

※※※※※※※※※※※※※※※※
※中国水产学会第四次※
※全国会员代表大会暨※
※学术年会交流论文 ※
※※※※※※※※※※※※※※※※

草鱼肠道内分泌细胞的免疫组织化学的研究

潘 鈞 生

(华中农业大学水产系, 武汉)

方之平

(华中农业大学解剖组胚教研室, 武汉)

山田 純三

(日本带广畜产大学兽医学科, 日本)

一九八七年十月

草鱼肠道内分泌细胞的免疫组织化学的研究

潘 黔 生

(华中农业大学水产系, 武汉)

方 之 平

(华中农业大学解剖组胚教研室, 武汉)

山 田 纯 三

(日本带广畜产大学兽医学科, 日本)

提 要

通过使用过氧化物酶抗过氧化物酶(PAP)免疫组织化学技术, 用19种哺乳动物激素培育出的抗血清对草鱼肠道中免疫活性内分泌细胞的出现和分布进行了鉴别。对与其中6种抗血清起反应的肠道免疫活性内分泌细胞进行了定位。这6种内分泌细胞分别是: 胃泌素、高糖素样免疫反应物、抑胃多肽、亮氨酸脑啡肽、P物质和牛胰多肽免疫活性内分泌细胞。5-羟色胺抗血清仅在一例草鱼的直肠上稍有阳性细胞显示。其它12种哺乳动物激素培育出的抗血清在草鱼肠道中没有发现免疫活性反应。

本文描述了草鱼肠道中各种免疫活性内分泌细胞的形态, 对6种免疫活性内分泌细胞的分布特点、出现频率及其在肠道各段的变化幅度进行了比较和讨论。

关键词: 草鱼、免疫组织化学、抗血清、免疫活性内分泌细胞、肠

褶。细胞突起。

目前在哺乳动物胃肠胰(GEP)内分泌系统中进行了许多研究工作,结果鉴别出18种类型的内分泌细胞以及至少是同样数目的激素[5, 15, 16, 25]。

为了弄清中国主要养殖鲤科鱼类——草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的肠道中是否存在以及存在着一些什么种类的内分泌细胞,我们利用哺乳动物激素培育出的19种抗血清,通过PAP免疫染色技术来达到这个目的,旨在为鱼类内分泌学等方面的研究工作提供资料。

材 料 和 方 法

一、取材 体长40—45 Cm的草鱼3尾,分别编为I、II、III号,1986年6月取自武汉市南湖渔场。将鱼活体剖腹取出肠道,再分别取前肠前段、前肠中段、后肠前段和直肠五个部位[3, 4],立即入Bouin液中固定24小时再经过一系列乙醇脱水,二甲苯透明之后入56℃石蜡包埋,切片5 μ m。

二、抗血清 本研究所使用的各种抗血清及其工作浓度列入表1。

三、免疫组织化学方法 切片脱蜡至水后用H₂O₂——甲醇溶液(1:100)在室温中处理15分钟,用以消除内源性过氧化物酶活性,然后用PAP免疫组织化学方法进行染色[26]。并用Harry's苏木精复染、脱水、透明、封片。

在光镜下观察切片,任意取10个视野,用1/2 mm接目网形测微

表1

抗血清及使用

Table 1. Details of antisera used.

