

DOI: 10.5846/stxb201712262326

吕建伟, 李小平, 谢振丽, 朱琨, 谢志刚, 徐兴军, 王昌河. 小鼠肠道组织结构在低温环境下的适应性调整. 生态学报, 2018, 38(23): - .

Lü J W, Li X P, Xie Z L, Zhu K, Xie Z G, Xu X J, Wang C H. Morphological and histological plasticity in digestive tracts of cold-acclimated Kunming laboratory mice. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(23): - .

小鼠肠道组织结构在低温环境下的适应性调整

吕建伟¹, 李小平¹, 谢振丽¹, 朱琨¹, 谢志刚¹, 徐兴军¹, 王昌河^{1,2,*}

1 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 齐齐哈尔 161006

2 西安交通大学生命科学与技术学院, 西安 710049

摘要: 对长期(3个月)处于低温条件下的小鼠各肠道组织结构的适应性变化进行了比较研究。低温驯化后小鼠的体重($P<0.05$)、消化道总长度($P<0.05$)、小肠长度($P<0.01$)和盲肠长度($P<0.05$)显著增加,而十二指肠肠腔截面面积未发生显著变化,提示小鼠的肠腔隙体积在低温环境下明显增加。同时,低温驯化小鼠十二指肠的肠道和肠壁组织截面面积均显著降低($P<0.05$),而其绒毛高则显著增加($P<0.001$),提示其黏膜层厚度增加,而黏膜下层结构趋于萎缩,表明小鼠肠道组织的形态结构为应对低温条件已经产生了适应性调整,即通过增加消化道的长度和营养物质的吸收面积来增加食物摄取量、食物吸收速率和吸收效率等,进而满足低温条件下小鼠能量需求的增加。相比之下,低温鼠的胃大小、盲肠重量、大肠长度与重量、直肠组织结构均未产生显著变化,暗示这些肠道结构对外界温度变化的敏感性相对较低。研究结果表明,小型哺乳类主要通过增大消化道长度和吸收面积来提高其消化效率,通过改变消化道的形态和结构来提高消化和吸收效率,以便更好地去适应环境温度变化而导致的能量需求变化。

关键词: 消化道形态;十二指肠;组织结构;低温适应

Morphological and histological plasticity in digestive tracts of cold-acclimated Kunming laboratory mice

LÜ Jianwei¹, Li Xiaopeng¹, XIE Zhenli¹, ZHU Kun¹, XIE Zhigang¹, XU Xingjun¹, WANG Changhe^{1,2,*}

1 College of Life Science, Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

2 School of Life Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

Abstract: The present study investigated adaptive changes in the intestinal tissue structure of mice subject to long-term cold exposure. The body weight ($P<0.05$), total digestive-tract length ($P<0.05$) and small intestine length ($P<0.01$) of the mice were increased by cold exposure, whereas the lumen area of the duodenum remained unchanged, indicating that the digestive volume and food capacity of mice are increased in cold environment. In addition, the section and wall areas of the duodenum were significantly reduced by cold exposure ($P<0.01$), whereas the villus height was increased, indicating the increased thickness of mucosal layer but the decreased thickness of submucous layer in mice under long-term cold exposure. These results demonstrate that gastrointestinal tracts of small mammals are capable of adaptive changes to cope with cold environments by increasing digestive tract length and absorption area for higher absorption rate and efficiency. In contrast, the stomach size, cecum length, caecum weight, and rectum histology were not attested significantly, indicating that the morphology of these structures is relatively stable. Collectively, these results demonstrate that mice are able to adapt to changes in environment temperature and energy demand via phenotypic plasticity in digestive morphology and histology.

