

褪黑激素在黄鳝体内分布与生殖季节性变化<sup>\*</sup>

石琼 林浩然

邓柏礼

(中山大学生命科学学院, 广州 510275) (香港理工大学应用生物及化学科技学系)

**摘要** 选用处于不同性腺发育阶段的黄鳝, 采用放射免疫技术测定了脑、眼、小肠、肝、肾、脾、心、皮肤和肌肉等组织以及血清中褪黑激素的含量。结果表明, 褪黑激素在黄鳝体内的多数组织中存在(皮肤和肌肉除外), 其含量顺序为: 眼 > 全脑 > 血清 > 肝 > 小肠 > 肾 > 脾 > 心。黄鳝脑内, 以下丘脑和垂体的褪黑激素水平最高, 嗅叶、视盖与小脑居中, 端脑及延髓最低。黄鳝体内各组织中褪黑激素水平皆显示出生殖季节性变化。

**关键词** 黄鳝, 褪黑激素, 生殖季节

**分类号** Q 575. 12

在大多数脊椎动物中, 褪黑激素主要由松果腺合成与分泌<sup>[1]</sup>。虽然, 哺乳动物的视网膜、小肠和附泪腺等部位也能合成褪黑激素<sup>[2]</sup>, 但血液中褪黑激素的主要来源仍是松果腺<sup>[2, 3]</sup>。褪黑激素在合成后, 立即被释放入血流中, 进入血液循环。哺乳动物体内, 各组织从血液中吸收褪黑激素是一种普遍现象, 因此褪黑激素能将其感受的环境光信息传递给周围组织, 从而参与调节多种生理功能<sup>[4]</sup>。Menendez-Pelaez等(1993)提出, 哺乳动物体内可能存在二元系统, 即合成褪黑激素基础水平的外周组织以及形成褪黑激素日周期性变化的松果腺。在鱼类进行的相关研究很少报道。黄鳝是一种常的性转变硬骨鱼类, 褪黑激素可能通过下丘脑-脑垂体系统来调控性腺发育进程<sup>[5]</sup>。本文实验通过测定黄鳝体内各组织中的褪黑激素水平及其生殖季节变化情况, 以初步探讨松果腺之外的各器官组织在褪黑激素的合成与作用中所占的可能地位。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

黄鳝 (*Monopterus albus* Zuiew) 分别于1996年3~7, 9, 10和12月购自广州细岗市场。实验前先在实验室内暂养1周。以大多数鱼所处的时相作为生殖季节性变化的性腺发育标准时期, 各期使用黄鳝的有关生物学参素及生长条件列于表1。实验结束后用显微镜检查性腺发育状态, 鉴定标准参照文献[6]。

### 1.2 血液采集和血清制备

午夜(每天黑暗时程的中间点)时, 将实验用鱼在  $d = 5 \times 10^{-4} \text{ kg/m}^3$  的 MS-222 溶液中麻醉后, 从尾静脉取血约 1 mL。在 4℃ 冰箱中静置 3~4 h, 16 000 r/min 离心 10 min 后分离出血清, 贮于 -20℃ 冰柜中供放射免疫测定用。

\* 香港理工大学合作课题 (HKPU 340/845) 资助项目

收稿日期: 1997-07-10 石琼, 男, 27岁, 现为北京师范大学生物系博士后

表 1 各期使用黄鳝的有关生物学参数及饲养条件

Tab. 1 Biological parameters and cultured conditions of the ricefield eels at various stages

取样时间	性腺发育时期	体重 /g	性成熟系数 <sup>1)</sup> /%	光周期 (光照时间)	水温 /°C
3月	静止期II	15~ 22	0.070± 0.012	06:30~ 18:30	13~ 16
4月	静止期III	20~ 26	0.668± 0.243	06:30~ 18:30	21~ 25
5月	静止期IV	30~ 35	0.730± 0.264	06:00~ 19:00	23~ 28
6月	排卵前期	23~ 33	7.683± 2.460	06:00~ 19:00	23~ 28
7月	排卵后期 <sup>2)</sup>	25~ 33	0.690± 0.111	05:30~ 19:30	26~ 29
9月	排卵后期 <sup>3)</sup>	25~ 33	0.543± 0.200	06:00~ 19:00	17~ 20
0月	间性期	28~ 34	0.430± 0.124	06:00~ 19:00	17~ 19
12月	雄性期	90~ 124	0.096± 0.024	06:30~ 18:30	15~ 19

