

• 动物及兽医生物技术 •

生长抑素受体 2 的小鼠时空组织表达谱

唐明川^{1,2}, 刘川², 李荣宇², 林慧桑², 彭艳丽², 郎依铭², 栗柯糙²,
谢中良², 李明月², 杨晓², 杨冠², 范新炯^{1*}, 滕艳^{1,2*}

1 安徽医科大学基础医学院 生物化学与分子生物学教研室, 安徽 合肥 230000

2 军事科学院军事医学研究院 生命组学研究所 国家蛋白质科学中心(北京), 北京 102206

唐明川, 刘川, 李荣宇, 林慧桑, 彭艳丽, 郎依铭, 栗柯糙, 谢中良, 李明月, 杨晓, 杨冠, 范新炯, 滕艳. 生长抑素受体 2 的小鼠时空组织表达谱[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2656-2668.

TANG Mingchuan, LIU Chuan, LI Rongyu, LIN Huisang, PENG Yanli, LANG Yiming, SU Kecao, XIE Zhongliang, LI Mingyue, YANG Xiao, YANG Guan, FAN Xinjiong, TENG Yan. Spatial and temporal expression pattern of somatostatin receptor 2 in mouse[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2656-2668.

摘 要: 生长抑素(somatostatin, SST)作为一种抑制性多肽激素, 在多种生物过程中发挥重要的功能。生长抑素受体 2 (somatostatin receptor 2, SSTR2)作为生长抑素表达最广泛的受体在多种组织中表达, 但其表达的具体细胞类型尚不清楚。本研究在小鼠不同发育阶段的多种组织中鉴定了 SSTR2 蛋白表达的细胞类型。通过多色免疫荧光在小鼠胚胎期 15.5 d、出生后 1 d、7 d、15 d、3 个月和 6 个月的脑、骨、肺、肠道、皮肤、胃、脾和肾等组织中检测了 *Sstr2* 基因的表达。结果发现 *Sstr2* 在不同发育阶段的多种组织的特定细胞类型中表达, 包括脑神经元和星形胶质细胞, 骨的间充质基质细胞、造血细胞和 B 细胞, 肺的巨噬细胞、II 型肺泡上皮细胞和气道纤毛细胞, 肠道的上皮细胞和神经元, 皮肤的毛囊细胞, 胃体的上皮细胞, 脾的造血干细胞、造血祖细胞和神经纤维, 肾的肾小管上皮细胞等。本研究确定了小鼠多组织不同发育阶段 *Sstr2* 表达的细胞类型, 为生长抑素与生长抑素受体 2 的生理功能研究提供了新的线索。

关键词: 生长抑素; 生长抑素受体 2; 多色免疫荧光

资助项目: 国家重点研发计划(2018YFA0801104)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFA0801104).

*Corresponding authors. E-mail: TENG Yan, tengyan@bmi.ac.cn; FAN Xinjiong, fanxinjiong@126.com

Received: 2022-12-08; Accepted: 2023-03-14; Published online: 2023-03-31

Spatial and temporal expression pattern of somatostatin receptor 2 in mouse

TANG Mingchuan^{1,2}, LIU Chuan², LI Rongyu², LIN Huisang², PENG Yanli²,
LANG Yiming², SU Kecao², XIE Zhongliang², LI Mingyue², YANG Xiao², YANG Guan²,
FAN Xinjiang^{1*}, TENG Yan^{1,2*}

1 Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230000, Anhui, China

2 National Center for Protein Sciences (Beijing), Institute of Vitalomics, Military Medical Research Center, Academy of Military Sciences, Beijing 102206, China

Abstract: Somatostatin (SST) is an inhibitory polypeptide hormone that plays an important role in a variety of biological processes. Somatostatin receptor 2 (SSTR2) is the most widely expressed somatostatin receptor. However, the specific cell types expressing *Sstr2* in the tissues have not been investigated. In this study, we detected the expression pattern of SSTR2 protein in mouse at different development stages, including the embryonic 15.5 days and the postnatal 1, 7, 15 days as well as 3 and 6 months, by multicolour immunofluorescence analyses. We found that *Sstr2* was expressed in some specific cells types of several tissues, including the neuronal cells and astrocytes in the brain, the mesenchymal cells, the hematopoietic cells, the early hematopoietic stem cells, and the B cells in the bone marrow, the macrophages, the type II alveolar epithelial cells, and the airway ciliated cells in the lung, the epithelial cells and the neuronal cells in the intestine, the hair follicle cells, the gastric epithelial cells, the hematopoietic stem cells and the nerve fibre in the spleen, and the tubular epithelial cells in the kidney. This study identified the specific cell types expressing *Sstr2* in mouse at different developmental stages, providing new insights into the physiological function of SST and SSTR2 in several cell types.

Keywords: somatostatin; somatostatin receptor 2; multicolour immunofluorescence

生长抑素(somatostatin, SST)是一种抑制性多肽激素,在中枢神经系统、胃肠道、视网膜、外周神经元和胰岛中表达^[1]。生长抑素与膜上的 G 蛋白偶联受体家族结合发挥生物学作用^[2]。生长抑素受体 2 (somatostatin receptor 2, SSTR2)与生长抑素结合后调节多种信号通路的活性,主要包括环腺苷酸(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)通路、电压依赖的钙离子信号通路、有丝分裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路和蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase, PTP)通路等^[3]。例如,有

文献曾报道 *Sstr2* 基因敲除小鼠在麻醉状态下胃的组胺分泌量增加,表明 SST 与 SSTR2 结合后抑制了胃壁细胞中组胺的分泌^[4]。

以前的研究中通过 Western blotting^[5]、反转录 PCR^[6]和 Northern blotting^[7]等技术发现 *Sstr2* 在多种组织中广泛表达,包括脑垂体、胰腺、肾上腺、胸腺和免疫系统等^[8]。*Sstr2* 的 RNA 原位杂交结果表明 *Sstr2* 在大脑皮层广泛表达^[9]。研究者将 β -半乳糖苷酶基因插入小鼠的 *Sstr2* 基因位点,利用 *lacZ* 来标记 *Sstr2* 的表达,该研究发现 *Sstr2* 基因在胃体中的上皮细胞和肌

间神经元表达^[10]。最近的一份研究报道了成年小鼠的多器官单细胞转录组数据库^[11]，本研究中通过该数据库发现 Sstr2 的 mRNA 在多种组织的多种细胞中表达，包括神经系统中神经元细胞、贝格曼胶质细胞和星形胶质细胞，免疫系统中的淋巴样祖细胞、调节性 T 细胞、粒单系祖细胞以及嗜碱性粒细胞和白细胞，呼吸系统中的肺支气管纤毛细胞、肺间质细胞和肺髓样细胞以及消化系统中的肠道上皮细胞等^[11]。

