LUNDQUIST M. Comparative studies of serotonin-like immunoreactive cell in the digestive tract of vertebrates[J]. Biomedical Research,1985,6(6):371-375.
- [14] 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.
- [15] GRENETT H E, LEDLEY F D, REED L L, et al. Full-length cDNA for rabbit tryptophan hydroxylase: functional domains and evolution of aromatic amino acid hydroxylases [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1987,84(16):5530-5534.
- [16] ZILL P, BUTTNER A, EISENMENGER W, et al. Predominant expression of tryptophan hydroxylase 1 mRNA in the pituitary: a postmortem study in human brain [J]. Neuroscience,2009,159(4):1274-1282.
- [17] WALTHER D J, PETER J U, BASHAMMAKH S, et al. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform [J]. Science,2003,299(5603):76.
- [18] GUTKNECHT L, KRIEGEBAUM C, WAIDER J, et al. Spatio-temporal expression of tryptophan hydroxylase isoforms in murine and human brain: convergent data from Tph2 knockout mice [J]. European Neuropsychopharmacology,2009,19(4):266-282.
- [19] FIORICA-HOWWELLS E, MAROTEAUX L, GERSHON M D. Serotonin and the 5-HT(2B) receptor in the development of enteric neurons [J]. Journal of Neuroscience,2000,20(1):294-305.
- [20] FINOCCHIAYO L M, ARZT E S, CRICUOLO M, et al. Serotonin and melatonin synthesis in peripheral blood mononuclear cells: stimulation by interferon-gamma as part of an immunomodulatory pathway [J]. Journal of Interferon Research,1988,8(6):705-716.
- [21] WEBER L J, HORITA A. A study of 5-hydroxytryptamine formation from L-tryptophan in the brain and other tissues [J]. Biochemical Pharmacology,1965,14(7):1141-1149.
- [22] FINGERMAN M, NAGABHUSHANAM R, SAROJINI R, et al. Biogenic amines in crustaceans: identification, localization and roles [J]. Journal of Crustacean Biology,1994,14(3):413-437.
- [23] 王金锋,杨筱珍,吴旭干,等. 水体中组织胺对黑褐新糠虾生长与发育的影响[J]. 海洋渔业,2008,30(2):157-162.
- [24] 王金锋,杨筱珍,吴旭干,等. 水体中组织胺对日本新糠虾生长、发育和体内组织胺含量的影响[J]. 海洋科学,2010,34(4):1-5.
- [25] 梁攀,杨筱珍,王春,等. 水体中 5-HT 对仔蟹生长以及内源 5-HT 水平的影响[J]. 复旦学报:自然科学版,2011,50(5):640-652.
- [26] YANG X Z, WANG J F, ZHAO L L, et al. Effects of elevated ambient histamine level on survival, growth, sexual maturity and tissue histamine accumulation of the mysis *Neomysis awatschensis* and *Neomysis japonica* Nakazawa [J]. Aquaculture International,2012,20(2):347-356.
- [27] ZHAO L L, YANG X Z, CHENG Y X, et al. Effects of Histamine on Survival and Immune Parameters of the Chinese Mitten Crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Shellfish Research,2012,31(3):827-834.
- [28] 朱丽岩,郑家声,王海林,等. 三疣梭子蟹幼体消化道发育的组织学研究[J]. 青岛海洋大学学报:自然科学版,1999,29(2):271-278.
- [29] 邓道贵,马海骥,郭生林. 锯齿米虾消化系统的组织学研究[J]. 淮北煤师院学报,2000,21(4):56-59.