1) 性成熟系数为性腺质量与体质量的百分比值; 2) 早期; 3) 晚期

### 1.3 组织样品制备

(1) 取样 在做黄鳝血清褪黑激素水平的生殖季节性变化实验时, 每次在午夜挑选 10 条黄鳝, 分离出全脑、眼、小肠、肝、脾、肾、心、皮肤和肌肉等组织, 然后快速置液氮中冷冻保存, 留待组织匀浆和褪黑激素水平测定。

(2) 离区分离 在不同的生殖季节, 挑选 2 条健康黄鳝, 先分离整个脑部, 再参阅文献 [7] 进一步细分成嗅叶、端脑、视盖、下丘脑、垂体、小脑和延髓等区域, 然后将相应部分合并, 置液氮中冷冻保存备用。

(3) 组织匀浆制备 匀浆前, 向各 10 mL 塑料离心管 (盛放有相应已称重的剪碎组织, 约 20~ 200 mg) 中加入 2 mL  $c=0.1 \text{ mol/L}$  预冷的磷酸二氢钠溶液, 然后用超声波破碎仪对各管进行匀浆, 移上清, 8 000 r/min 离心 20 min 后, 再次转移上清液至  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。

### 1.4 褪黑激素的放射免疫测定

用  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_2$  从血清或匀浆贮存液样品中抽提褪黑激素后, 进行褪黑激素的放射免疫测定。方法同文献 [5], 灵敏度 5 pg/管。褪黑激素标准品购自美国 Sigma 化学公司,  $^3\text{H}$  褪黑激素购自英国 Amersham 放射化学中心, 褪黑激素抗血清由加拿大 CIDtech 公司提供。

## 2 结果

### 2.1 血清褪黑激素水平的生殖季节性变化

从 II~IV 期, 血清褪黑激素水平逐渐升高; V 期 (排卵前期) 时, 褪黑激素水平明显下降; 排卵后渐趋回升; 出现雄性组织后 (间性至雄性期), 褪黑激素水平逐步下降, 性转变成雄鳝后的水平明显低于雌性和间性各期 (图 1)。

### 2.2 组织分布和脑区分布

除皮肤和肌肉中没有检测到存在外, 褪黑激素在黄鳝体内的多种组织中均有分布, 特别是眼, 为血清中褪黑激素水平的 7~10 倍。褪黑激素在各期黄鳝体内的含量顺序为: 眼 > 全脑 > 血清 > 肝 > 小肠 > 肾 > 脾 > 心。黄鳝脑中, 以垂体和下丘的褪黑激素水平最高, 嗅叶、视盖与小脑居中, 端脑及延髓最低 (图 1)。其生殖季节性变化情况为: ① 眼球、下丘脑、小脑、肝和肾中褪黑激素的变化规律与血液一致。由于眼球可能是血液中褪黑激素的主要 (或重要) 器官, 下丘脑内褪黑激素可能主要浓集自血液<sup>[5]</sup>, 而肝和肾是血液中褪黑激素代谢的主要部位, 所以这些组织中褪黑激素的水平变化与血液一致的现象是可以理解的。

但小脑也显示出相关性变化, 则反映出褪黑激素可能参与小脑调节的部分生理作用. ② 排卵前期, 黄鳝血液中褪黑激素水平显著降低, 但全脑的平均水平出现上升, 一定程度上也可说明, 脑部褪黑激素有一部分是在原位合成的. 此外, 嗅叶与小肠等部位的褪黑激素含量也在排卵前升高. ③ 端脑、视盖、心和脾脏中褪黑激素水平相对稳定, 波动不大.