尽管单细胞转录组数据库提示 Sstr2 的 mRNA 在多种组织中的特定细胞类型中^[11]，但是 Sstr2 的细胞表达谱尚不清楚以及 Sstr2 在不同发育时间的表达谱也未见报道。本研究利用 Sstr2 抗体在小鼠胚胎期 15.5 d、胚胎期 18.5 d、出生后 1 d、7 d、15 d、3 个月和 6 个月的多种组织中利用免疫荧光检测 Sstr2 的表达，同时用细胞分子标记物明确表达 Sstr2 的细胞类型。本研究将为 SST 与 SSTR2 介导的生理功能研究提供新的线索。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

小鼠品系为 C57/BL6，购自北京维通利华

实验动物有限公司。小鼠饲养于无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级动物房。动物伦理审查由军事医学研究院生命组学研究所实验动物管理与使用委员会批准 (批准号为: IACUC-20180302-04MB)。

1.1.2 实验仪器

高倍正置显微镜(蔡司 Imager. A1)、可调节式恒温水浴锅(Thermo Lab-Line)、全自动 PCR 仪(东胜创新生物科技有限公司)、半自动电泳仪(Bio-Rad)、多功能旋转摇床(Scientific Industries Roto-shake Genie)、离心机(Eppendorf)、超高分辨率激光共聚焦显微镜(ZEISS LSM880)、多功能石蜡包埋机(Leica EG1150H)、半自动轮转式切片机(Leica RM2265)。

1.1.3 试剂

4%多聚甲醛、骨组织脱钙液(0.5 mol/L EDTA)、柠檬酸盐修复液(中杉金桥)、30%双氧水(上海国药)、封闭用羊血清(中杉金桥)、抗体稀释液(中杉金桥)、生物素 XX 酪胺 Super BoostTM 试剂盒(Thermo fisher)、山羊抗兔 IgG (Thermo fisher)。抗体见表 1。

1.2 方法

1.2.1 小鼠组织的取材和固定

小鼠脱颈处死后，各组织取材，包括皮肤、

表 1 本研究所用的免疫组化抗体

Table 1 Immunohistochemical antibodies used in this study

Antibody	Brand	Item No.	Concentration
Rabbit anti-C-kit	Abcam	ab231780	1:400
Rabbit anti-PDPN	CST	9047	1:1 000
Rabbit anti-N-Cadherin	Abcam	ab76011	1:300
Rabbit anti-Ki-67	CST	12202	1:300
Rabbit anti-Sox2	Abcam	Ab92494	1:400
Rabbit anti-PDGFR β	CST	3169	1:500
Rabbit anti-NeuN	Abcam	Ab177487	1:300
Rabbit anti-somatostatin receptor 2	Abcam	ab134152	1:500
Rabbit anti-PDPN	Sino Biological	50256-R066	1:1 000
Rabbit anti-Gfap	Abcam	Ab7260	1:600

肾、脾、胃、大肠、小肠、肺、股骨、胫骨和脑。各组织经磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)清洗后,置于 4%多聚甲醛固定液中,在 4 °C 摇床上缓慢振荡 12–16 h。

1.2.2 小鼠骨骼组织的脱钙

4%多聚甲醛固定后,加入 0.5 mol/L EDTA 脱钙液脱钙。骨组织根据小鼠年龄的不同脱钙时间也不同,出生 5 d 以内脱钙时间为 1 d,出生 5–15 d 时间为 3 d。出生 15 d 以上脱钙时间为 7 d。

1.2.3 组织的脱水、石蜡包埋及切片

乙醇脱水(乙醇浓度依次为 70%、80%、90%、95%、100%)。弃去乙醇溶液,加入二甲苯。组织脱水后,在 60 °C 恒温隔水式培养箱中加入石蜡。修整凝固完全的蜡块,切片 5 μm ,在 42 °C 烤片台上放置过夜,37 °C 恒温箱中烘烤 2–3 d。

1.2.4 组织抗原微波修复和过氧化氢处理

将切片置于 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液中,微波炉高火至微沸后 10 s,放置 10 min 自然冷却。切片于 PBS 溶液浸泡 5 min,重复 3 次。3% H_2O_2 室温浸泡 20 min。

1.2.5 封闭与一抗孵育

滴加山羊血清封闭于组织切片上,湿盒内室温孵育 30 min。使用一抗稀释液配制抗体溶液,滴加于组织切片上,湿盒 4 °C 孵育过夜。

1.2.6 二抗孵育与显色

PBS 溶液浸泡 5 min,重复 3 次。二抗工作液滴加于组织切片上,37 °C 孵育 30 min 后生物素 XX 酪胺 Super Boost™ 试剂盒显色。

1.2.7 洗脱、染核、封片和共聚焦显微镜的拍摄

利用生物素 XX 酪胺 Super Boost™ 试剂盒洗脱,37 °C 孵育 30 min。用 DAPI 染核 20–30 min,用水性封片剂封片。超高分辨率激光共聚焦显微镜(ZEISS LSM880)拍摄。

2 结果与分析

2.1 Sstr2 在脑神经元和星形胶质细胞的表达

在小鼠胚胎期 15.5 d、出生后 1 d、15 d 以及 3 个月的全脑矢状面切片中,发现 Sstr2 在大脑皮层及垂体等具有较高水平的表达,而不在小脑表达(图 1A–1D)。从胚胎期 15.5 d 至出生后 3 个月,Sstr2 在大脑皮层中的神经元(NeuN^+)持续表达(图 1E–1K),但 Sstr2 只在出生后的星形胶质细胞(Gfap^+)表达(图 1F–1L)。

利用神经前体细胞和新生神经元的标记物进一步检测了 Sstr2 在神经元不同分化阶段的表达情况。结果发现在胚胎期 15.5 d 表达在新生神经元细胞(DCX^+ , 图 2A1)和神经前体细胞(Nestin^+ , 图 2A2)中。在出生后 15 d, Sstr2 主要在新生神经元细胞(图 2B1)和部分的神经前体细胞中表达(图 2B2)。在小鼠 3 个月时, Sstr2 仅零散地表达在齿状回的新生神经元(图 2C1)。

2.2 Sstr2 在骨髓腔的造血、免疫和间充质基质细胞中表达

在出生后 1 d 和 7 d 的小鼠中, Sstr2 主要表达在长骨生长板的下方(图 3A、3B)。利用 Pdgfrb (间充质基质细胞的标志分子)免疫共标发现出生后 7 d 的小鼠 Sstr2^+ 细胞是间充质基质细胞(图 3B)。此外,在出生 1 d 的小鼠骨髓中, Sstr2 表达在部分造血细胞($\text{C-kit}^+\text{CD34}^+\text{Sca-1}^-$)和早期造血干细胞(Sca-1^+)中(图 3A1–3A4)。与发育早期不同,在 3 个月的小鼠长骨中 Sstr2 在生长板下方的表达消失(图 3C),只表达在部分骨髓造血细胞($\text{C-kit}^+\text{CD34}^+$)中(图 3C1–3C4)。

