

· 快 讯 ·

雌激素受体在锯缘青蟹视神经节的免疫识别

韩师昭, 陈学雷, 叶海辉*, 黄辉洋, 李少菁, 王桂忠

(厦门大学海洋学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 利用免疫细胞化学 SABC 法对锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 视神经节雌激素受体 (ER) 进行定位研究. 结果表明: 视神经节的视外髓、视内髓和视端髓存在 ER 免疫阳性细胞. 视神经节存在的 ER 免疫阳性细胞可以为雌激素提供结合位点. 本研究为雌激素参与视神经节神经内分泌调节作用提供了形态学依据.

关键词: ER; 锯缘青蟹; 视神经节; 免疫细胞化学

中图分类号: Q 421

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2006)06-0741-02

业已证实, 甲壳动物体内存在雌二醇、孕酮和睾酮等性类固醇激素, 且激素水平与性腺发育密切相关^[1]. 性类固醇激素能否参与甲壳动物神经活动并反馈调节神经内分泌尚未见报道. 视神经节是甲壳动物调节生殖、蜕皮、血糖浓度变化等生理活动的神经内分泌中心, 一向受到研究者的重视^[2]. 本研究应用免疫细胞化学技术, 首次对雌激素受体 (ER) 在视神经节的定位进行了较为详细的观察, 为雌激素可能参与甲壳动物神经分泌反馈调节提供了形态学证据.

1 材料与方法

1.1 取材及标本制备

锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 12 只, 体长 6.6~8.4 cm, 雌雄各半. 迅速解剖出视神经节, 10% 中性甲醛 4 下固定 4~6 h, 石蜡包埋, 连续切片, 厚度 8 μ m.

1.2 免疫细胞化学方法

采用 SABC 法: 切片经 3% H_2O_2 /PBS 室温孵育 10 min; 枸橼酸缓冲液 (CBS, 0.01 mol/L, pH 6.8) 中微波修复 15 min; 正常山羊血清 (1:10) 室温孵育 10 min; 鼠抗 ER 血清 (1:200, Santa Cruz) 37 $^{\circ}$ C 孵育 1.5 h; 生物素化羊抗鼠 IgG (1:100, 博士德) 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min; SABC 复合物 (1:100, 博士德) 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min. DAB 显色, 苏木精复染, 常规脱水透明, 中性树胶封片. 阴性对照组以正常羊血清代替一抗, 其余步骤相同. 在 Olympus BX51 型显微镜下观察并拍照.

2 结 果

收稿日期: 2006-09-08

基金项目: 国家自然科学基金 (30300269) 资助

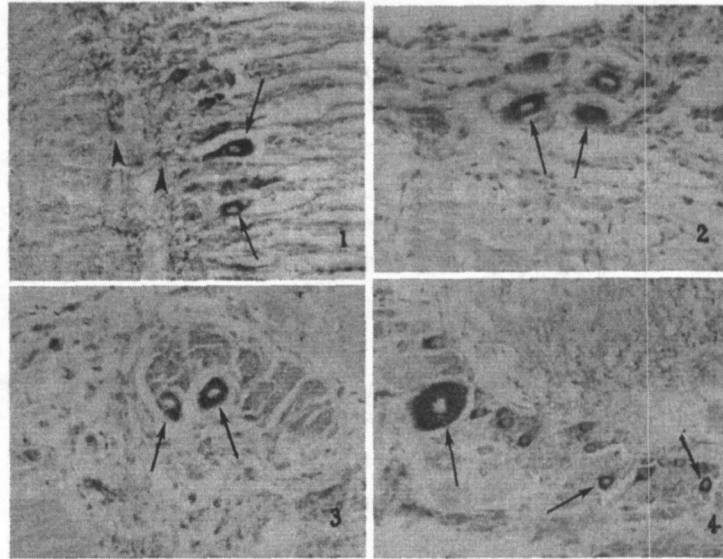
作者简介: 韩师昭 (1980-), 女, 硕士研究生.

* 通讯作者: haihuiye@xmu.edu.cn

锯缘青蟹视神经节由视神经层、视外髓、视内髓和视端髓四部分组成. 除视神经层外, 其余部位均检测到 ER 免疫阳性反应, 免疫阳性物质呈棕褐色, 定位于细胞膜、细胞质和神经毡中. 视外髓外缘阳性细胞较多, 呈圆形或梨形, 视外髓的神经毡中出现两个免疫阳性神经纤维层 (图版 :1). 在视内髓外缘有少数阳性细胞分布 (图版 :2). 视端髓呈现较强 ER 免疫阳性反应, 近窦腺处有少数阳性细胞 (图版 :3); X 器官中阳性细胞较多, 散布于神经内分泌细胞之间, X 器官附近的神经毡也呈阳性反应 (图版 :4). 锯缘青蟹视神经节 ER 免疫阳性物质的分布不存在显著的性别差异.

