论著

文章编号:1000-5404(2014)12-1268-05

Kit信号通路调控成年小鼠Cajal间质细胞的表型改变

韩 鹃[1],梅 峰[2],乔着意[1],王 梅[1],任慧琴[1],赵庆波[1],刘 剑[1] (400020 重庆,解放军第324医院急诊科[1];400038 重庆,第三军医大学基础医学部组织与胚胎学教研室,重庆市神经科学研究所[2])

[摘要] **目的** 通过构建阻断Kit信号的动物模型,观察结肠壁内Cajal间质细胞(interstitial cells of cajal,ICC)数量与网络的变化,探讨调控ICC可塑性的分子机制。**方法** 选取45只4周龄健康BALB/c小鼠,体质量18~20 g,酪氨酸激酶特异性抑制剂伊马替尼(imatinib,STI571)灌胃制作动物模型,全层铺片Kit/CD44双重荧光标记观察造模后0、8、16 d及停药8、16 d,各亚型Kit^+和$CD44^+$ICC数量和形态的变化,Western blot和实时定量荧光RT-PCR分别从蛋白水平和基因水平检测Kit和CD44量的变化。**结果** ①以近端结肠为例,Imatinib可致结肠壁内Kit^+ICC-IM、ICC-MY数量明显减少,用药16 d其数量下降至对照组的50%左右[ICC-MY:(136.17±3.56) *vs* (66.74±1.47),$P<0.05$],停药后逐渐恢复正常。②ICC-SM的数量及网络在整个实验过程中没有明显变化。③用药后,Kit蛋白水平和基因水平均明显下降,停药后恢复正常。④用药后各亚型$CD44^+$ICC的数量及网络没有变化,且CD44在蛋白和基因水平均没有变化。**结论** Kit信号通路可调节结肠ICC的可塑性。抑制Kit信号通路后,ICC并没有消失,只是丢失了其Kit表型。

[关键词] Cajal间质细胞;Kit受体;CD44受体;干细胞生长因子;伊马替尼
[中图法分类号] R322.45;R329.24;R329.26 [文献标志码] A

Kit signaling regulates phenotype of interstitial cells of Cajal in adult mice

Han Juan[1], Mei Feng[2], Qiao Zhuoyi[1], Wang Mei[1], Ren Huiqin[1], Zhao Qingbo[1], Liu Jian[1] ([1]Department of Emergency, No. 324 Hospital of PLA, Chongqing, 400020, [2]Department of Histology and Embryology, Chongqing Institute of Neurosciences, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the regulatory mechanisms of the plasticity of interstitial cells of Cajal (ICC) in the colon of adult mice with imatinib (STI571)-mediated Kit signaling blockage. **Methods** Forty-five 4-week-old healthy BALB/c mice (18 to 20 g) were divided into 5 groups including a control group (treated with identical doses of normal saline), an 8 d group and a 16 d group after imatinib treatment, and an 8 d group and a 16 d group after imatinib withdrawal. The number and shape changes of Kit^+ and $CD44^+$ ICC subtypes (ICC-MY, ICC-SM, ICC-IM, and ICC-SS) were revealed by fluorescence immunoassay with anti-Kit antibody and CD44 antibody. The protein and mRNA changes of Kit and CD44 were measured by Western blotting and real time RT-PCR, respectively. **Results** (1) Imatinib treatment led to a gradual reduction of Kit^+ ICC-IM and ICC-MY numbers to almost 50% that of the control group in day 16 (ICC-MY: 136.17±3.56 *vs* 66.74±1.47, $P<0.05$), and the numbers recovered to normal within 16 d after imatinib withdrawal. (2) The number and network of Kit^+ ICC-SM did not change during the whole process. (3) Kit protein and mRNA also decreased in a time-dependent manner and recovered to normal after imatinib withdrawal. (4) The $CD44^+$ ICC did not change significantly in amount during the process, and neither did CD44 protein and mRNA. **Conclusion** Kit signaling regulates ICC plasticity in the colon of adult mice. ICC loses Kit phenotype after blockage of Kit signal pathway, while CD44 expression is not affected.