2.3 Sstr2 在肺的巨噬细胞、II 型肺泡上皮细胞和气道纤毛细胞表达

在小鼠胚胎期 15.5 d, Sstr2 在肺部出现零星的表达(图 4A–4A3)。出生后 1 d 的小鼠肺中,

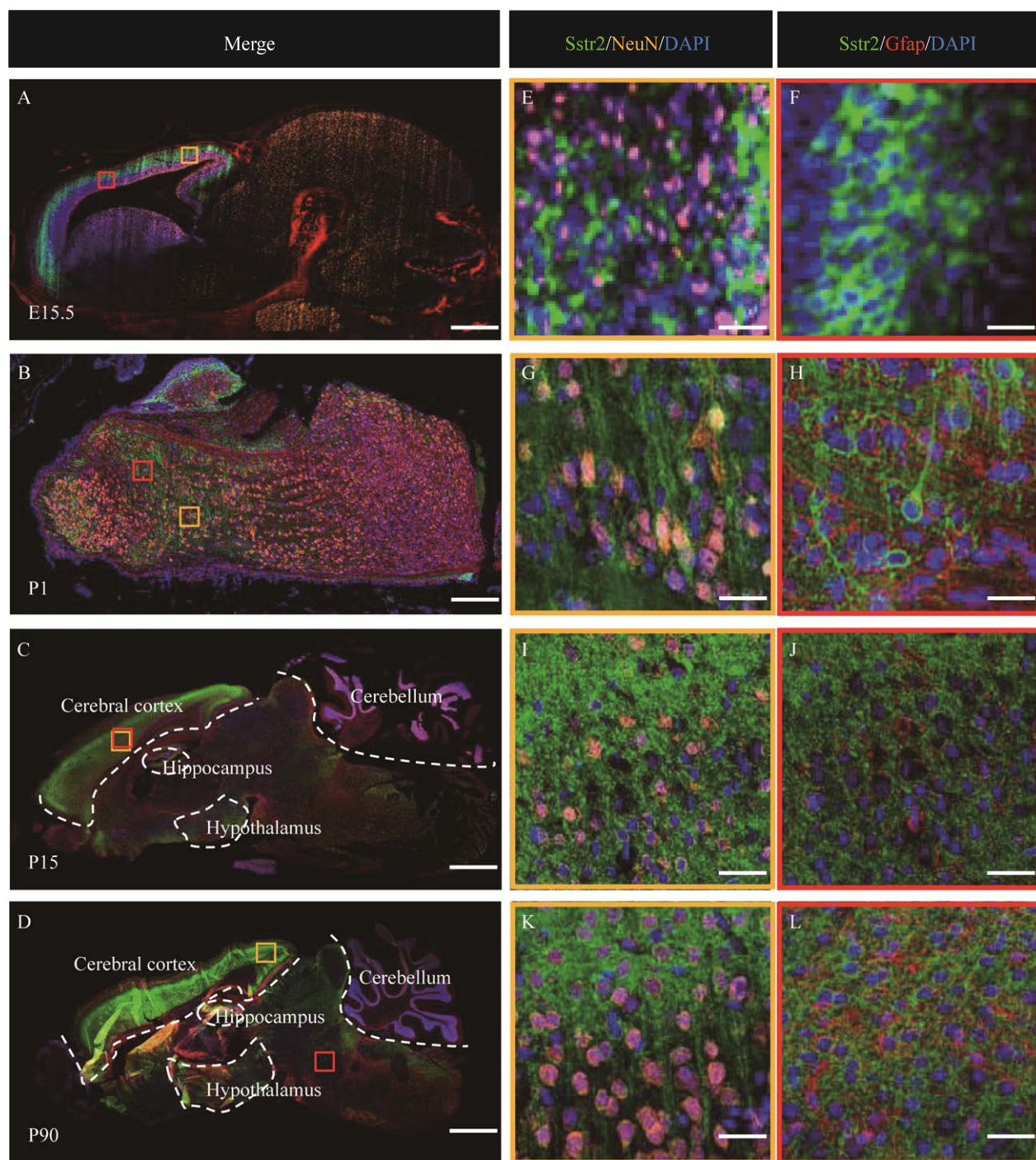


图 1 Sstr2 在脑中的表达

Figure 1 Sstr2 expression in the brain. A–D: Sstr2 was expressed (green) in the whole brain at the embryonic 15.5 days, postnatal 1 day, 15 days, and 3 months. E–L: Multicolor immunofluorescence analyses of Sstr2 and NeuN (orange, a marker of neuron) and Glial fibrillary acidic protein (Gfap, red, a marker of astrocyte). Yellow and red boxes in A–D were shown in the E–L at E15.5, postnatal 1 day, 15 days, and 3 months in the cerebral cortex. Scale bar, 100 μm in A and B, 1 000 μm in C and D, and 20 μm in E–L.

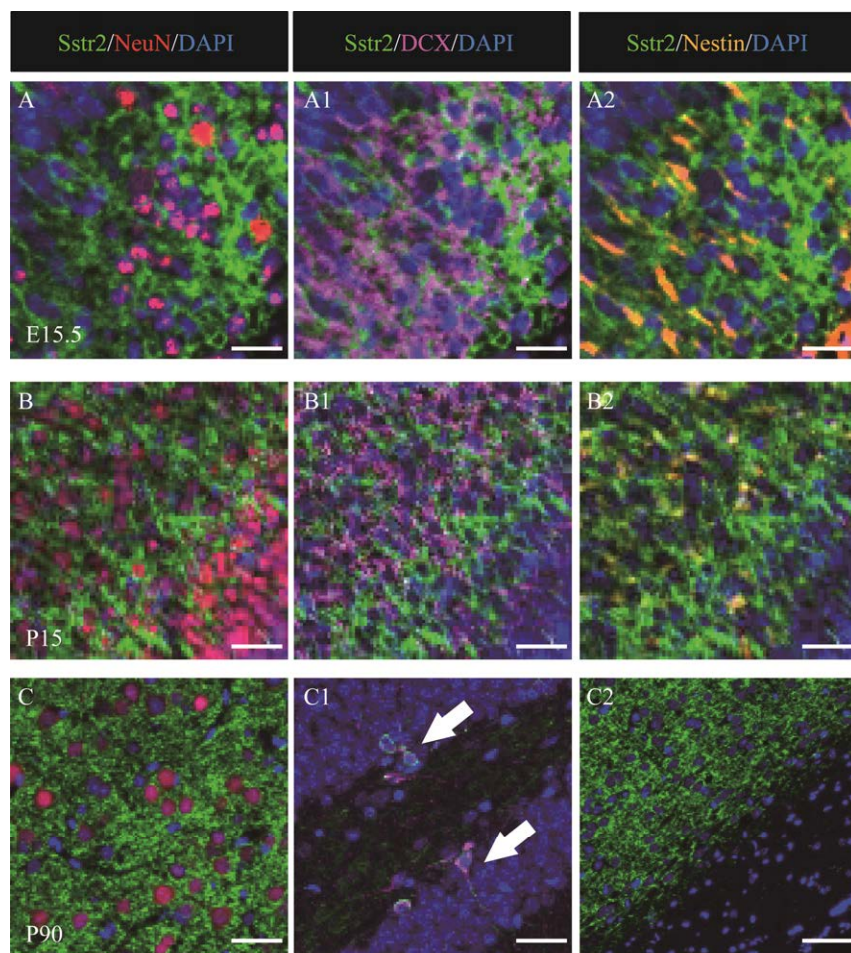


图 2 Sstr2 在神经前体细胞和新生神经元中表达

Figure 2 Sstr2 is expressed in neural stem cells and neonatal neuronal cells. A–B2: At E15.5 and P15, multicolor immunofluorescence analyses of Sstr2 and NeuN (red, a marker of neuron), doublecortin (DCX, pink, a marker of neonatal neurons) and Nestin (yellow, neural precursor cells in the brain). C–C2: At 90 days, Sstr2 was expressed in the neuronal cells and a few neonatal neuronal cells. Scale bar, 50 μ m.