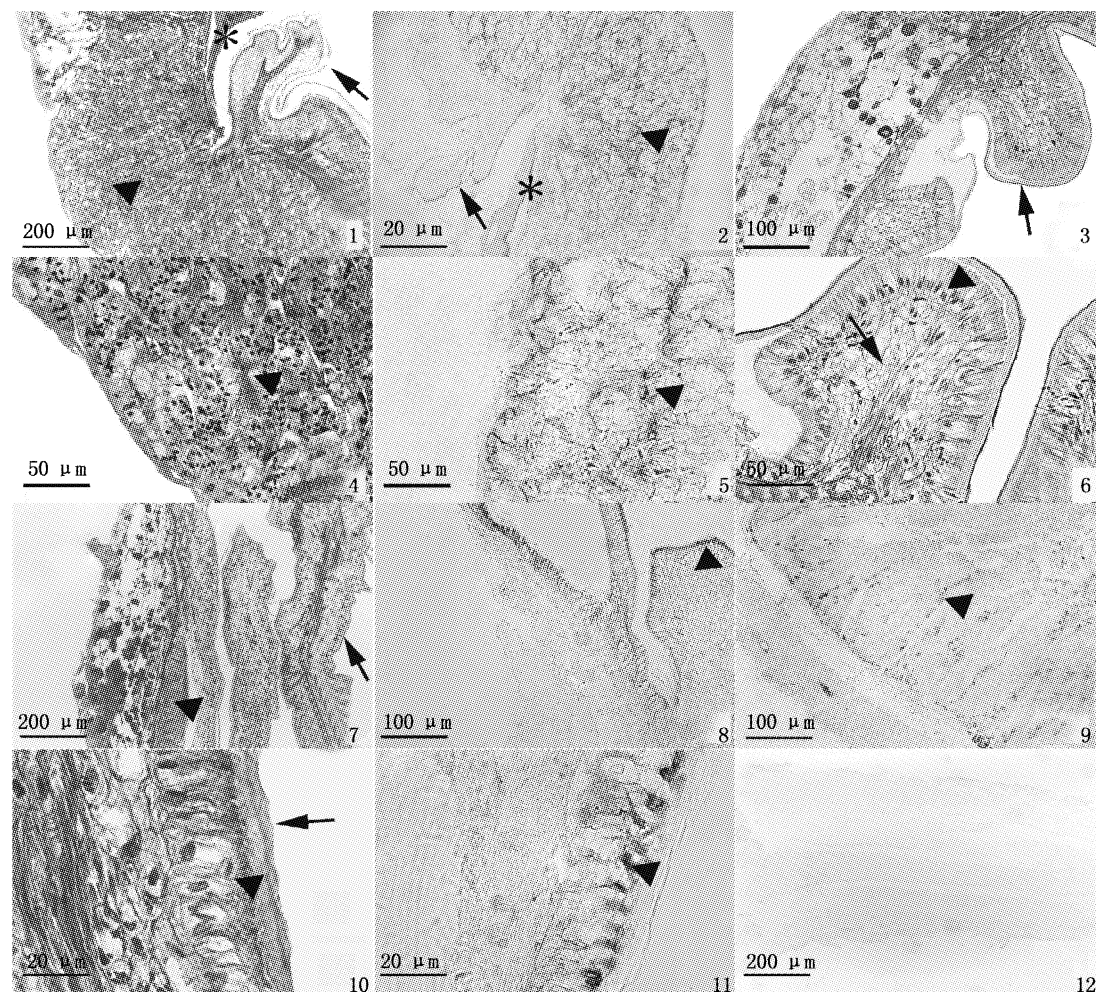
- [30] 颜素芬,姜永华,陈昌生. 中国龙虾早期叶状幼体消化道的组织结构观察[J]. 水产学报,2005,29(1):25-32.
- [31] 陈炳良,堵南山. 中华绒螯蟹幼体中肠的超微结构[J]. 海洋与湖沼,1992,23(5):533-536.
- [32] 张志峰,于成海,廖承义. 中国对虾幼体消化系统的组织化学研究[J]. 海洋湖沼通报,2000(2):6-10.
- [33] 王巧伶. 中华绒螯蟹消化系统的组织学研究[J]. 重庆师范学院学报,1994,11(4):66-72.
- [34] 方之平,潘黔生,黄凤杰,等. 中华绒螯蟹消化道组织学及扫描电镜研究[J]. 水生生物学报,2002,26(2):136-141.
- [35] ROEDER T. Metabotropic histamine receptors—nothing for invertebrates? [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2003,466(1/2):85-90.
- [36] MUSOLF B E, SPITZER N, ANTONSEN B L, et al. Serotonergic modulation of crayfish hindgut [J]. *The Biological Bulletin*,2009,217(1):50-64.
- [37] TANGVUTHIPONG P, DAMRONGPHOL P. 5-Hydroxytryptamine enhances larval development of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Aquaculture*, 2006,252(2/4):567-572.