[**Key words**] interstitial cells of Cajal; Kit; CD44; stem cell factor; imatinib

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing(CSTC2012jjA1561). Corresponding author: Mei Feng, E-mail: meifeng.mail@163.com

[基金项目] 重庆市自然科学基金(CSTC 2012jjA1561)
[通信作者] 梅 峰,E-mail:meifeng.mail@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140126.1056.019.html(2014-01-26)

Cajal 间质细胞(interstitial cells of cajal,ICCs)是以网络形式存在于胃肠壁内的特殊间质细胞,病理条件下,ICCs 的功能和蛋白表达,即表型(phenotype),可以发生改变,当病理因素消除后,其表型恢复正常,ICCs 的这种随环境出现的表型改变被称为"可塑性"。但调控 ICCs 表型改变的分子机制目前并不清楚。ICCs 持续表达由 c-Kit 原癌基因编码的Ⅲ型酪氨酸激酶 Kit 受体,能够与由平滑肌细胞 Sl 基因编码的配体:干细胞生长因子(stem cell factor,SCF)结合,通过激活胞内信号通路调控 ICCs 的发育、增殖、分化及死亡[1]。研究表明:如果在胚胎中晚期和新生早期,应用特异性中和抗体(Ack-2)阻断 Kit 受体的功能,发现 ICCs 的发育受阻,细胞数量明显减少,细胞网络不完整[2]。且在 c-Kit 突变的 W/W^V 小鼠、W/W^S 大鼠,或者 Sl 基因突变的 Sl/Sl^d 小鼠动物模型中,由于 Kit 蛋白或 SCF 的缺失,导致胃肠壁内 ICCs 发育受阻,其数量明显减少,并伴有胃潴留、反流性食管炎、十二指肠内容物逆流等胃肠功能障碍的症状[3]。文献[4]报道:去除体外器官培养体系中的外源性 SCF,或者加入中和性抗体 Ack-2 阻断 Kit 受体的功能后,培养的小鼠小肠壁内的 ICCs 不仅增殖受到抑制,且存活的细胞数目显著减少。提示 Kit 信号通路对胚胎期和新生期,以及体外培养 ICCs 的发育、增殖、存活具有重要的调控作用。

研究发现:在体阻断 Kit 信号通路后,成年小鼠小肠 ICC 数量减少,恢复该信号后 ICC 再生。提示小肠成体 ICC 具有可塑性,且同样受 Kit 信号通路调节[5]。此外,研究发现结肠 ICC 在丢失后同样有再生的可能,但其调节机制目前仍不清楚。甲磺酸伊马替尼(Imatinib mesylate, STI571)是强效的酪氨酸激酶的竞争性抑制剂。体内和体外实验均证实 Imatinib 能够有效抑制 Kit 信号通路。因此,Imatinib 可以作为探讨结肠成体 ICC 可塑性的有效工具。

在成年啮齿类动物的结肠壁内,根据存在的部位和形态的区别,ICCs 主要分为4种亚型:(1)肌间神经丛的周围(ICC-MY);(2)靠近环肌面的黏膜下层(ICC-SM);(3)在环形平滑肌和纵行平滑肌内(ICC-IM);(4)浆膜面的结缔组织内(ICC-SS)[6]。临床研究表明,慢性传输性便秘[7]、先天性巨结肠[8]、假性肠梗阻[9]等胃肠动力障碍性疾病,均伴有不同程度的 ICC 的减少或缺失。但是引起 ICC 丢失的机制并不清楚。我们前阶段的实验推测,某些病理条件下,ICC 可能丢失其 Kit 表型,向平滑肌细胞转分化,但目前为止仍缺乏超微形态学和功能学证据[5]。实验还发现,4个亚型结肠 ICC 均表达一种跨膜糖蛋白 CD44,但胃肠壁内没有发现其他表达该蛋白的细胞[10]。因此,CD44 可作为 ICC 的新型标志物,用于检测不表达 Kit 的 ICC 的命运。