Sstr2 表达在少数巨噬细胞($CD68^+$, 图 4B3), 而不在 II 型肺泡上皮细胞($Pdpr^+$)和气道纤毛细胞($Foxj1^+$)中表达(图 4B1–4B2)。出生后 7 d 的小鼠肺中, Sstr2 表达在 II 型肺泡上皮细胞、气道纤毛细胞和巨噬细胞(图 4C1–4C3)。出生后 3 个月的小鼠肺中, Sstr2 表达在气道纤毛细胞和 II 型肺泡上皮细胞中(图 4D1–4D3)。

2.4 Sstr2 在肠中上皮细胞和神经元中的表达

在胚胎 15.5 d 的小鼠中, Sstr2 表达在中肠

的少量上皮细胞($E-cadherin^+$)和神经元($NeuN^+$)中(图 5A–5A2)。在出生 1 d 的小鼠中, Sstr2 主要在小肠和大肠的肠道神经元(图 5B2、5D2)以及少数的肠道上皮细胞中表达(图 5B1、5D1)。在 3 个月的小鼠中, Sstr2 主要表达在大肠和小肠的神经元(图 5C2、5E2)以及少数的小肠上皮细胞(图 5D1)。

2.5 Sstr2 在胃的上皮细胞中表达

在出生后 1 d 小鼠的腺胃中, Sstr2 在腺胃的所有上皮细胞中($E-cadherin^+$)表达(图 6A–6A1),

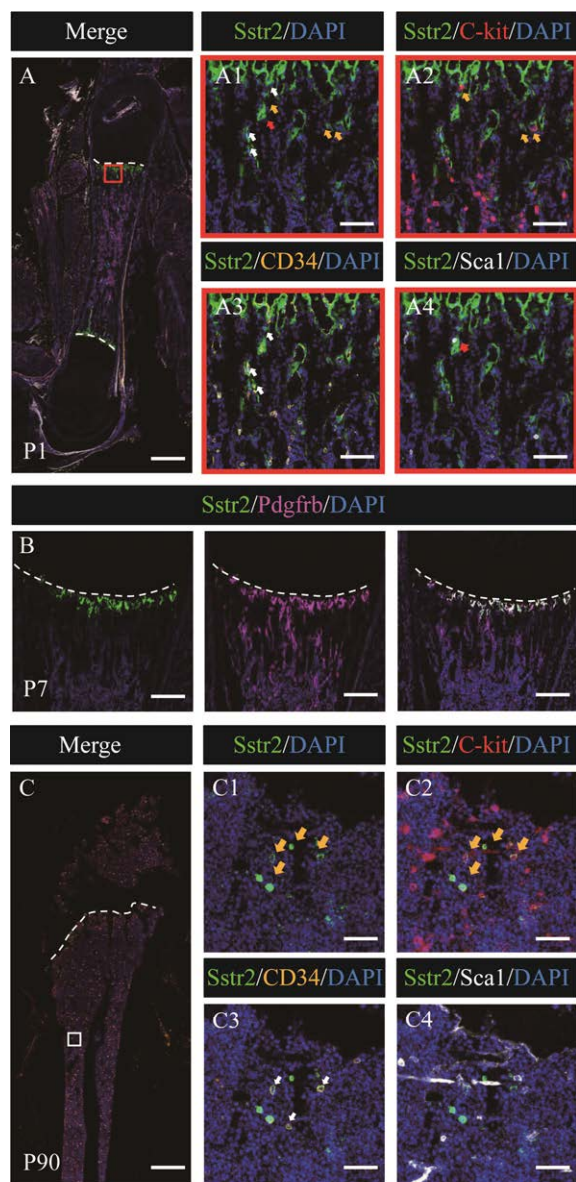


图3 Sstr2在骨髓腔中的表达

Figure 3 Sstr2 expression in the mouse femur at P1, P7, and P90. The dotted white line indicated the chondro-osseous junction. A: At P1, Sstr2 was expressed in the hematopoietic cells ($C-kit^+CD34^+Sca-1^-$) and early hematopoietic stem cells ($Sca-1^+$). Red box was shown in the A1–A4. B: Sstr2 was expressed in the mesenchymal stromal cells ($Pdgfrb^+$) under the growth plate at P7. C: At P90, Sstr2 was expressed in a few hematopoietic cells ($C-kit^+CD34^+Sca-1^-$). White box was shown in the C1–C4. Scale bar, 500 μm in A, 300 μm in B, 2 000 μm in C, and 50 μm in A1–A4 and C1–C4.

其中包括少数的胃干细胞($Sox2^+$)和增殖细胞($Ki67^+$) (图 6A2–6A3)。在出生后 15 d 小鼠的胃窦中, Sstr2 仅表达在胃窦底部的部分上皮细胞中(图 6B–6B1), 其中包括基底部的部分胃干细胞和增殖细胞(图 6B2–6B3)。在 6 个月的小鼠胃体中, Sstr2 表达在上皮细胞中, 其中包括增殖细胞和胃体底部的胃干细胞(图 6C–6C6)。

2.6 Sstr2 在皮肤毛囊细胞中表达

Sstr2 在出生后 1 d 和 7 d 小鼠皮肤的部分毛囊细胞中表达(图 7A、7B), 这群细胞也呈现旺盛增殖的状态($Ki67^+$) (图 7A1、7B1)。

2.7 Sstr2 在脾的造血干/祖细胞和神经纤维中表达

在出生后 1 d 小鼠脾脏中, Sstr2 在部分的造血干细胞($CD34^+CD45^+$)和造血祖细胞($CD34^+CD45^-$)中表达(图 8A)。但在 7 d 的小鼠脾脏中, Sstr2 主要在伴行于脾脏动脉的脾内神经纤维中($Tuj1^+$)表达(图 8B)。

2.8 Sstr2 在肾小管上皮细胞中表达

在胚胎期 15.5 d 的小鼠肾中, Sstr2 在少量近端肾小管上皮细胞($Aqp1^+$, 图 9A、9A1)和远端肾小管上皮细胞($E-cadherin^+$)中(图 9B、9B1)表达。在出生后 1 d 的小鼠肾脏中, Sstr2 表达在部分远端肾小管上皮细胞(图 9C、9C1)。