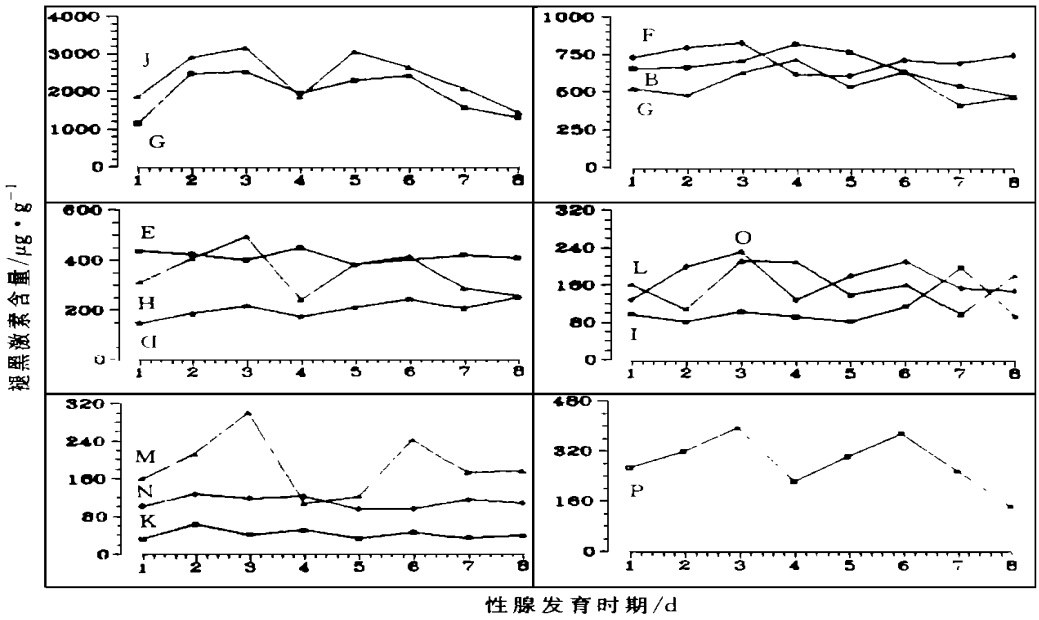


图 1 黄鳝体内各组织中褪黑激素水平 (午夜) 的生殖季节性变化  
 Fig. 1 Change of melatonin concentration in various tissues of the ricefield eels during a reproductive cycle

B 全脑; C 嗅叶; D 端脑; E 视盖; F 垂体; G 下丘脑; H 小脑; I 延髓; J 眼球; K 心; L 小肠; M 肝; N 脾; O 肾; P 血清. 横轴上的数值分别表示如下的性腺发育时期: 1 II 期; 2 III 期; 3 IV 期; 4 V 期 (排卵前期); 5, 6 排卵后期的早期与晚期; 7 间性; 8 雄性 (血清中褪黑激素水平的单位为  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

### 3 讨论

褪黑激素在黄鳝体内广泛分布, 说明褪黑激素可参与黄鳝的多种生理功能. 虽然绝大多数鱼类血液中褪黑激素水平主要来自松果腺<sup>[8]</sup>, 但对没有松果腺或松果腺比较退化的鱼类来说, 眼球是值得重视的合成器官. 从体积上说, 黄鳝松果腺细小退化 (故未能进行褪黑激素的水平测定); 从位置上看, 松果体上方无松果体窗, 而只有半透明的肌肉与颅骨覆盖不易感受光暗变化<sup>[5]</sup>, 所以眼球可能才是其血液中褪黑激素的主要来源器官.

下丘脑部褪黑激素含量仅次于眼球. 目前尚未有下丘脑脑部合成褪黑激素的报道, 所以笔者推测, 下丘脑部高水平的褪黑激素可能主要是从血液中选择性吸收积累的. 鉴于多灵敏动物体内, 褪黑激素影响下丘脑-垂体-性腺轴活动, 因此下丘脑浓集褪黑激素更能准确地将外界环境与生殖及生理活动联系起来.