本研究利用 Imatinib 抑制 Kit 信号通路后,探讨该信号对结肠成体 ICC 的调控作用。

1 材料与方法

1.1 动物

4周龄清洁级健康 BALB/c 小鼠,体质量 18~20 g,雌雄不拘,购于第三军医大学实验动物中心。Imatinib 购于 Novartis pharma AG (Basel, Switzerland)。取45只小鼠用 Imatinib 灌胃处理,剂量为 90 mg/kg/d。分别于用药后 0、8、16 d 和停药 8、16 d 取材。

1.2 标本处理

颈脱位法处死小鼠,动物处死和饲养方法均遵守第三军医大学实验动物规则。自回盲连接处到骨盆边缘,取结肠全长,置于含 1 μmol/L 尼苯地平的 0.01 mol/L PBS 中 15 min,以确保肠肌完全放松。沿肠系膜缘剪开肠管,PBS 充分洗净肠腔内容物。将结肠分为近端、中间和末端3个部分,丙酮固定用于形态学实验。在 RT-PCR 和 Western blot 实验中,解剖显微镜下剥离黏膜和黏膜下层,机械匀浆后备用。

1.3 免疫组织化学检测

将3段结肠分别固定于固定板,丙酮固定 30 min 后去除黏膜层。染色过程与前期实验相同[11]。双重荧光标记染色方法简介如下:全层铺片经 0.01 mol/ L PBS 充分漂洗后,1% BSA 孵育 30 min 后加入第一抗体,Kit 单克隆抗体(1∶100, EBioscience 公司)4 ℃ 24 h 后再 25 ℃孵育 1 h,Cy3 标记的兔抗大鼠 IgG 抗体(1∶100,DAKO 公司)25℃孵育 1h。然后 CD44 单克隆抗体(1∶100,Boster 公司)孵育,CD44 的孵育方法同 Kit 蛋白,抗体及稀释度见表1。BX51(OLYMPUS, Japan)荧光显微镜和 TCS SP5 激光共聚焦(Leica, Germany)观察并记录结果,激发光波长分别为 Cy3(528nm)和 Cy5(650nm)。

表1 抗体名称及稀释比例

抗体名称	公司	稀释比例	种属
Kit(IF)	eBioscience	1∶100	大鼠
CD44	Boster	1∶100	兔
Kit(WB)	Santa Cruz	1∶1 000	山羊
β-action	Santa Cruz	1∶3 000	小鼠
抗大鼠 Cy3	Zymed	1∶100	兔
抗兔 Cy5	Boster	1∶50	山羊
抗山羊 HRP	DAKO	1∶2 000	大鼠
抗兔 HRP	Cell sig.	1∶3 000	大鼠
抗小鼠 HRP	DAKO	1∶5 000	山羊

1.4 实时定量 RT-PCR

TRIzol(Invitrogen)提取结肠组织全 RNA,逆转录酶 M-MLV

(TaKaRa,D2640A)将2 μg总RNA逆转录为cDNA,引物序列如下:c-Kit (Y00864,2156-2256,101 bp):上游5′-GAGCCTTC-CTGTGACAGTTCAAAT-3′;下游5′-TCTATTCTTGCGGATCTC-CTCTTG-3′;CD44(NM_001039150,289-604,333 bp):上游5′-GACTAGATCCCTCCGTTTC-3′;下游5′-TCACGGTTGACAAT-AGTTATG-3′;GAPDH (M32599,730-833,104 bp):上游5′-CATGGCCTTCCGTGTTCCT-3′;下游5′-CCTGCTTCACCACCT-TCTTGA-3′。PCR扩增条件为95 ℃ 2 min,1循环;95 ℃ 20 s,55 ℃ 20 s,72 ℃ 20 s,40循环;72 ℃ 5 min,1循环。反应体系为SYBR Premix Ex*Tag*试剂盒(TaKaRa DRR041s),Rotor-Gene 3000 detector (GENE company)检测荧光强度。设空白对照组(不加cDNA模板)。