培 育 的 抗 血 清*	来 源	代 号	特 性	工作浓度
Ins (胰岛素)		47291	—	1:1000
Som (合成人生长抑素)	Dr. S. Ito (新潟)	—	—	1:3000
GLI (猪胰高血糖素)	Amersham International	RPN 1602	与胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:1000
	PL 1 Amersham			
APP (马胰多肽)	Dr. L. R. Kimmel (塔萨希市)	lanco-10/s/91Bleed	与胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:10000
BPP (牛胰多肽)	Dr. R. E. Chance (印第安那波利斯)	c18-R-110-146-16	与人胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:12000
5-HT (5-羟色胺)	Stillwater	Lot. 16302	—	1:10000
Mot (合成猪胃动素)	Dr. N. Yanaihara (静)	R-1104	对余部分子反应	1:100-1:10000
Sec (合成猪促胰液素)	同上	R-901	与猪和牛促胰液素 余部交叉反应	1:1000
VIP (合成猪血管活性肠肽)	同上	R-502	对余部分子起反应	1:2000
NT (合成牛神经降压素)	同上	R-3501	—	1:1000
GAS (合成人胃泌素)	同上	GP-1304	与CCK-8交叉反应	1:5000
D. GAS	DAKO公司(丹麦)	A569	与CCK-8交叉反应	1:500
GIP (胃抑肽)	Ghilday, Surry, Sera实验室(美国)	Q/1/14-22D	与胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:10000
CCK-33 (天然猪胆囊收缩素)			与胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:3000
ENK (亮氨酸脑啡肽)	UCB-生物制品, Bruxelles	1671	与胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:80000
Bom (蛙皮素)	stillwater	27070	与胰和胰岛激素 余部交叉反应	1:3000
SP (P物质)	DAKO, Copenhagen(丹麦)	MAS035B	—	1:2000
CHY (凝乳酶)	A. Andren, Uppsala		—	—
PNQ (胃蛋白酶原)	A. Andren		—	—
NFF (神经纤维蛋白)			—	—
PAP 复合物(兔中培育)	Polyscience, Warrington	2-113		1:100
PAP 复合物(豚鼠中培育)	同上	24699		1:200
半抗原150抗血清和半抗原150抗血清				

*除Ins和GAS的抗血清在豚鼠中培育外,所有的抗血清都在兔中培育。(D. GAS抗血清在兔中培育)

计进行免疫活性内分泌细胞的计数。计算每平方毫米内平均出现的内分泌细胞数目，来表示各种免疫活性内分泌细胞在各肠段中的出现频率。

结 果

一、草鱼肠道中免疫活性内分泌细胞的种类(表2、图1)。

1. 胃泌素(gastrin, GAS)免疫活性内分泌细胞存在于前肠中。在前肠前段出现频率最高，最多处达 66.5 个/ mm^2 。在前肠后段之后朝尾部方向则不见分布。

2. 抑胃肽(gastric inhibitory peptide, GIP)免疫活性内分泌细胞分布于整个前肠中。以前肠前段的出现频率最高，最密处达 28.5 个/ mm^2 。前肠后段以后的各部位则不见分布。

3. 高糖素样(glucagon-like immunoreactants, GLI)免疫活性内分泌细胞存在于整个前肠和中肠。在前肠后段的出现频率最高，最高处达 60.2 个/ mm^2 。在中肠以后朝尾部方向的肠上皮中不见阳性细胞分布。

4. 牛胰多肽(bovine pancreatic polypeptide, BPP)免疫活性内分泌细胞存在于前肠中。在前肠前段出现频率最高，最密处达 60.2 个/ mm^2 。在前肠后段以后的各肠段中不见分布。

5. 亮氨酸脑啡肽(leucine enkephalin, ENK)免疫活性内分泌细胞在整个肠道上均可被发现。在前肠前段出现频率最高，最多处达 136 个/ mm^2 。Ⅱ号鱼的前肠后段以后各段以及Ⅲ号鱼的直肠

处均未发现阳性细胞。

6. P物质(substance P, SP)免疫活性内分泌细胞在整个肠道上皮均有分布。以前肠后段出现频率最高,最密处有 101.3 个/ mm^2 。在后肠前段的出现频率最低。

7. 5-羟色胺(5-HT)免疫活性内分泌细胞。仅在I号草鱼的直肠处有染色很浅的阳性细胞。在II、III号草鱼肠道中均未发现阳性细胞。

8. 生长抑素(Som)、胆囊收缩素(CCK)、胃动素(Mot)和神经降压素(NT)四种抗血清在任何一尾草鱼的各肠段中均未发现有免疫活性反应。

9. 其他8种抗血清仅试探性地用于1尾草鱼样本的免疫染色。在任何肠段中均未发现免疫活性反应。

图1、各种免疫活性内分泌细胞在草鱼肠道中的分布

Fig. 1. Distribution of immunoreactive endocrine cells in the intestinal tracts of Gtenopharyngodon idellus