基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12531764)

收稿日期: 2017-12-26; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: changhecool@163.com

Key Words: duodenum; morphology; histology; dynamic changes; cold adaptation

寒冷是北方野生小哺乳动物经常遇到的环境压力,温度作为自然环境中最重要影响因子之一,对动物的生长发育、取食消化、代谢产热与繁殖活动等都会产生显著影响^[1-4]。作为动物处理、消化、吸收食物和获得能量的重要器官,消化道的形态结构直接影响动物对食物的摄取和能量的吸收,进而影响其生长发育与繁殖。消化道大小和形态的自我调节是动物获能策略的重要组成部分,是动物对外界环境条件与自身生理需求作出的响应和适应性调整,其变化与环境温度、食物质量^[5-8]以及繁殖状况^[9-10]等因素密切相关。因此,研究长期冷暴露下小型啮齿动物消化道形态与组织结构的变化不仅有助于理解小型动物在低温环境下的取食与消化对策,还对理解生物在极端温度环境下的能量代谢及其适应性调整具有重要的生物学意义。

小型动物主要通过消化道容积的改变和消化道壁组织结构的变化来调节其形态结构,以适应其在不同环境及其不同生理条件下的能量需求。在环境温度低、能量需求增加或食物质量下降的情况下,为满足代谢需求,小型恒温动物通常会增加消化道容积或道壁组织结构以提高摄食量或提高消化效率。如,张志强和王德华^[11]对能蒙古太仆寺旗的长爪沙鼠肠道长度的季节变化进行了系统研究,发现其小肠和大肠长度在春冬季最长、夏季最短。朱万龙等^[12]发现横断山区大绒鼠小肠和盲肠长度随温度降低而显著增加。Del Valle 等^[13]则发现冷暴露条件下南美原鼠(*Akodon azarae*)小肠的长度和鲜重均大于对照组。宋志刚等人^[14]发现长期冷暴露孕鼠(*Microtus brandti*)的胃、小肠、盲肠和结肠鲜重明显高于温暖环境下的孕鼠和非繁殖期雌鼠。目前大多的研究报道主要集中在消化道的长度及重量的变化上,认为较长的消化道长度意味着较大的肠腔容量,而较大的鲜重和干重则代表较复杂的肠道微结构和更为有效的消化与吸收效率^[13]。

肠道是由肠绒毛、肠腺、毛细血管、毛细淋巴管及内层环肌与外层纵肌等组成的多层次的复杂而精密的组织结构,这些结构的可变性与多变性是引起肠道组织针对外界环境做出适应性调整的重要方式。一般认为消化道容积的改变可能是由消化道长度或管径的变化引起的,而其组织结构的变化主要表现为微绒毛数量、浆膜厚度、管壁厚度及其他组织结构的变化。因此,长度和重量两个简单的指标无法真正体现肠道组织精细而复杂的可塑性变化^[15]。如, Dou 等的研究结果表明限制饮食将导致大鼠小肠萎缩,表现为绒毛长和隐窝深的显著降低^[16]。Samanya 和 Yamauchi 发现喂食 *B. subtilis* natto 会抑制氨的产生、促进细胞有丝分裂进而导致小肠绒毛长度增加^[17]。众所周知,低温条件可以引起小型哺乳动物能量需求的增加,然而,小型哺乳类肠道组织结构的变化目前还不清楚。本研究对小鼠各肠道组织结构(消化道各器官的长度、鲜重、干重以及十二指肠的肠壁总厚度、绒毛高度、内半径、外半径)在长期冷暴露条件下所做出的适应性变化进行了系统分析,不仅对长期处于低温条件下的小鼠消化道形态变化研究,同时对小鼠消化道形态及其组织结构-横截面积在低温环境下的适应性调整进行了系统研究,这为深入理解小型哺乳类在低温环境下的消化策略及其适应模式具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物为 20 日龄的昆明小鼠,将其随机分为常温对照饲养组(25℃)和低温饲养组(10℃)饲养,除温度外其他饲养条件相同。饲养过程中每日打扫鼠舍,添加鼠粮(江苏省协同医药生物工程有限责任公司)及清水,每 5 日采用精度为 1 g 的电子秤测量小鼠体重,共驯化 3 个月。

1.2 消化道形态结构测量

按 0.6 mL/100 g 体重腹腔注射 10% 的水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司)将实验小鼠进行麻醉,首先使用 300 mL 的生理盐水进行心脏灌流,原则是先快后慢。生理盐水灌流结束后,改用 200 mL 4% 的多聚甲醛进行预固定,小心的取出胃肠器官,置于生理盐水中,分离出胃(stomach, ST)、小肠(small intestine, SI)、大肠(large intestine, LI)及盲肠(caecum, CA),小心剔除肠系膜及其他组织,以生理盐水冲净内容物,平展为最