1.5 Western blot检测

RIPA裂解液(碧云天,中国)中加入10 μg/mL抑肽酶,10 μg/mL亮肽素和1 mmol/L PMSF,用于提取结肠组织总蛋白。BCA法检测蛋白含量。7.5% SDS-PAGE胶分离100 μg总蛋白,转印至PVDF膜,5%无脂奶封闭2 h,然后分别加入对应抗体孵育,所用抗体及稀释度见表1。用ECL-plus (GE healthcare company)检测体系显像,IPP 5.0软件分析结果。

1.6 统计学分析

全层铺片在BX51 (OLYMPUS, Japan)荧光显微镜下(×200),随机选择10个视野,连接于显微镜的数字式相机(SPOT, Diagnostic Instruments, Inc)拍照,Image-Plus Pro 5.0软件计数Kit$^+$和CD44$^+$细胞数目。计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,两组比较采用独立样本t检验,组内比较采用配对t检验,多组比较采用单因素方差分析,SPSS 13.0统计软件进行分析。

2 结果

肉眼观察,Imatinib处理后的结肠颜色正常,肠管轻度扩张,肠腔内容物较对照组明显增加,提示结肠动力减弱。

2.1 ICC形态学改变

全层铺片上可见,用药0 d Kit$^+$ ICC-SM为多级细胞,其初级和次级突起平行于平滑肌方向,突起间相互联系形成致密的网络(图1)。Kit$^+$ ICC-MY同样为多突起的细胞,并形成细胞网络(图1)。一些双极的Kit$^+$ ICC-IM位于环形和纵行平滑肌内,方向与其平行(图1)。

Imatinib处理后ICC数量随时间推移逐渐减少。以近端结肠为例,用药0 d,ICC-MY密度为(136.17 ± 3.56) mm^{-2};用药8 d,细胞数量开始减少,但其数量与同期正常对照组无明显差异($P>0.05$);到用药16 d,其数量减少到对照组的50%左右[(66.74 ± 1.47) mm^{-2};用药0 d *vs* 16 d $P<0.05$]。且细胞网络变得不完整,突起变细变短,分支数量减少。停止Imatinib处理后,Kit$^+$ ICC-MY的细胞数量和网络逐渐恢复,停药8 d,细胞数量明显恢复,到停药16 d恢复至正常水平(130.92 ± 3.11) mm^{-2}(表2,图1)。ICC-IM的变化与ICC-MY是一致的(图1),且3段结肠之间无显著性差异($P>0.05$)。但是ICC-SM的数量和细胞形态在整个处理过程中,却没有明显变化(表2,图1)。

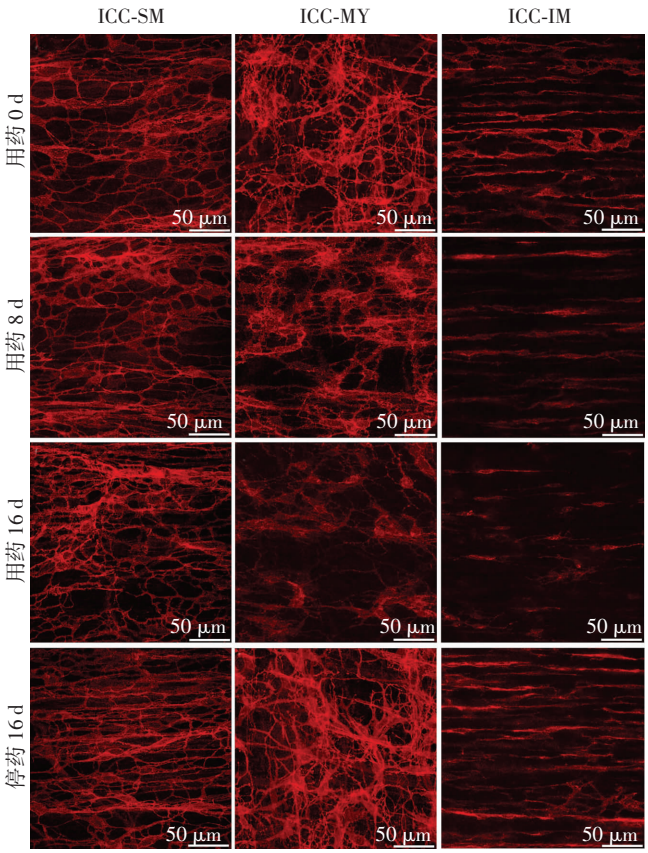


图1 全层铺片显示Imatinib处理后近端结肠各种亚型ICC形态和数量的变化

表2 Imatinib处理后近端结肠Kit$^+$和CD44$^+$细胞数目的变化($n=3$, mm^{-2}, $\bar{x} \pm s$)