前人曾指出, 高等脊椎动物的胃肠道可能也是血液中褪黑激素来源的合成部位之一. 从本文测定的相对结果推测, 虽然小肠中褪黑激素的含量很低, 但考虑到其绝对重量大, 故小肠对黄鳝血清中褪黑激素水平的贡献不可低估. 具体程度有待深入研究.

Pang 等<sup>[1]</sup>对大白鼠脑部褪黑激素区域性分布的研究结果表明, 脑部各区褪黑激素水平均现昼夜节律, 便分布不一致, 其中以下丘脑部含量最高, 其次是中脑、小脑和脑桥-延髓, 端脑最低. 基本与本文所得结果相似. Pang 等<sup>[3]</sup>认为脑部褪黑激素可能是从循环血液中吸收浓集的. 然而, 去除松果腺虽然使小白鼠脑部褪黑激素水平明显降低, 但仍可检测得到, 故而提出脑部褪黑激素的另一来源则可能是原位合成的. 对黄鳝来说, 各期黄鳝夜间的全脑褪黑激素浓度均值高于血清中褪黑激素水平 (图 1). 但脑各部重量总和大于血液, 因而黄鳝脑部的褪黑激素可能并非全部来自血液, 笔者赞成脑部褪黑激素有一部分是由脑部自身合成的. 在黑暗的条件下, 黄鳝血清褪黑激素浓度与全脑褪黑激素水平的比值为 1:2 至 1:4, 比大鼠的 1:9 及小鸡的 1:5 至 1:7 要大. 由此反推, 黄鳝脑部对血清褪黑激素水平的贡献可能相对较小. 至于其中松果腺的贡献有多大, 目前还无法证实.

### 参 考 文 献

- 1 Pang S F, Lee P P N, Chan Y S, et al. Melatonin secretion and its rhythms in biological fluids. In: Yu H S, Reiter R J, eds. Melatonin: biosynthesis, physiological effects, and clinical applications. Boca Raton: CRC Press, 1993. 129~153
- 2 Ralph C L. Melatonin production by extrapineal tissues. In: Birad N, Schlot W, eds. Melatonin: current status and perspectives. New York: Pergamon, 1981. 35~46
- 3 Pang S F. Melatonin concentrations in blood and pineal gland. In: Reiter, R J, ed. Pineal research reviews (Vol 3). New York: Alan R Liss, 1985. 115
- 4 Ebadi M. Pineal gland in synchronizing and refining physiological events. News Physiol Sci, 1993, 8: 30~33
- 5 石琼. 黄鳝褪黑激素的分泌特性及其对性腺发育的影响: [学位论文]. 广州: 中山大学生物系, 1997
- 6 Chan S T H, Phillips J G. The structure of the gonad during natural sex reversal in *Monopterus albus* (Pisces; Teleostei). J Zool Lond, 151: 129~141
- 7 李英文. 黄鳝性转变的内分泌学研究—脑区 GnRH 的分布与变化及 GnRH 分泌的离体研究: [学位论文]. 广州: 中山大学生物系, 1995
- 8 Zachmann A, Ali M A, Falcon J. Melatonin and its effects in fishes: an Overview. In: Ali M A, ed. Rhythms in Fishes. New York: Plenum Press, 1992. 149~165

## Tissue Distribution of Melatonin and Its Seasonal Change in the Ricefield Eel, *Monopterus albus* Zuiew

Shi Qiong\* Lin Haoran Tang Paklai (Deng Boli)

**Abstract** Using radioimmunoassay, tissue distribution of melatonin and its seasonal change in the ricefield eel, *Monopterus albus* Zuiew, was studied. Except for skin and muscle, melatonin was detectable in most tissues of the ricefield eels with different gonadal status. The tissue melatonin levels (pg/mL) declined in the order as follows: eye > whole brain > serum > liver > but > kidney > spleen > heart. In the brain ricefield eel, the level of melatonin was seen higher in the hypothalamus and pituitary, intermediate in the olfactory bulbs, optic tectum and cerebellum, and lower in the telencephalon and medulla oblongata. The melatonin levels in each tissue varied with season during the reproductive cycle.

**Keywords** ricefield eel, melatonin, tissue distribution

\* School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China