大长度,但不要拉伸,采用精度为 1 mm 的软尺测量小肠、盲肠、大肠的长度 (length, L),胃长采用精度为 0.02 mm 的游标卡尺进行测量;取十二指肠近胃 2 cm 处的片段,置于 10% 的甲醛溶液中固定,以备组织切片;用滤纸吸干剩余部分后用精度为 0.1 mg 的电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司,BSA6202S-CW)称取各器官鲜重(empty, E);然后将各器官置于 60℃ 烘箱内烘干 12 h,待重量稳定后称其重量并记录。

1.3 消化道组织结构观察与测量

十二指肠为食物消化与营养吸收的主要场所,因此本研究采用十二指肠作为主要实验材料,经 12—24 h 的固定后,经常规的水洗、脱水、透明、浸蜡和包埋处理,在室温下用德国 Leica 组织切片设备进行切片,切片厚度约 8 μ m,切片用苏木精-伊红染色法进行染色,封固后用德国 Zeiss 激光扫描共聚焦显微镜 LSM510 进行观察。选取绒毛完整、走向平直的经典视野采集图像,并用 Zeiss LSM Image Browser (Version 3.0) 进行定量分析,测定肠道截面积、肠腔截面积、肠壁总厚度、绒毛高度、绒毛宽度、直肠的环肌层厚度和纵肌层厚度等生理指标,进行统计分析。

1.4 数据处理

成像数据使用 Zeiss LSM Image Browser (Version 3.0) 和 MBF ImageJ (NIH) 进行统计和分析,各指标均以平均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SE) 表示,采用 Student's *t*-test 进行统计学检验, $P<0.05$ 被认为是差异显著。所有统计分析借助 SPSS 13.0 统计软件完成。

2 结果与分析

2.1 消化道的形态学变化

常温及低温组小鼠的体尺测量及消化道各器官(胃、小肠、大肠、盲肠)的长度、鲜重与干重测量结果如表 1 所示。低温饲养小鼠的体重($P<0.05$)、消化道总长($P<0.01$) 均明显增加。胃长、胃鲜重、胃干重在两组小鼠之间均未表现出显著性差异($P>0.05$),提示胃容量和组织结构对外界环境温度变化的敏感性较低。低温组小鼠的小肠长度显著增加($P<0.001$),但其鲜重却明显降低($P<0.05$)。低温小鼠大肠的长度和鲜重均未发生显著变化($P>0.05$),其干重显著增加($P<0.05$)。在长期冷暴露下,小鼠盲肠的长度显著增加($P<0.05$)、但其鲜重和干重却未发生显著变化($P>0.05$)。

表 1 常温与低温组小鼠消化道形态结构比较
Table 1 Weight and length of main digestive tracts

指标 Item	低温组 Lower temperature 10℃	常温对照组 Control 25℃	<i>P</i> 值 <i>P</i> value
体重 Body weight/g	41.100 $\pm$ 3.4	31.400 $\pm$ 1.1	0.033 *
消化道总长 Total length of digestive tract/cm	80.200 $\pm$ 3.900	67.400 $\pm$ 2.800	0.003 **
胃 Stomach	长度 Length/cm	1.943 $\pm$ 0.121	0.160
	鲜重 Fresh weight/g	0.201 $\pm$ 0.017	0.207
	干重 Dry weight/g	0.047 $\pm$ 0.004	0.882
小肠 Small intestine	长度 Length/cm	53.400 $\pm$ 2.109	0.001 ***
	鲜重 Fresh weight/g	1.847 $\pm$ 0.074	0.033 *
	干重 Dry weight/g	0.327 $\pm$ 0.029	0.207
大肠 Large intestine	长度 Length/cm	9.128 $\pm$ 0.740	0.407
	鲜重 Fresh weight/g	0.468 $\pm$ 0.031	0.364
	干重 Dry weight/g	0.075 $\pm$ 0.007	0.044 *
盲肠 Caecum	长度 Length/cm	2.942 $\pm$ 0.132	0.026 *
	鲜重 Fresh weight/g	0.174 $\pm$ 0.013	0.312
	干重 Dry weight/g	0.032 $\pm$ 0.003	0.115