三 草鱼肠道内分泌细胞的分布特点

1. 由图1中可见这6种免疫活性内分泌细胞在前肠中均有分布。沿肠道向尾部方向,无论从分布密度还是分布种类来说都是逐渐减少。

表 2

草鱼肠道中免疫活性内分泌细胞的分布和出现频率

单位: 细胞数/mm²Table 2. Distribution and frequency of immunoreactive endocrine cells in the intestinal tracts of *Ctenopharyngodon idellus*. (unit: cells/mm²)

性别		取材部位		内分泌细胞		类别	D ₁ b o																	
		SHT	GAS	GAS	GLP		GLP	GLP	GLP	BPP	ENK	SP	Som	CKK	Mot	Sec	NT	APP	Som	HFP	VIP	Ins	PNG	CHY
I	1	—	26±5	11±5	19	11±5	11±5	11±5	41±2	113±3	50±7	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	2	—	25±8	11±5	19±3	11±5	11±5	11±5	41±2	113±3	50±7	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	3	—	11±5	—	—	11±5	11±5	11±5	—	44±3	38	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	4	—	11±5	—	—	11±5	11±5	—	—	25±3	6±3	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	5	19	—	11±5	—	11±5	11±5	—	—	2±2	2±2	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
II	1	—	63±3	11±5	20±5	11±5	11±5	11±5	53±5	34±8	52±8	—	—	—	11±5	—	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5
	2	—	20±5	31±6	25±3	11±5	11±5	11±5	11±5	52±7	11±7	—	—	—	11±5	—	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5
	3	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5	—	57	—	—	—	—	11±5	—	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5
	4	—	—	—	—	11±5	11±5	—	—	12±7	—	—	—	—	11±5	—	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5
	5	—	—	—	—	11±5	11±5	—	—	22±2	—	—	—	—	11±5	—	—	—	—	—	—	11±5	11±5	11±5
III	1	—	63±3	11±5	20±2	34±8	34±8	34±8	60±2	85±5	34±8	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	—	—
	2	—	20±5	11±5	6±3	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	101±3	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	—	—
	3	—	11±5	—	3±2	—	—	—	—	25±3	47±5	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	—	—
	4	—	11±5	—	—	11±5	—	—	—	11±5	31±7	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	—	—
	5	—	11±5	—	—	11±5	—	—	—	34±8	—	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	—	—
IV	1	—	64±4	23±3	23±2	11±5	11±5	11±5	44±3	51±7	85±5	46±4	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	2	—	27±6	8±4	12±6	11±5	11±5	11±5	45±4	31±7	56	30	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	3	—	11±5	—	—	11±5	11±5	11±5	26±4	21±2	47±6	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	4	—	11±5	—	—	11±5	11±5	—	—	17	10±9	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5
	5	6	11±5	—	—	11±5	11±5	—	—	11	20±1	—	—	—	11±5	—	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5	11±5

注: a、取中取材部位: 1. 前肠前段, 2. 前肠后段, 3. 中肠, 4. 后肠前段, 5. 后肠

b、(—)表示用微量抗原预先吸收一次抗体的对照片

c、(LP)表示用肝脾预先吸收一次抗体后再进行免疫组化染色反应

d、— 表示没有发现免疫细胞

e、n、t 表示没有检验

• 6 •

从前肠后段至中肠处仅有SP—、ENK—、和GLI—免疫活性内分泌细胞分布。在中肠和后肠处只有SP—和ENK—免疫活性内分泌细胞分布。

2. 前肠前段上皮中, 以ENK—免疫活性内分泌细胞的出现频率最高, 而其他所有部位的肠上皮中则以SP—免疫活性内分泌细胞的出现频率最高(图1)。

3. 在前肠中, GIP—免疫活性内分泌细胞出现频率最低。在中肠和后肠中, 除GAS—、BPP—和GIP—免疫活性内分泌细胞不见分布之外, 以ENK—免疫活性内分泌细胞的出现频率最低。GLI—免疫活性内分泌细胞在后肠中不见分布(图1)。