时间	MY		SM	
	Kit$^+$	CD44$^+$	Kit$^+$	CD44$^+$
用药0 d	136.17 ± 3.56	136.17 ± 3.56	62.14 ± 3.60	62.14 ± 3.60
用药8 d	121.75 ± 1.75	131.26 ± 3.60	60.62 ± 1.47	60.62 ± 1.47
用药16 d	66.74 ± 1.47^a	126.65 ± 1.47^{ab}	61.34 ± 1.38	61.34 ± 1.38
停药8 d	101.64 ± 2.14^a	134.39 ± 3.02^{ab}	63.40 ± 1.57	63.40 ± 1.57
停药16 d	130.92 ± 3.11^a	132.08 ± 3.57^a	62.65 ± 2.36	62.65 ± 2.36

a: $P<0.05$, 与前一时间点比较;b: $P<0.05$,与CD44$^+$比较

Kit/CD44双重荧光染色用于比较2种蛋白免疫染色的区别。结果显示,用药0 d,ICC-MY同时表达Kit和CD44(图2);Imatinib处理后,可见部分Kit$^-$/CD44$^+$的ICC-MY样细胞,提示这些细胞可能丢失了Kit表型,但仍然存在(图2)。停药后,Kit$^+$ ICC数量及网络逐渐恢复,到停药16 d,与CD44$^+$细胞网络完全重合(图2)。ICC-IM与ICC-MY的变化一致。

2.2 c-Kit和CD44基因水平的变化

实时定量PCR观察2种基因mRNA量的变化。免疫组化结果已明确近端、中间、远端结肠之间ICC数量之间没有明显差异($P>0.05$),且ICC-MY与ICC-IM在Imatinib处理过程中的变化趋势是一致的。因此,我们取去掉黏膜层及黏膜下层的

结肠全长用于提取总 RNA 及总蛋白。计算用药前后 c-Kit/β-actin 和 CD44/β-actin 的平均比值以探讨基因表达量的变化。Imatinib 处理后，c-Kit mRNA 逐渐减少，用药 16 d，c-Kit/β-actin 比例降至正常的 20% 左右，停药后逐渐增加，停药 16 d 恢复至正常水平。但是，CD44 mRNA 在整个 Imatinib 处理过程中没有明显变化（$P>0.05$，图 3）。

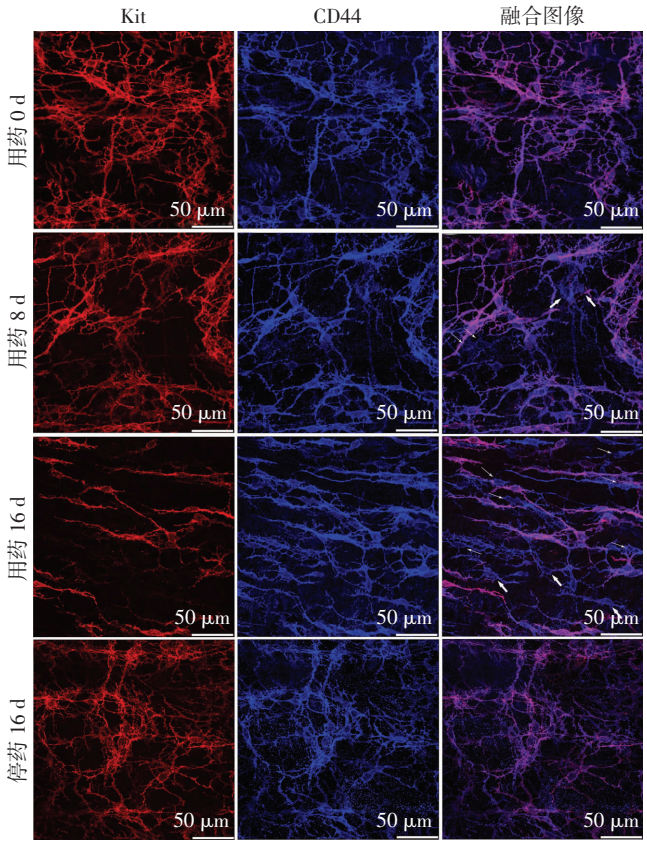
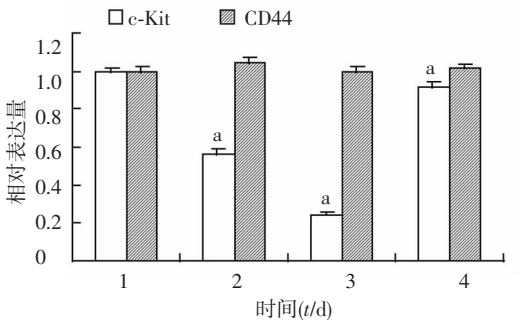