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

2.2 十二指肠组织结构变化

运用组织切片技术分别对两组小鼠十二指肠的外径截面积、内径截面积、外径截面积-内径截面积、绒毛

长度、绒毛宽度和肠壁总厚度以及直肠的截面积、环肌层厚度和纵肌层厚度进行观察和比较(图1),进而分析长期冷暴露对小鼠消化道各项组织学指标的影响,统计结果见表2。低温组小鼠的肠道和肠壁组织截面积均显著减少($P<0.05$),而肠腔隙截面积则未发生显著变化($P>0.05$),暗示其肠道组织在低温环境下发生萎缩。与此相一致,低温组小鼠的肠壁厚度也显著减小($P<0.05$)。与肠壁厚度降低相反,低温组小鼠的绒毛高显著增加($P<0.001$),而其宽度则未发生明显变化($P>0.05$),提示其黏膜层厚度增加,而黏膜下层结构则趋于萎缩。在低温饲养条件下,小鼠十二指肠的肌肉层厚度显著增加($P<0.01$)。

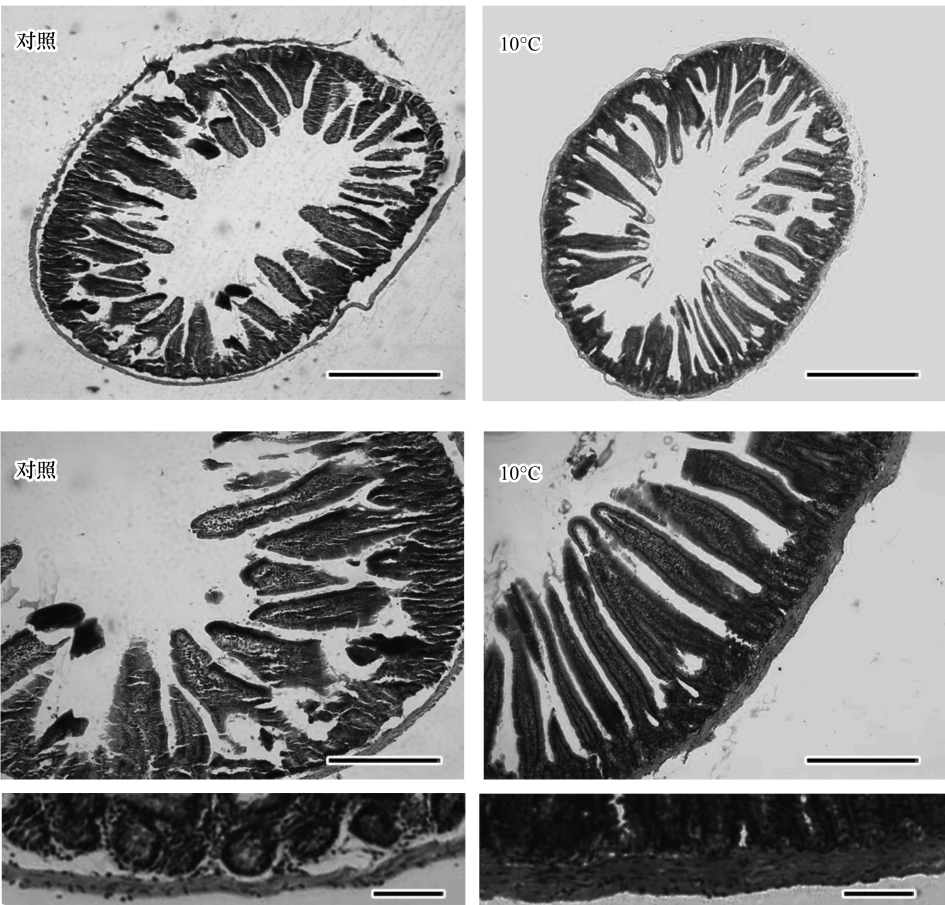


图1 常温与低温饲养小鼠十二指肠的组织切片

Fig.1 Representative micro-graphs of duodenal sections of mice maintained at 25°C (Control) or 10°C