4. ENK—、GAS—、BPP—和GIP—免疫活性内分泌细胞在肠道的前半段有大致相同的变化幅度, 只是在数量上有差异而已。SP—和GLI—免疫活性内分泌细胞在前肠中的分布密度呈上升趋势, 再朝尾部方向则开始下降。SP—免疫活性内分泌细胞在直肠处的分布密度有所回升, 超过其他种类免疫活性细胞在直肠处的分布密度而居首位(图1)。

5. 这6种免疫活性内分泌细胞在整个肠褶上均有分布。GAS—和SP—免疫活性内分泌细胞主要集中于肠褶顶部(图2、3), 但其他部位也稍有分布。GIP—、BPP—、GLI—和ENK—免疫活性内分泌细胞集中于肠褶底部高中部, 顶部仅有少量分布(图4、5、6、7)。

三 免疫活性内分泌细胞的形态学特征

草鱼肠道免疫活性内分泌细胞于肠上皮细胞和杯状细胞之间(图9、20、23),颜色深褐,形状独特,明显区别于其他细胞。其形状多样,有长梭形(图12、15、20、23),长颈瓶形(图8、16),椭圆形(图11),角锥形(图9)。但它们大多数较长,有一个较狭窄的基部,较宽的中部和狭长的顶部。椭圆形和角锥形细胞极少。有时细胞顶端胞突膨大呈囊状(图12、16、18)或串珠状(图10),有时其基底胞突亦膨大呈囊状(图8、13、19)或串珠状(图22),偶尔可见到在一个内分泌细胞两端的胞突上同时呈囊状或串珠状(图10),在其基部突起伸入邻近细胞或组织的同时还将其顶端胞突伸向肠腔。

讨 论

本研究已表明在草鱼(无胃硬骨鱼)的肠道中6种内分泌细胞与6种抗哺乳动物激素抗血清的免疫活性反应。由于目前还未分离出鱼类的胃肠胰激素^[21],而且本研究所使用的某些抗哺乳动物抗血清对鱼类的消化道内分泌细胞不一定发生免疫活性反应。因此对草鱼肠道内分泌细胞的研究仅仅只是开头。Rombout在杂食性鲤科鱼类贝鲃(Barbus conchonius)的肠道中发现有8种免疫活性内分泌细胞存在^[23]。在其他的一些鱼类中几乎所有这8种类型免疫活性内分泌细胞也都被描述过^[9, 12-14, 18, 19, 22],但是在一种鱼的

肠道中所描述的内分泌细胞都不超过3种。本研究描述了草鱼肠道中6种免疫活性内分泌细胞的分布。其中GAS-、SP-、GLI-、BPP-和ENK-5种免疫活性内分泌细胞与Rombout对贝鲢肠道的研究结果大致相似[22, 23, 24]。但在贝鲢的肠道中发现有血管活性肠肽(VIP-)和神经降压素(NT-)免疫活性反应,而在草鱼中则没有发现。

此外在贝鲢肠道内还发现胰多肽(PP-)非特异性免疫活性细胞[23]。另一些学者使用神经降压素或免疫血清也发现了消化道内分泌细胞的非特异性免疫活性反应[6, 18, 19]。我们在Ⅱ号草鱼肠道各部位中,用适量抗原吸收GIP抗血清后染色,发现了GIP-非特异性免疫活性反应(表1, 图14、15)。Rombout称这种非特异性免疫活性细胞为免疫活性细胞的次级细胞群[23]。

由表2可见, D、GAS(A568)具有非特异性染色,但用肝粉吸收抗血清后进行免疫组化染色的免疫活性内分泌细胞数趋于正常。由于D、GAS(A568)与CCK具有交叉反应,所以其阳性反应偏高,比用GAS(GP1304)进行免疫组化反应后的内分泌细胞的数目多1/3(表2)。因此用GAS(A568)染色的切片不作为本研究的正常结果。