3 讨论

本研究利用 Sstr2 抗体在小鼠中刻画了 Sstr2 蛋白在多个组织中的时间空间表达谱。

与以前报道的小鼠单细胞转录组数据一致^[11], 本研究在 3 个月小鼠脑中的神经元、星形胶质细胞、骨髓造血细胞、肺的纤毛细胞和 II 型肺泡上皮细胞以及肠道中的上皮细胞和神经元中检测到了 Sstr2 的表达。除此之外, 本研究还在出生后 1 d 和 7 d 也检测到了 Sstr2 在

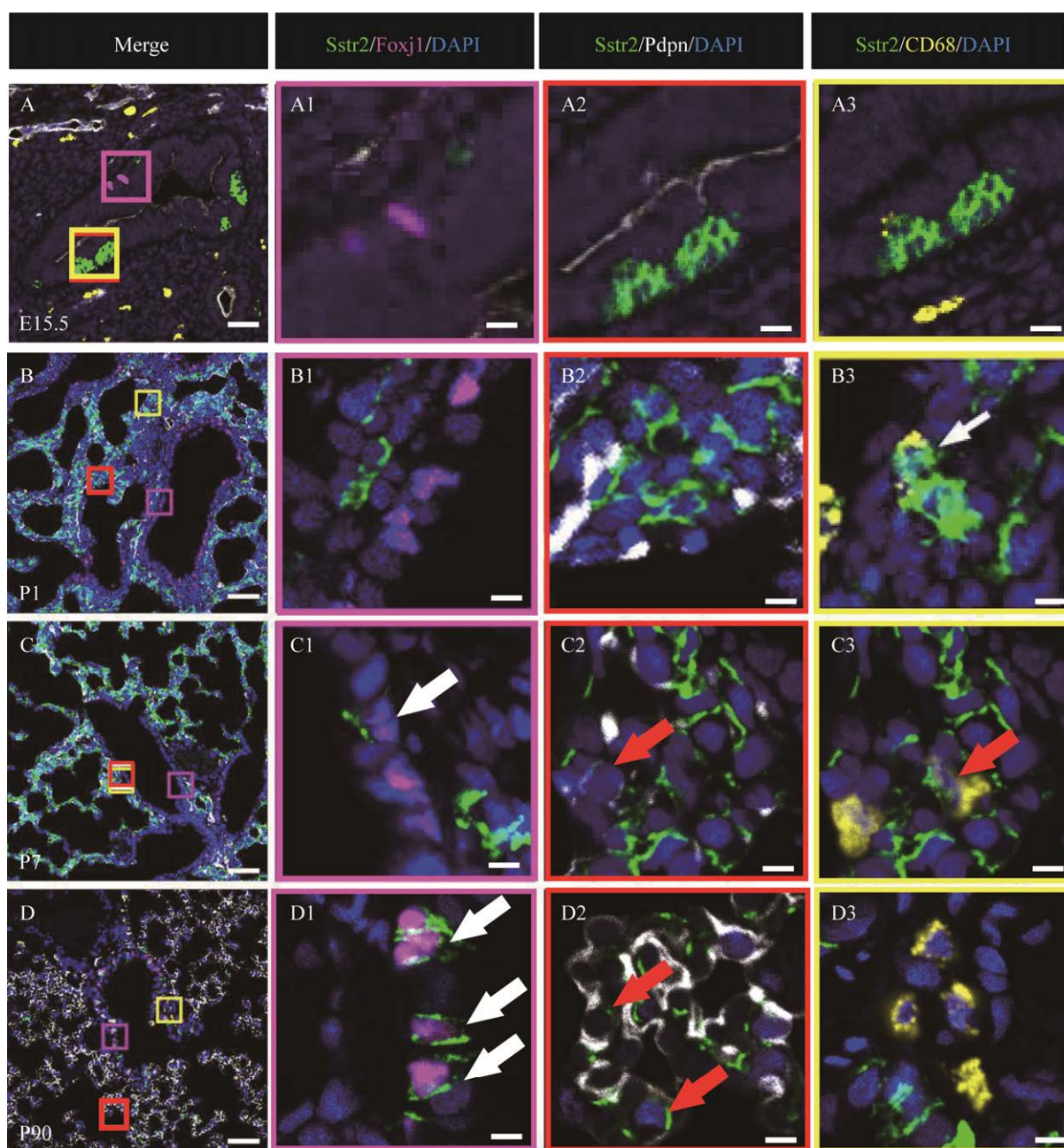


图 4 Sstr2 在肺中的表达

Figure 4 Sstr2 expression in the lung at E15.5, P1, P15 and P90. The markers for ciliated cells, type II alveolar epithelial cells, type I alveolar epithelial cells, and macrophage were Foxj1, Pdpn, and CD68, respectively. A: Sstr2 was expressed sporadically in the lung at E15.5. Pink, red and yellow boxes were shown in A1, A2 and A3. B: At P1, a few macrophages ($CD68^+$, white arrow) express Sstr2. Yellow box was shown in B3. C: At P7, Sstr2 was expressed in the ciliated cells ($Foxj1^+$, white arrow), type II alveolar epithelial cells ($Pdpn^+$, red arrow in C2), and macrophages ($CD68^+$, red arrow in C3). Pink, red, and yellow boxes were shown in C1–C3. D: At P90, Sstr2 was expressed in the ciliated cells (white arrow), type II alveolar epithelial cells (red arrow). Pink, white, and yellow boxes were shown in D1–D3, respectively. Scale bar, 50 μm in A–D, 20 μm in A1–D3.