图 2　全层铺片 Kit/CD44 双重荧光标记显示 Imatinib 处理后近端结肠 ICC-MY 的变化

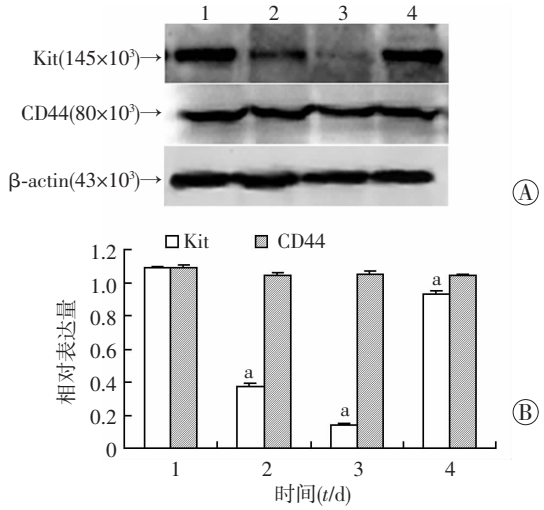


1：用药 0 d；2：用药 8 d；3：用药 16 d；4：停药 16 d；a：$P<0.05$，与前一个时间点比较

图 3　实时定量 PCR 检测 c-Kit 和肠道 CD44 mRNA 的表达

2.3　Kit 和 CD44 蛋白水平的变化

与实时定量 PCR 结果相一致，Kit 蛋白的表达量随 Imatinib 的处理时间延长而逐渐下降，到用药 16 d，Kit 蛋白表达量明显下降到几乎不能检测。而停药 16 d 后，其表达量逐渐恢复至正常。但是 CD44 的表达量在整个过程中没有明显改变（图 4）。



1：用药 0 d；2：用药 8 d；3：用药 16 d；4：停药 16 d；a：$P<0.05$，与前一个时间点比较；A：Westren blot 检测结果；B：半定量分析结果

图 4　Imatinib 处理过程中 Kit 和 CD44 蛋白表达量的变化

3　讨论

3.1　Kit 信号与 ICC 的可塑性

ICC 持续表达 c-Kit 原癌基因编码的酪氨酸激酶受体 Kit 蛋白，在调节胃肠运动功能方面起着重要的作用。目前的研究表明：Kit 信号对胚胎期和新生期 ICC 的发育、增殖和表型维持具有十分重要的作用[2,12]。利用 Kit 中和性抗体或酪氨酸激酶抑制剂，抑制该信号通路均可导致小肠 ICC 的丢失和网络破坏。同样，在 c-Kit 基因突变大鼠（Ws/Ws 型），其结肠 ICC 数量显著减少[13]。此外，在体和体外实验证实，在合适的微环境下，胃肠壁内 ICC 在丢失后可以再生，表明该细胞是具有可塑性的。我们前期的实验发现，Kit 信号通路在调节小肠 ICC 可塑性中具有重要的作用。但该信号对结肠 ICC 的作用却不清楚。本实验发现 Imatinib 抑制 Kit 信号通路后，结肠 Kit^+ ICC 数量减少，停药后逐渐恢复正常，提示 Kit 信号在结肠 ICC 可塑性方面同样起着重要的调控作用。