3 讨 论

研究揭示, 雌、雄激素对脊椎动物脑和垂体激素分泌的反馈调节必须与脑内受体结合才能进行, 该机制在生殖内分泌活动中起了重要作用^[3]. 头索动物文昌鱼的脑和哈氏窝也检测到雌、雄激素受体, 并参与了生殖调控轴功能的发育和维持^[4]. 叶海辉等已报道锯缘青蟹的视神经节存在雄激素受体^[5]. 迄今尚不清楚 ER 是否分布于甲壳动物并参与神经激素分泌的反馈调节. 视神经节是性腺抑制激素、蜕皮抑制激素、大颚器抑制激素、甲壳动物高血糖素等神经激素的合成和释放中心, 对甲壳动物的生殖生长具有极为重要的调节作用. 作者首次发现视神经节存在 ER 免疫阳性神经细胞, 表明视神经节中具有雌激素结合位点, 为雌激素参与甲壳动物神经活动提供了形态学依据. 视端髓的 X 器官是上述神经激素的主要合成中心, ER 免疫阳性细胞散布于 X 器官的神经内分泌细胞之间, 提示 X 器官可以作为靶器官接受雌激素的反馈调节. 本研究对深入理解甲壳动物 X 器官神经调节活动有一定的科学意义. 雌激素在脊椎动物生殖神经内分泌中具



图版 1 锯缘青蟹视神经节雌激素受体的免疫阳性反应
 1. 视外髓 ER 免疫阳性细胞()和阳性神经纤维层(), ×146; 2. 视内髓 ER 免疫阳性细胞(), ×146; 3. 视端髓近窦腺处 ER 免疫阳性细胞(), ×146; 4. 视端髓 X 器官中 ER 免疫阳性细胞(), ×146

Plate Immunoreaction of estrogen receptor in the optic ganglion of *Scylla serrata*

有负反馈调节作用,在甲壳动物其作用是否相似,值得进一步的研究.一般认为,雌激素的作用机制分为两大类:一类为通过核受体出现生物学效应较晚的基因组机制;另一类为通过膜受体介导的快速作用的非基因组机制^[6].作者观察到的 ER 免疫染色反应位于细胞膜、细胞质和神经纤维.因此推测,雌激素对视神经节细胞的作用机制可能是通过膜受体介导而实现的,即雌激素与膜受体结合后,在细胞质中快速引发一系列下游信号转导事件,从而调控神经细胞的结构和功能.

参考文献:

[1] Warriar S R, Tirumalai R, Subramoniam T. Occurrence of vertebrate steroids, estradiol 17 beta and progesterone in the reproducing female of the mud crab *Scylla serrata*

[J]. Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology, 2001, 130 (2): 283 - 294.
 [2] Fingerman M. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective and introspective analysis [J]. Physiological Zoology, 1997, 70(3): 257 - 269.
 [3] Yuan H, Deborah A B, Theodore J B, et al. Distribution of occupied and unoccupied estrogen receptors in the rat brain: effects of physiological gonadal steroid exposure [J]. Endocrinology, 1995, 136: 96 - 105.
 [4] 翁幼竹, 方永强, 胡晓霞. 雌、雄激素受体在文昌鱼神经系统和哈氏窝的免疫识别[J]. 动物学报, 2001, 47(6): 672 - 676.
 [5] 叶海辉, 黄辉洋, 李少菁, 等. 锯缘青蟹视神经节存在雄激素受体[J]. 解剖学报, 2004, 35(5): 547.
 [6] 谈寅飞, 王雁玲. 雌激素受体信号通路新进展[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(2): 119 - 124.

Immunorecognition of Estrogen Receptor in the Optic Ganglion of *Scylla serrata*

HAN Shi-zhao, CHEN Xue-lei, YE Hai-hui*, HUANG Hui-yang, LI Shao-jing, WANG Gui-zhong
 (Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Antisera generated in vertebrate and immunocytochemical SABC method was applied to observe the immunoreactive neurons and neuropils of estrogen receptor (ER) in optic ganglia of *Scylla serrata*. The results showed that: ER-immunoreactive substance was located in medulla externa, medulla interna and medulla terminalis in optic ganglion. ER-immunoreactive neurons in optic ganglia might provide the binding sites for estrogen and accept the feedback regulation of estrogen. This present work provides the morphological basis for the regulation of estrogen on the neurosecretion in optic ganglion of *Scylla serrata*.

Key words: ER; *Scylla serrata*; optic ganglion; immunocytochemistry