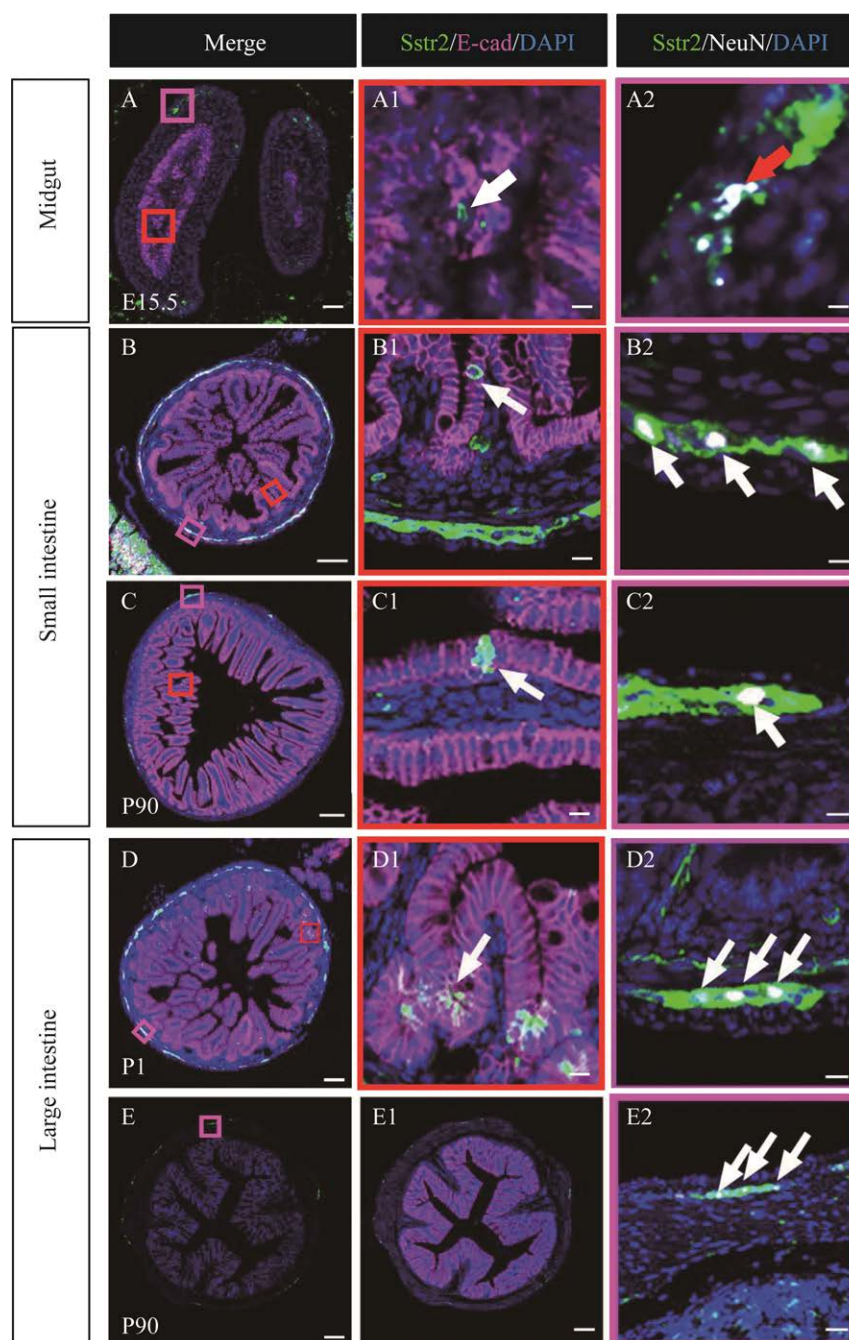


图 5 Sstr2 在肠道中的表达

Figure 5 Sstr2 expression in the intestine. The marker for the intestinal epithelial cell and neuron were E-cadherin and NeuN, respectively. A: Sstr2 was expressed in the midgut at E15.5. Red and pink boxes in A were shown in A1 and A2. B–C: Sstr2 was expressed in the small intestine at P1 and P90. At P1, a few epithelial cells (E-cadherin⁺) and neurons express Sstr2. Red and pink boxes in B and C are shown in B1 and B2 and C1 and C2, respectively. D–E: Sstr2 was expressed in the large intestine at P1 and P90. Sstr2 was expressed in neurons and some epithelial cells at P1, while is restricted to neurons at P90. Red and pink boxes were shown in D1, D2, E1, and E2, respectively. Scale bar, 100 μ m in A, D and E, 200 μ m in B and C, 20 μ m in A1–E2.

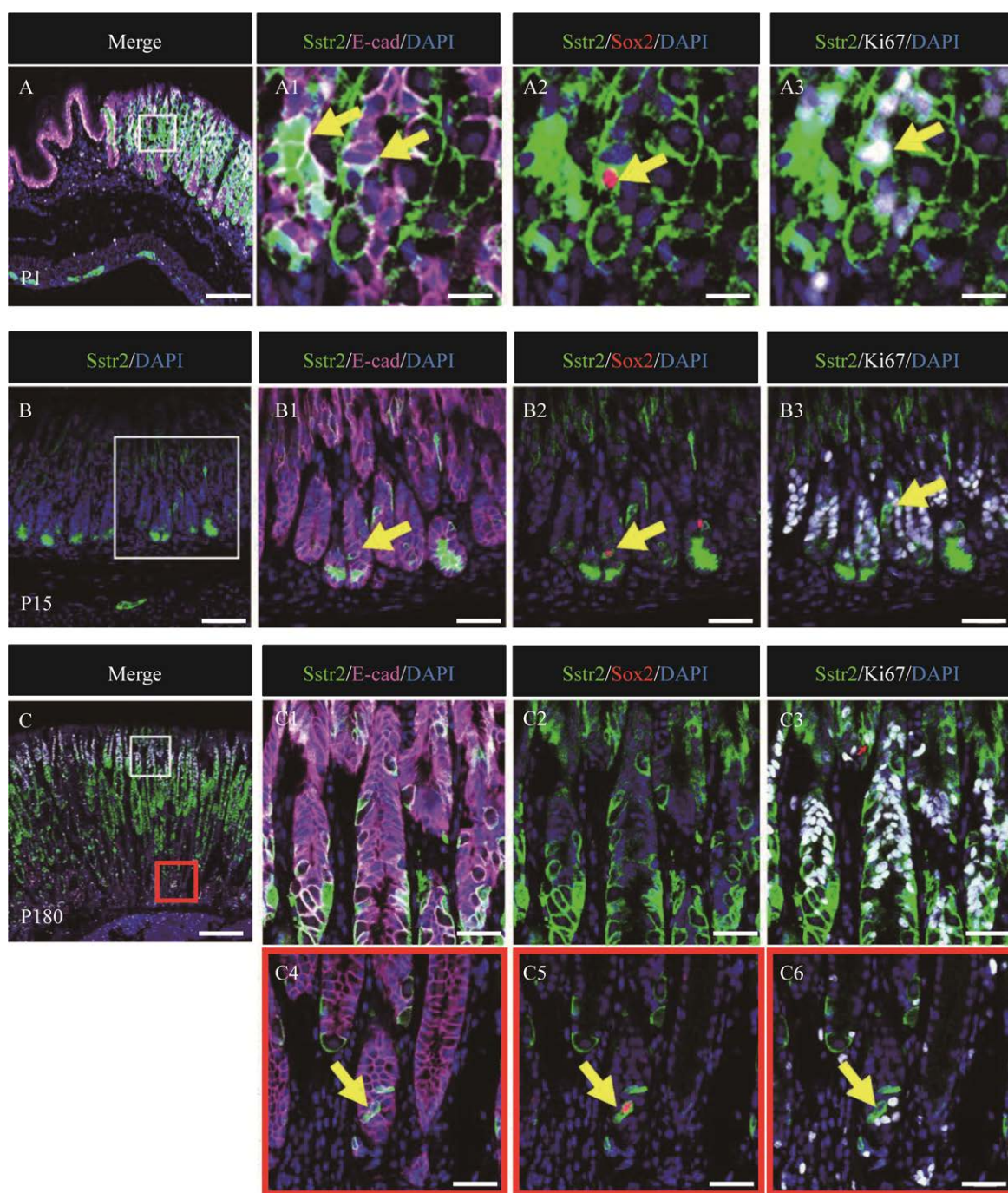


图 6 *Sstr2* 在胃中的表达

Figure 6 *Sstr2* expression in the stomach. E-cadherin, Sox2, and Ki67 were the markers for gastric epithelial cells, stem cells, and proliferating cells, respectively. A: At P1, *Sstr2* was expressed in the epithelial cells ($E\text{-cad}^+$), gastric stem cells ($Sox2^+$) and proliferating cells ($Ki67^+$), White box was shown in A1–A3. B: At P15, *Sstr2* was expressed in the epithelial cells, antral stem cells, and proliferating cells of gastric antrum. White box was shown on B1–B3. C: At P180, *Sstr2* was expressed in the epithelial cells, stomach stem cells, and proliferating cells in the gastric corpus. White box in C was shown in C1–C3. Red box in C was shown in C4–C6. Scale bar, 100 μm in A and C, 50 μm in B, 20 μm in A1–C6.