The intestinal tissue was fixed with 10% formaldehyde solution, dehydrated in ascending series of ethanol, cleared in xylene, embedded in paraffin, sectioned, and stained with haematoxylin and eosin. The sections were observed with a Laser Scanning Confocal Microscope (LSM510, Zeiss). Scale bars: 500 μm for upper panels, 200 μm for middle panels, and 50 μm for lower panels

表2 常温对照组与低温组小鼠十二指肠的组织学结构变化

Table 2 Duodenal histomorphological changes of mice after cold acclimation

指标 Item	低温组 Lower temperature 10°C	常温对照组 Control 25°C	P 值 p value
肠道截面积 Section area/ mm^2	2.9059 $\pm$ 0.1490	3.4851 $\pm$ 0.1943	0.038 *
肠腔截面积 Lumen area/ mm^2	0.3693 $\pm$ 0.0540	0.3599 $\pm$ 0.0238	0.888
肠壁截面积 Wall area/ mm^2	2.5066 $\pm$ 0.1209	3.1253 $\pm$ 0.1818	0.021 *
肠壁厚 Wall thickness/ μm	550.3 $\pm$ 11.94	589.7 $\pm$ 13.24	0.044 *
绒毛高 Villus height/ μm	409.7 $\pm$ 12.89	330.0 $\pm$ 12.92	0.0001 ***
绒毛宽 Villus width/ μm	76.1 $\pm$ 3.62	83.5 $\pm$ 2.72	0.11
肌层厚 Muscle thickness/ μm	17.5 $\pm$ 0.97	13.9 $\pm$ 0.78	0.002 **

* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

3 讨论

寒冷是北方野生小哺乳动物冬季生存所要面临的最重要的环境压力之一,作为动物处理、消化、吸收食物和获得能量的重要器官,消化道的形态结构表现出极大的可塑性,以适应它们在低温环境下的能量获取与分配的需求。然而,小型哺乳类肠道组织结构是如何随外界环境变化而发生相应的适应性调整的目前还不清楚。本研究首次对小鼠消化道形态及其组织结构在低温环境下的适应性调整进行了系统研究,结果表明,低温小鼠肠道组织的形态结构及组织结构均已经产生了适应性调整,它们主要通过增加消化道的长度和营养物质的吸收面积来增加食物摄取量、营养的吸收速率和吸收效率等,进而满足其在低温条件下能量需求的增加。

低温饲养小鼠的体重($P<0.05$)、消化道总长($P<0.01$)均显著增加,表明小鼠可能在寒冷环境下对能量需求很高,并通过提高消化道容纳能力而获得更多的能量。同时,低温组小鼠的小肠长度显著增加($P<0.001$),肠腔横截面积没有发生明显变化,提示小鼠肠道容量明显增加,表明小鼠在寒冷环境下主要通过提高食物在小肠中的滞留时间和消化吸收面积而获得能量收支。低温组小鼠盲肠长度显著增加($P<0.05$),暗示在寒冷环境下代谢率下降、食物利用率低下,小鼠可能通过增加盲肠长度而额外获得部分能量。胃长、胃鲜重、胃干重在两组小鼠之间均未表现出显著性差异($P>0.05$),提示胃容量和组织结构对外界环境温度变化的敏感性较低。小肠,十二指肠,盲肠在寒冷环境下的变化表明消化道的形态结构表现出极大的可塑性,以适应它们在低温环境下的能量需求。