图版 I 中华绒螯蟹中肠中 TPH 的免疫组织化学

Plate I Immunohistochemistry of tryptophan hydroxylase in the midgut of *Eriocheir sinensis*

1. 中肠横切 HE 染色,“→”示肠绒毛凸起呈指状,“▶”示绒毛基部细胞核成群分布; 2. 中肠横切,“▶”示绒毛中上皮细胞核内阳性物质; 3. 中肠横切 HE 染色,“→”示肠腔表面平滑无凸起,“▶”肠上皮细胞细胞核呈线形排列; 4. 中肠横切,“▶”示无绒毛凸起上皮细胞核内阳性物质。



图版 II 中华绒螯蟹肠球,后肠中 TPH 的免疫组织化学

Plate II Immunohistochemistry of tryptophan hydroxylase in the hindgut ampulla and hindgut of *Eriocheir sinensis*

1. 肠球纵切 HE 染色,“*”示近中肠端黏膜上皮无角质层,“→”示近后肠端黏膜上皮表面出现角质层;“▶”示肠球外膜结缔组织;
2. 肠球纵切,“*”示近中肠端上皮细胞核内阳性物质,“→”示近后肠端上皮细胞浆内阳性物质,“▶”示外膜结缔组织内阳性物质;
3. 后肠横切 HE 染色,“→”示后肠发达皱襞;
4. 肠球外膜纵切 HE 染色,“▶”示图 1 肠球外膜结缔组织放大图片;
5. 肠球外膜纵切,“▶”示图 2 外膜结缔组织内阳性物质放大图片;
6. 后肠横切 HE 染色,示后肠皱襞的放大图片,“→”示后肠皱襞中发达的固有膜,“▶”示上皮细胞中呈线形整齐排列的细胞核;
7. 后肠纵切 HE 染色,“→”示后肠皱襞,“▶”示后肠发达的肌层;
8. 后肠纵切,“→”示皱襞中上皮细胞浆内阳性物质;
9. 兔肠阳性对照,“▶”示兔肠上皮基部阳性物质;
10. 后肠纵切 HE 染色,“▶”示图 7 后肠柱状上皮细胞放大图片,“→”示后肠上皮表面的角质层;
11. 后肠纵切,“▶”示图 8 皱襞中上皮细胞浆内阳性物质放大图片;
12. 阴性对照。

Immunohistochemistry localization of tryptophan hydroxylase of the midgut, the hindgut ampulla and hindgut in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*

LI Meng, YANG Xiao-zhen, WANG Chun, HE Jie, HONG Yu-hang, CHENG Yong-xu

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Serotonin (5-HT) exists in all kinds of animals' digestive tract, which has some important physiology effects on the growth and reproduction of crustaceans. Tryptophan hydroxylase (TPH) is the rate-limiting enzyme for 5-HT biosynthesis and can be used to identify 5-HT as a marker. The morphology and distribution of TPH in the midgut, the hindgut ampulla and hindgut of *Eriocheir sinensis* were mainly studied in this research by using histology and immunohistochemical technique. The result shows that: the histology of the crab intestine in midgut is similar to that in hindgut. There four layers can be identified in midgut and hindgut including the mucosa, submucosa, muscularis and adventitia. However, the size of adventitia of the hindgut ampulla composed of connective tissue is larger than that of midgut and hindgut. Except adventitia, the histology of distant rostral and near rostral of hindgut ampulla is similar to midgut and hindgut respectively. TPH can be detected by immunolocalization in the midgut, the hindgut ampulla and hindgut. In the midgut, TPH is mainly distributed in the nucleus of mucosal epithelial cells. In the hindgut ampulla, TPH was widely distributed in the nucleus of mucosal epithelial cells close to the midgut and the cytoplasm of mucosal epithelial cells close to the hindgut, and peripheral connective tissue. In the hindgut, TPH is mainly found in the cytoplasm of mucosal epithelial cells. These results will be helpful for future studies on physiological regulation mechanism of 5-HT in the digestive tract of the crustaceans.

Key words: *Eriocheir sinensis*; tryptophan hydroxylase; digestive tract; immunohistochemistry