Kit 信号不仅与 ICC 的可塑性密切相关，同时还是影响肠道慢波的重要信号。抑制或下调 Kit 信号可导致肠道运动功能减弱。实验中，我们发现用药后结肠腔内容物较对照组增多，提示结肠运动功能减弱。

不同亚型 ICC 有不同的功能，ICC-SM 是结肠慢波的来源，ICC-MY 产生肠肌层的电位震荡，ICC-IM 介导了肠神经末梢与平滑肌细胞之间的递质传递[14]。前阶段的实验发现豚鼠小肠各亚型 ICC 对 Kit 信号的下调有着不同的反应。本实验发现，抑制 Kit 信号后，ICC-IM 和 ICC-MY 数目均明显下降，但 ICC-SM 没有明显变化，与先前在小肠中的研究结果相似。而在对新生期小鼠结肠 ICC 的研究中，我们发现 ICC-SM 的

发育与增殖同样不依赖于 Kit 信号[15],这可能是结肠不同亚型 ICC 对 Kit 信号的反应不同。但是不同亚型 ICC 对 Kit 信号不同的反应性是因为位置还是功能的差异？目前的研究仍不清楚。

3.2 CD44 和 ICC

在过去的2个多世纪以来,研究者们一直把 Kit 蛋白作为 ICC 的特异性标志物。临床研究发现,众多结肠运动功能障碍性疾病,如慢性传输性便秘,先天性巨结肠和 Hirschsprung 病,均不能程度的伴有 Kit^+ ICC 数量的减少和网络破坏。但是 ICC 丢失的机制仍不清楚。有研究者推测 ICC 可能丢失了 Kit 表型的同时转分化为某种中间型细胞,但是目前没有明确的证据证实。

CD44 是一种跨膜糖蛋白,广泛表达与间充质干细胞[16]、淋巴细胞、上皮细胞、成纤维细胞和肿瘤[17]。近来,该蛋白被证实表达于 ICC 的前体细胞和成体细胞,且在胃肠道没有其他的细胞表达[10]。因此,CD44 可被用于检测 Kit 丢失后 ICC 的命运。值得注意的是,$CD44^+$ ICC 的密度在用药和停药的整个过程没有明显变化。我们还进一步观察了 CD44 和 Kit 在蛋白水平和基因水平的量的变化。结果发现 CD44 的表达在实验过程中没有变化,但是 Kit 蛋白和 c-Kit mRNA 水平在用药后明显下降,停药后恢复正常。此外,用药后我们还发现部分 $Kit^-/CD44^+$ ICC 样细胞。因此,我们推测在抑制 Kit 信号后,ICC 逐渐丢失了 Kit 表型,但仍表达 CD44。这些 $Kit^-/CD44^+$ ICC 可能是 ICC 丢失 Kit 后的某个阶段,但是不清楚这些细胞进一步将有怎样的变化,可能转分化为平滑肌细胞？某种中间型细胞？还需要进一步的超微细胞学和功能学实验证实。

本研究发现,用药 8 d 虽然 ICC 数目没有明显减少,但 Kit 蛋白和 c-Kit 基因表达水平较正常对照已明显下降,表明单个细胞的 Kit 蛋白表达量下降,因此我们推测 Kit 信号同样可以调控 ICC 细胞自身的 Kit 蛋白表达。同样,在很多结肠动力障碍性疾病中,都不同程度的伴有 Kit^+ ICC 数目的减少和功能不良,但调控该蛋白表达的下游途径和转录调节目前仍不明确,阐明调控 Kit 蛋白表达的分子机制在未来治疗胃肠动力障碍性疾病中起着非常重要的作用。

参考文献:

[1] Ward S M, Sanders K M. Physiology and pathophysiology of the interstitial cell of Cajal: from bench to bedside I. Functional development and plasticity of interstitial cells of Cajal networks[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 281(3): G602 - G611.