由图1可知,这6种免疫活性内分泌细胞在肠道的前半部均有分布。特别是在前肠前段处分布的种类和数量超过其他部位,与Rombout对贝鲢的研究结果相似[21, 22]。草鱼的前肠为肠道中最粗大的一段直管。前肠前段膨大为肠球部。肠壁的粘膜下层很薄,缺乏由胶原纤维组成的结实层,这样就便于肠壁能相应地扩大,有利于尽量多贮食物

(4). 食料充足时肠壁能扩张成一层透明的薄皮, 食物颗粒对这部分肠道的机械刺激使其中内分泌细胞的活动加剧, 引起激素分泌 [2, 23]。另外, 由于肠内食物的化学成分、pH 值的不同, 也会对内分泌细胞释放激素产生影响 [2]。特别是对于分布在肠褶顶部的内分泌细胞, 它们更易接受来自食物对它们的刺激和直接从肠腔中受到一些刺激 [8, 17]。草鱼的肠道外面由肝胰脏所包围着, 胆管和胰管的入口处约在肠道 4% 位置进入前肠前段 [4, 20]。这样一种结构可对在前肠中免疫活性内分泌细胞分布的种类和数量较多的原因作部分解释: 由于食物的刺激, 对于位于肠褶顶部的内分泌细胞产生一种快速的刺激, 这对于调节胰酶和胆汁的释放这类细胞是有作用的 [21]。草鱼肠道中大多数内分泌细胞集中于肠前部, 朝尾部才向逐渐减少的分布方式与哺乳动物和鸟类消化道内分泌细胞的分布方式有所区别 [7, 10, 11, 27]。可以说免疫活性内分泌细胞的分布密度由前朝尾部方向逐渐减小是草鱼肠道中免疫活性内分泌细胞的分布特点。

SP-免疫活性内分泌细胞在直肠段的分布较多。这可能与 P 物质可以刺激平滑肌收缩 [1] 的功能有关。草鱼贪食、排泄量非常大, SP-免疫活性内分泌细胞在草鱼肠道中的这一分布特点无疑有利于其排泄功能的正常进行。我们清楚地看到有几种免疫活性内分泌细胞在通向肠腔胞突上有几个膨大的囊, 使胞突呈串珠状突起。这种串珠状的胞突可将激素暂时贮存于其膨大的囊中。待到机体需要时再释放到肠腔中。由此可见, 某些肠内分泌细胞在分泌激素时不是一次排空, 而是多次释放的。

极少数的免疫活性内分泌细胞除了有一个狭长的胞突通向肠腔外，其基部还有一胞突伸向邻近细胞或细胞间隙。这种免疫活性内分泌细胞可能在进行外分泌 (exocrine secretion) 的同时也进行旁分泌 (paracrine secretion)。

对于鱼类消化道内分泌细胞的研究虽然报导不多，但不同研究者的结果却存在着某些差异 [9, 12, 28]。我们的研究虽然在一例草鱼样本中发现染色极弱的 5-HT 阳性细胞，但不能作为肯定的结果，还需进一步研究。而 Som-、Cck-、Mot- 和 NT- 免疫活性内分泌细胞在所有样本中任何部位均无发现。另外，胰岛素、胰泌素、鸟胰多肽、血管活性肠肽、蛙皮素、凝乳酶、胃蛋白酶原和神经纤维蛋白等 12 种抗血清仅在一例草鱼肠道中进行试探性检查，均未发现阳性细胞。由于样品数量少，虽不作为本实验结果，但也略见端倪。

本研究与其它学者的研究中对使用同种抗血清所在的活性上的差异有三种可能性的解释，第一，由于不同鱼类品种之间的差异；第二，尽管在硬骨鱼类中存在各种肽类，而这些肽类也可能与哺乳动物各种激素有密切关系，但是它们却缺少与哺乳动物激素抗体的抗原连续活性，这样就不能获得免疫染色；第三，某些鱼类中肽类的细胞水平也许处于免疫组织化学技术的阈值之下。