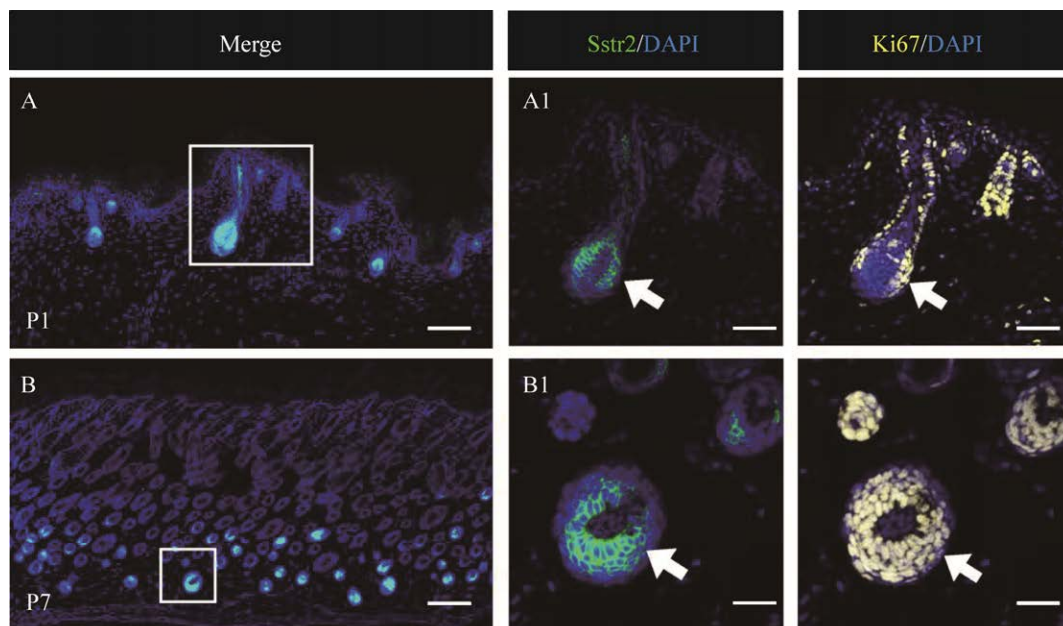


图 7 Sstr2 在皮肤中的表达

Figure 7 Sstr2 expression in the skin at P1 and P7. A: Sstr2 was expressed in the skin of mice at P1. Sstr2 was expressed in the proliferating hair follicle cells ($Ki67^+$). White box was shown in A1. B: Sstr2 was expressed in the hair follicle cells at P7. White box was shown in B1. Scale bar, 200 μm in A and B, 20 μm in A1 and B1.

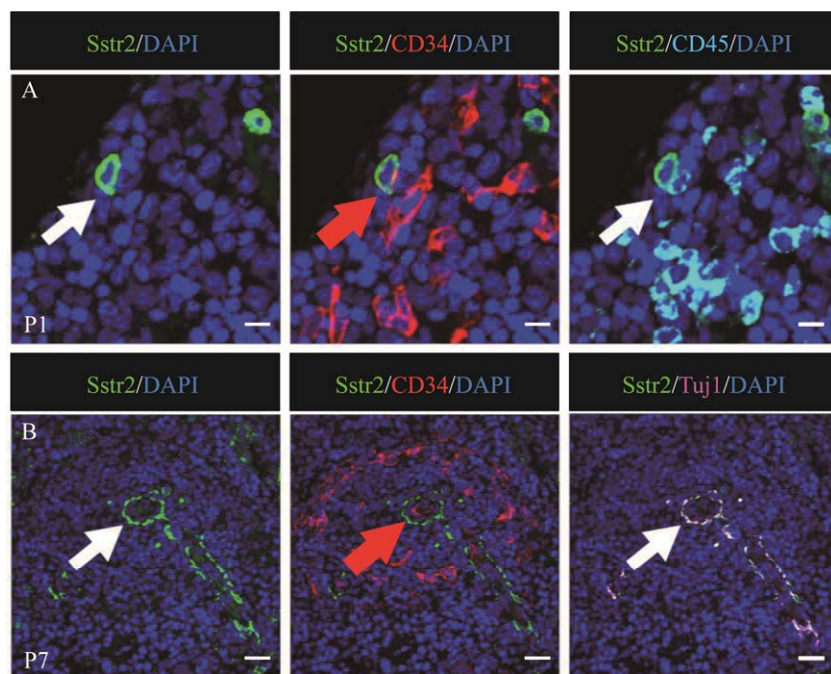


图 8 Sstr2 在脾中的表达

Figure 8 Sstr2 expression in the spleen at P1 and P7. A: Sstr2 was expressed in some hematopoietic stem cells ($CD34^+CD45^+$, red arrow) and hematopoietic progenitor cells ($CD34^-CD45^+$, white arrow) at P1. B: Sstr2 was expressed in the nerve fibroblasts ($CD34^-Tuj1^+$, white arrow) at P7. Scale bar, 20 μm .

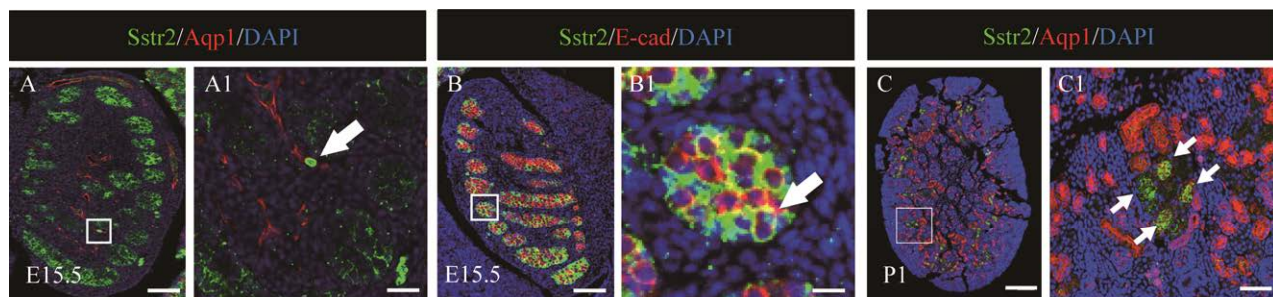


图 9 Sstr2 在肾中的表达

Figure 9 Sstr2 expression in the kidney. A: Sstr2 was expressed in the tubular epithelial cells (Aqp1⁺) at E15.5. White box was shown in A1. B: Sstr2 was expressed in the epithelial cells (E-cad⁺) at E15.5. White box was shown in B1. C: Sstr2 was expressed in the tubular epithelial cells at P1. White box was shown in C1. Scale bar, 200 μ m in C, 100 μ m in A and B, 50 μ m in B1 and C1, 20 μ m in A1.