十二指肠的组织结构测量结果表明,低温组小鼠的肠道和肠壁组织截面积均显著减少($P<0.05$),而肠腔隙截面积则未发生显著变化($P>0.05$),暗示其肠道组织在低温环境下发生萎缩。与此相一致,低温组小鼠的肠壁厚度也显著减小($P<0.05$)。与肠壁厚度降低相反,低温组小鼠的绒毛高显著增加($P<0.001$),而其宽度则未发生明显变化($P>0.05$),提示其黏膜层厚度增加,而黏膜下层结构则趋于退化,表明小鼠在寒冷环境下通过提高消化和吸收营养物质的能力而增加能量获取。在低温饲养条件下,小鼠十二指肠的肌肉层厚度显著增加($P<0.01$),表明小鼠在寒冷环境下可以增加消化道蠕动力而增加消化与吸收效率。这些研究结果表明,小型哺乳动物在寒冷环境下主要通过提高肠道组织的容纳量与黏膜层厚度及肠道蠕动能力等来提升单次摄食量、食物消化与营养吸收效率等来满足其高体温调节价下的能量需求。

综上所述,本研究首次在组织水平研究了小型哺乳动物的消化道结构及其消化策略在低温环境下的适应性调整,它们主要通过增加消化道长度、肠道表面积及肌肉层厚度等来提高其食物消化和营养吸收效率,以便更好地适应环境温度变化导致的能量需求变化。

参考文献 (References):

- [1] Karasov W H. Energetics, physiology and vertebrate ecology. Trends in Ecology & Evolution, 1986, 1(4): 101-104.
- [2] Yang K, Chen J, Jiang W, et al. Conditional immortalization establishes a repertoire of mouse melanocyte progenitors with distinct melanogenic differentiation potential. Journal of Investigative Dermatology, 2012, 132(10): 2479-2483.
- [3] Sparks A M, Lind C, Taylor E N. Diet of the Northern Pacific Rattlesnake (*Crotalus o. oreganus*) in California. Herpetological Review, 2015, 46(2): 161-165.
- [4] 姜文秀, 王蓓, 王睿, 王政昆. 冷驯化条件下高山姬鼠能量对策的初步研究. 动物学杂志, 2009, 44(4): 142-149.
- [5] 汪晓琳, 鲍毅新, 郑荣泉, 吴跃灵, 卢晓伟. 黑腹绒鼠消化道长度和重量的季节变化. 兽类学报, 2007, 27(3): 284-287.
- [6] 王蓓. 云南横断山地区高山姬鼠(*Apodemus chevrieri*)能量对策的适应性研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2008.
- [7] 徐金会. 棕色田鼠能量代谢及消化道适应特征的研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2001.
- [8] 李俊生. 东北松鼠营养适应对策研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2001.
- [9] 高文荣, 朱万龙, 余婷婷, 章迪, 沐远, 郭佳, 王政昆. 禁食和重喂食对大绒鼠消化道长度与重量的影响. 动物学杂志, 2013, 48(4): 626-633.
- [10] 徐兴军, 吕建伟, 谢振丽, 计沈斌, 周双涛, 王昌河. 嫩江下游人工林中黑线姬鼠与黑线仓鼠的消化道形态及其取食策略. 动物学杂志,

- 2008, 43(6): 131-136.
- [11] 张志强, 刘全生, 王德华. 长爪沙鼠肠道 5-羟色胺细胞密度的季节变化. 兽类学报, 2009, 29(2): 167-171.
- [12] 朱万龙, 贾婷, 王睿, 练硝, 王政昆. 大绒鼠消化道形态的季节变化. 动物学杂志, 2009, 44(2): 121-126.
- [13] del Valle J C, Mañanes A A L, Busch C. Phenotypic flexibility of digestive morphology and physiology of the South American omnivorous rodent *Akodon azarae* (Rodentia: Sigmodontinae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2004, 139(4): 503-512.
- [14] 宋志刚, 王德华. 内蒙古草原布氏田鼠的最大同化能. 兽类学报, 2001, 21(4): 271-278.
- [15] Lv JW, Xie ZL, Sun YR, et al. Seasonal plasticity of duodenal morphology and histology in *Passer montanus*. *Zoomorphology*, 2014, 133(4): 435-443.
- [16] Dou YL, Gregersen S, Zhao JB, Zhuang FY, Gregersen H. Effect of re-feeding after starvation on biomechanical properties in rat small intestine. *Medical Engineering & Physics*, 2001, 23(8): 557-566.
- [17] Samanya M, Yamauchi K E. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2002, 133(1): 95-104.