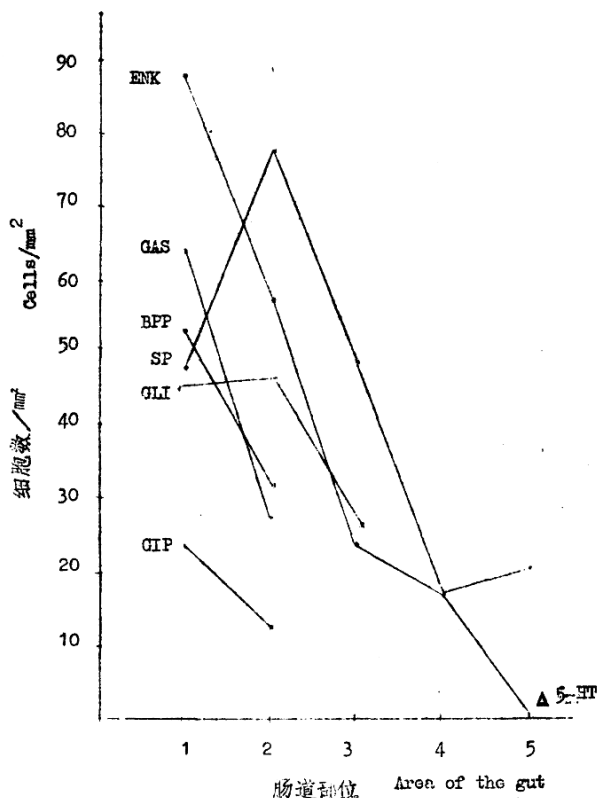


图1 各种免疫活性内分泌细胞在草鱼肠道中的分布

Fig. 1. Distribution of immunoreactive endocrine cells in the intestinal tracts of Ctenopharyngodon idellus

- | | |
|---------|---------------------------|
| 1. 前肠前段 | Foregut anterior segment |
| 2. 前肠后段 | Foregut posterior segment |
| 3. 中 肠 | Midgut |
| 4. 后肠前段 | Hindgut anterior segment |
| 5. 直 肠 | Rectum |

参 考 文 献

- (1) 王志钧、梅懋华、朱文玉, 1985. 胃肠激素. 1—32页, 97—247页, 297—307页, 369—383页. 科学出版社.
- (2) 吕清浩、郭燕世, 1980. 胃泌素研究的进展. 生理科学进展, 11(4): 319—323.
- (3) 林浩然, 1962. 五种不同食性鲤科鱼的消化道. 中山大学学报, (3): 65—77.
- (4) 倪达为、洪雪峰, 1963. 草鱼消化道组织学的研究. 水生生物学集刊学集刊, (3): 1—25.
- (5) Buchan, A. M. J. and J. M. Poak, 1980. The coassification of the human gastroenteropancreatic endocrine cells. Invest. Cell Pathol. 3:51—71.
- (6) Buffa, R., E. Solcia, R. Flocca, O. Grivelli and A. Pera, 1979. Complement-mediated binding of immunoglobulins to some endocrine cells of the pancreas and gut. J. Histochem. Cytochem. 27: 1279—1280.
- (7) Calingasan, N. Y., Kitamura, J. Yamada, Y. Oomeri and T. Yamashita, 1984. Immunocytochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine cells of the sheep. Acta anat. 118: 171—180.
- (8) Grube, D. and W. G. Forssmann, 1979. Morphology and function

of enteroendocrine cells. *Horm. Res.* 11:589-606.