大脑皮层中的神经元和星形胶质细胞、骨髓造血细胞、肺的纤毛细胞和 II 型肺泡上皮细胞表达。与之前报道过的 Sstr2 的免疫组化结果一致^[4,10], 在成年期小鼠胃和肠道的上皮细胞和肠道神经元中发现了 Sstr2 表达。此外, 也在出生 1 d 和 7 d 的小鼠胃和肠道的上皮细胞以及肠道神经元中检测到了 Sstr2 的表达。

以前的研究通过 β -半乳糖苷酶基因插入到小鼠 Sstr2 的基因位点, 利用 lacZ 来间接标记 Sstr2 的表达, 结果发现 Sstr2 在出生 12–17 周的海马、纹状体、整个大脑皮层以及部分前脑中表达^[12]。这与在成年期小鼠大脑中 Sstr2 表达谱一致。同时该研究表明 Sstr2 基因的敲除导致小鼠在精细运动控制测试中协调性严重受损^[12]。但此报道中并未明确检测表达 Sstr2 的细胞类型。本研究的结果显示 Sstr2 在成年期时多个脑区的神经元中表达, 因此推测 Sstr2 通过协调神经元在运动控制过程扮演着重要的功能。同时, 本研究发现在发育早期的小鼠大脑中 Sstr2 在神经前体细胞和新生神经元中表达, 提示 Sstr2 可能参与神经系统的发育。此外, 还发现在胚胎期和出生前后的小脑中发现了较高水平的 Sstr2 表达, 但成年期时小脑中这种表达几乎消

失。这与大鼠小脑中 Sstr2 的 mRNA 在出生后 23 d 表达显著下降的报道一致^[13]。这些结果表明 Sstr2 参与了小脑早期生长和发育, 但对于成年期小脑的稳态维持贡献较少。

本研究首次报道了 Sstr2 在发育早期的骨、肺、皮肤、脾和肾中的表达。在出生后 1 d 和 7 d 的小鼠长骨中, 同时发现 Sstr2 在生长板的下方区域表达量水平较高, 而且这些 Sstr2⁺细胞表达间充质基质细胞的标记物 Pdgfrb, 提示 Sstr2 可以特异性地标记位于生长板下方的一群间充质基质细胞。有趣的是, Sstr2 在生长板下方的表达在小鼠 3 个月时消失, 提示 Sstr2⁺细胞可能参与了青春期骨小梁的发育。此外, 本研究还发现在出生 1 d 和 7 d 的小鼠肺部有少数巨噬细胞表达 Sstr2, 但在 3 个月时这群 Sstr2⁺巨噬细胞消失, 提示 Sstr2 可能在肺的发育早期参与免疫反应。在出生 1 d 和 7 d 的小鼠中发现 Sstr2 在皮肤毛囊细胞、脾的造血干细胞、造血祖细胞和脾内神经纤维细胞以及肾小管上皮细胞表达, 但是随着小鼠的生长发育, Sstr2 的表达在成体期消失。Sstr2 在发育早期多组织的一过性表达提示 Sstr2 阳性的细胞参与了皮肤、脾和肾的发育过程。

综上所述, 本研究借助多色免疫荧光技术在多种组织中明确了表达 *Sstr2* 的细胞类型, 发现 *Sstr2* 在不同发育阶段在特定的细胞类型中表达, 为 *Sstr2* 所参与信号通路生理功能提供了新的线索。

REFERENCES

- [1] LAMBERTS SW, van der LELY AJ, HOFLAND LJ. New somatostatin analogs: will they fulfil old promises?[J]. *European Journal of Endocrinology*, 2002: 701-705.
- [2] REISINE T. Somatostatin receptors[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 1995, 269(6): G813-G820.
- [3] PATEL YC. Somatostatin and its receptor family[J]. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1999, 20(3): 157-198.
- [4] PIQUERAS L, MARTÍNEZ V. Role of somatostatin receptors on gastric acid secretion in wild-type and somatostatin receptor type 2 knockout mice[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2004, 370(6): 510-520.
- [5] WU W, ZHOU YX, WANG YL, LIU LH, LOU JY, DENG YC, ZHAO P, SHAO AW. Clinical significance of somatostatin receptor (SSTR) 2 in meningioma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 1633.
- [6] FOIANI G, GUELFY G, CHIARADIA E, MANCINI F, TRIVELLI C, VITELLOZZI G, LEPRI E, MANDARA MT. Somatostatin receptor 2 expression in canine meningioma[J]. *Journal of Comparative Pathology*, 2019, 166: 59-68.
- [7] BREDER CD, YAMADA Y, YASUDA K, SEINO S, SAPER CB, BELL GI. Differential expression of somatostatin receptor subtypes in brain[J]. *The Journal of Neuroscience*, 1992, 12(10): 3920-3934.
- [8] BARNETT P. Somatostatin and somatostatin receptor physiology[J]. *Endocrine*, 2003, 20(3): 255-264.
- [9] KONG H, DePAOLI AM, BREDER CD, YASUDA K, BELL GI, REISINE T. Differential expression of messenger RNAs for somatostatin receptor subtypes SSTR1, SSTR2 and SSTR3 in adult rat brain: analysis by RNA blotting and *in situ* hybridization histochemistry[J]. *Neuroscience*, 1994, 59(1): 175-184.
- [10] ALLEN JP, CANTY AJ, SCHULZ S, HUMPHREY PPA, EMSON PC, YOUNG HM. Identification of cells expressing somatostatin receptor 2 in the gastrointestinal tract of *Sstr2* knockout/*lacZ* knockin mice[J]. *The Journal of Comparative Neurology*, 2002, 454(3): 329-340.
- [11] CONSORTIUMTTM, COORDINATIONO, COORDINATIONL, PROCESSINGOCA, SEQUENCING LPA, DATAANALYSISC, ANNOTATIONCT, GROUPW, TEXTWRITING GROUPS, INVESTIGATORSP. Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris[J]. *Nature*, 2018, 562(7727): 367-372.
- [12] ALLEN JP, HATHWAY GJ, CLARKE NJ, JOWETT MI, TOPPS S, KENDRICK KM, HUMPHREY PPA, WILKINSON LS, EMSON PC. Somatostatin receptor 2 knockout/*lacZ* knockin mice show impaired motor coordination and reveal sites of somatostatin action within the striatum[J]. *European Journal of Neuroscience*, 2003, 17(9): 1881-1895.
- [13] GONZALEZ BJ, LEROUX P, BODENANT C, LAQUERRIÈRE A, COY DH, VAUDRY H. Ontogeny of somatostatin receptors in the rat brain: biochemical and autoradiographic study[J]. *Neuroscience*, 1989, 29(3): 629-644.

(本文责编 郝丽芳)