[2] Beckett E A, Ro S, Bayguinov Y, *et al*. Kit signaling is essential for development and maintenance of interstitial cells of Cajal and electrical rhythmicity in the embryonic gastrointestinal tract[J]. Dev Dyn, 2007, 236(1): 60 - 72.

[3] Huizinga J D, Thuneberg L, Kluppel M, *et al*. W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity[J]. Nature, 1995, 373(6512): 347 - 349.

[4] Nakahara M, Isozaki K, Vanderwinden J M, *et al*. Dose-dependent and time-limited proliferation of cultured murine interstitial cells of Cajal in response to stem cell factor[J]. Life Sci, 2002, 70(20): 2367 - 2376.

[5] Mei F, Han J, Huang Y, *et al*. Plasticity of interstitial cells of cajal: a study in the small intestine of adult Guinea pigs[J]. Anat Rec (Hoboken), 2009, 292(7): 985 - 993.

[6] Alberti E, Mikkelsen H B, Larsen J O, *et al*. Motility patterns and distribution of interstitial cells of Cajal and nitrergic neurons in the proximal, mid- and distal-colon of the rat[J]. Neurogastroenterol Motil, 2005, 17(1): 133 - 147.

[7] Geramizadeh B, Hayati K, Rahsaz M, *et al*. Assessing the interstitial cells of Cajal, cells of enteric nervous system and neurotransmitters in slow transit constipation, using immunohistochemistry for CD117, PGP9. 5 and serotonin[J]. Hepatogastroenterology, 2009, 56(96): 1670 - 1674.

[8] Taniguchi K, Matsuura K, Matsuoka T, *et al*. A morphological study of the pacemaker cells of the aganglionic intestine in Hirschsprung's disease utilizing ls/ls model mice[J]. Med Mol Morphol, 2005, 38(2): 123 - 129.

[9] Eshraghian A, Eshraghian H. Interstitial cells of Cajal: a novel hypothesis for the pathophysiology of irritable bowel syndrome[J]. Can J Gastroenterol, 2011, 25(5): 277 - 279.

[10] Yu B, Han J, He Y T, *et al*. Immunohistochemical study of CD44 immunopositive cells in the muscular layers of the gastrointestinal tract in adult guinea pigs and mice[J]. Acta histochemica, 2009, 111(4): 382 - 390.

[11] 韩鹃, 何扬涛, 梅峰. 小肠缺血再灌注损伤导致 Cajal 间质细胞凋亡的实验研究[J]. 局解手术学杂志, 2010,19(2): 80 - 82 .

[12] Torihashi S, Nishi K, Tokutomi Y, *et al*. Blockade of kit signaling induces transdifferentiation of interstitial cells of cajal to a smooth muscle phenotype[J]. Gastroenterology, 1999, 117(1): 140 - 148.

[13] Isozaki K, Hirota S, Nakama A, *et al*. Disturbed intestinal movement, bile reflux to the stomach, and deficiency of c-Kit^- expressing cells in Ws/Ws mutant rats[J]. Gastroenterology, 1995, 109(2): 456 - 464.

[14] Iino S, Horiguchi S, Horiguchi K. Interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal musculature of W(jic) c-kit mutant mice[J]. J Smooth Muscle Res, 2011, 47(3/4): 111 - 121.

[15] Han J, Shen W H, Jiang Y Z, *et al*. Distribution, development and proliferation of interstitial cells of Cajal in murine colon: an immunohistochemical study from neonatal to adult life[J]. Histochem Cell Biol, 2010, 133(2): 163 - 175.

[16] Blondheim N R, Levy Y S, Ben-Zur T, *et al*. Human mesenchymal stem cells express neural genes, suggesting a neural predisposition[J]. Stem Cells Dev, 2006, 15(2): 141 - 164.

[17] Isacke C M, Yarwood H. The hyaluronan receptor, CD44[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2002, 34(7): 718 - 721.

(**收稿**:2013-10-15;**修回**:2014-01-08)

(编辑 王 红)