- (9) Holmgren, S., C. Vaillant, R. Mämlane, 1982. VIP-, substance P-, gastrin/CCK-, bombesin-, somatostatin- and glucagon-like immunoreactivities in the gut of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Cell Tissue Res.* 223: 141-153.
- (10) Kitamura, N., J. Yamada, N. Y. Calingasan and T. Yamashita, 1984. Immunocytochemical distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the horse. *Equine Vet. J.* 16(2):103-107.
- (11) Kitamura, N., J. Yamada, N. Y. Calingasan and T. Yamashita, 1985. Histologic and immunocytochemical study of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cow and calf. *Am. J. Vet. Res.*, 46(6):1381-1386.
- (12) Ianger, M., S. Van Noorden, J. M. Polak and A. G. E. Pearse, 1979. Peptide hormone-like immunoreactivity in the gastrointestinal tract and endocrine pancreas of eleven teleost species. *Cell Tissue Res.*, 199:493-508.
- (13) Larsson, L. I., J. M. Polak, R. Buffa, F. Sundler and E. Solcia, 1979. On the immunocytochemical localization of the vasoactive intestinal polypeptide. *J. Histochem. Cytochem.*, 27:936-938.
- (14) Noailles-Depeyre, J. and E. Hollande, 1981. Evidence of somatostatin, gastrin and pancreatic polypeptide-like substances in the mucosa cells of the gut in fishes with and without stomach. *Cell Tissue Res.*, 216:193-203.

- (15) Noorden Svan and J. M. Polak, 1980. Hormones of the alimentary tract. In: Barrington EJV(ed) Hormones and evolution. Academic Press, New York, pp 791-828.
- (16) Polak, J. M. and S. E. Bloom, 1980. Neural and cellular origin of gastrointestinal hormonal peptides in health and disease. In: Jerzy Glass GB(ed) Gastrointestinal hormones. Raven Press, New York, pp 19-51.
- (17) Reifel, C. W. and R. D. Linden, 1983. Endocrine cells in the gastrointestinal tracts of 3 teleostean species. Anat. Anz., Jena., 154: 413-418.
- (18) Reinecke, M., K. Almasan, R. E. Carraway, V. Holmstaedter and W. G. Forssmann, 1980a. Distribution patterns of neurotensin-like immunoreactive cells in the gastro-intestinal tract of higher vertebrates. Cell Tissue Res., 205: 383-395.
- (19) Reinecke, M., R. E. Carraway, S. Palmer, G. E. Faurle and W. G. Forssmann, 1980b. Occurrence of neurotensin-immunoreactive cells in the digestive tract of lower vertebrates and deuterostomian invertebrates. A correlated immunohistochemical and radioimmunochemical study. Cell Tissue Res., 212: 173-183.
- (20) Rombout, J. H. W. M., 1977. Enterendocrine cells in the digestive tract of *Barbus conchionius* (Teleostei, Cyprinidae). Cell Tissue Res., 185: 435-450.
- (21) Rombout, J.H.W.M., and J.J. Taverne-Thiele, 1982. An immunocytochemical and electronmicroscopical study of endocrine cells in the gut and pancreas of a stomachless teleost fish,

Barbus conchonioides (Cyprinidae). Cell Tissue Res., 227: 577-593.

- (22) Rombout, J.H.W.M. and M. Reinecke, 1984. Immunohistochemical localization of (neuro-) peptide hormones in endocrine cells and nerves of the gut of a stomachless teleost fish, *Barbus conchonioides* (Cyprinidae). Cell Tissue Res., 237:57-65.
- (23) Rombout, J.H.W.M., 1985. Function and origin of endocrine cells in gut and pancreas of teleost. Acta Microscopica, 8(3): 329-335.
- (24) Rombout, J.H.W.M., C.P.M. van der Grinten, F.M. Peete Hinkhorst, J.J.Taverne-Thiele and H. Schooneveld, 1986. Immunocytochemical identification and localization of peptide hormones in the gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine system of the mouse and a stomachless fish, *Barbus conchonioides*. Histochemistry, 84: 471-483.
- (25) Solcia, E., C. Capella, R. Buffa, B. Frigerio, L. Usellini, R. Flocca, 1980. Morphological and functional classification of endocrine cells and related growth in the gastrointestinal tract. In: Jerzy Glasz GB(ed) Gastrointestinal hormones. Raven Press, New York, pp 1-17.
- (26) Sornberger, L.A., 1979. Immunohistochemistry. 2nd edn. John Wiley and Sons, New York.
- (27) Yamada, J., N. Kitamura and T. Yamashita, 1985. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRR-, APP-, Glucagon-, 5-HT*, and Neurotensin-immunoreactive