·论 著·

CD20免疫反应阳性细胞在人胎阑尾的发育

苏 敏,杨 宇,李 红,胡 蓉,姜棒蓉,许庭良,黄 悦 (贵阳医学院组织学与胚胎学教研室,贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的** 从形态学的角度探讨人胎阑尾内CD20阳性B细胞在各胎龄段的发育。**方法** 收集13~28周人胎22例,测量各胎儿顶臀长(CRL)。按Patten法确定胎龄,取其阑尾,经HE染色、免疫组织化学SP法染色,光镜观察。**结果** 13~16周阑尾上皮已经完全演变成为单层柱状,胎儿阑尾绒毛出现,结构分层逐渐明显,淋巴细胞散在分布,淋巴小结雏形逐渐形成;14周CD20免疫反应阳性细胞出现,数量少,单个分布于结缔组织内;17~20周CD20阳性反应细胞增多,成群分布;23~28周粘膜固有层内CD20阳性细胞参与构成淋巴小结。统计学处理证实随胎龄增加,CD20阳性细胞数量逐渐增多($P<0.01$)。**结论** 14周CD20阳性细胞出现,随胎龄增加数量增多,主要参与构成淋巴小结。

[关键词] 人胎;阑尾;CD20阳性反应细胞

[中图分类号] R392.12 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2010)01-0003-03

The development of CD20-positive immunoreaction cells in human fetal appendix

SU Min, YANG Yu, LI Hong, HU Rong, JIANG Feng-rong, XU Ting-liang, HUANG Yue (*Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical College, Guiyang Guizhou 550004, China*)

Abstract: Objective To study the development of CD20-positive immunoreaction cells in human fetal appendix. **Methods** Totally 22 human fetuses from 13 to 28 weeks were collected. The crown-rump leagth of all fetuses were examined, and the gestatinal ages were decided in Patten method The microstructure of the appendix were observed under light microscope by hematoxylin-eosin staining and immunohistochemical stain. **Results** During the 13th ~ 16th gestatinal weeks, the epithelium of the appendix was simple columnar epithelium. The individual layer of the appendix had gradually differentiated. During the 14th gestatinal week, there were rare and diffused CD20-positive immunoreaction cells in connectivum. During the 17th ~ 20th gestatinal weeks, the counts of CD20-positive immunoreaction cells increased. During the 23rd ~ 28th, the lymphoid nodules become more and more obviously and the CD20-positive immunoreaction cells located to the lymphoid nodules. It was confirmed by statistical treatment that the CD20-positive immunoreaction cells were increased following the development of fetus. **Conclusion** During the 14th gestatinal week, the CD20-positive immunoreaction cells are initially poesented and increased following the development of fetus and construct the lymphoid nodules.

Keywords: fetus; appendix; CD20-positive immunoreaction cells

阑尾管壁内(粘膜固有层和粘膜下层)有着丰富的淋巴组织,在消化管免疫过程中起重要作用。已有研究对人胎阑尾的组织发生进行过讨论,但结果不尽相同,特别是对人胎时期淋巴细胞何时起迁移进入阑尾及其在阑尾内的分布及发育时序尚有不同认识,且报道也较少[1]。为此,本研究用形态学方法对人胎阑尾组织发生过程中CD20阳性B细胞的发育情况进行观察,以期对上述问题有较多了解,为胃肠道免疫防御机理的研究提供一定的形态学基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 兔抗人单克隆抗体CD3(福州迈新生物技术开发公司)、鼠抗人单克隆抗体CD20(北京中杉金桥生物技术有限公司)、即用型免疫组织化学超敏SP(福州迈新生物技术开发公司)、免疫组化染色试剂盒SP-9002(北京中杉金桥生物技术有限公司)。其中即用型免疫组织化学超敏SP试剂盒主要内容:试剂A(内源性过氧化物酶阻断剂 endogenous peroxidase blocking solution)、试剂B(正常非免疫动物血清 normal nonimmunonen serum)、试剂C(生物素标记的第二抗体 biotonconjugated second antibody)、试剂D(链酶菌抗生物素蛋白-过氧化酶 Streptavidin-Peroxidase)。

1.1.2 标本 收集因故终止妊娠人胎标本22例(表1),测量顶臀长(crown-rump length, CRL)按Patten法确定胎龄。

[基金项目] 贵州省教育厅自然科学研究项目(黔教科2002116)

[作者简介] 苏 敏(1971-),女,贵州省遵义市人,副教授,硕士,主要从事实验组织学及人体胚胎发生方面的研究。电话:(0851)6908567, E-mail:huranggaigaiyu@sina.com

[收稿日期] 2009-10-08 [修回日期] 2009-10-26

表1 胎龄、顶臀长及例数分布

胎龄(周)	顶臀长(cm)	例数(n)
13~16	91.0~137.0	5
17~20	147.0~185.0	5
21~28	197.0~270.0	12

1.2 方法

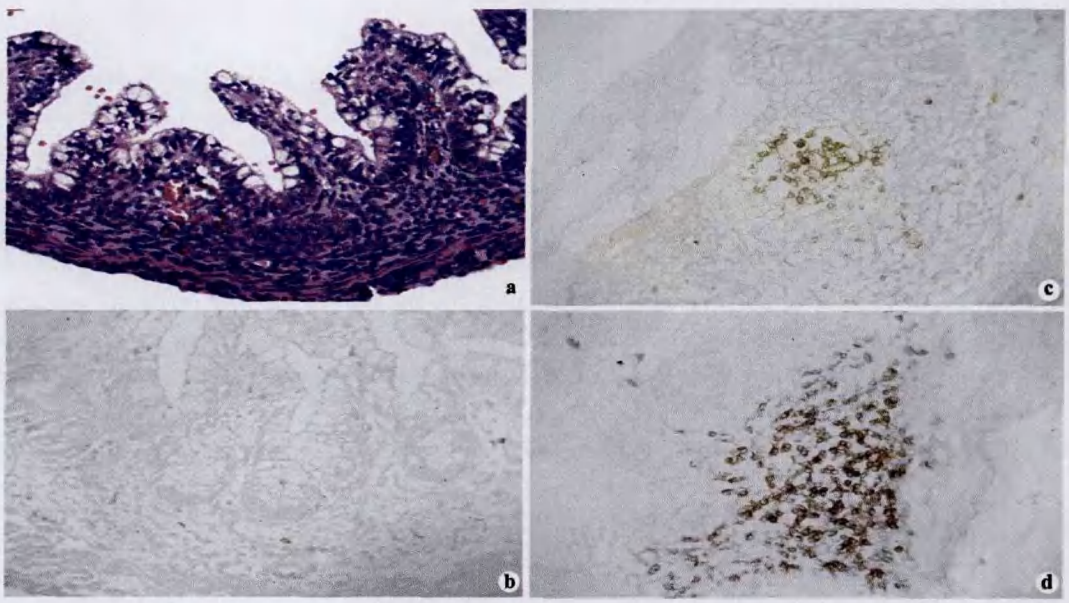
各例人胎标本取阑尾,用10%福尔马林溶液固定,经乙醇梯度脱水、透明,石蜡包埋,4 μm连续切片、贴片,切片间隔36 μm。常规HE染色观察人胎不同时期阑尾的组织发生。免疫组织化学SP染色显示CD20阳性B细胞。主要步骤如下:切片脱蜡下行入水,PBS洗3 min×3,微波抗原修复10 min,试剂A室温10 min,PBS洗3 min×3,试剂B室温下10 min,一抗(CD20 1∶100)4 ℃过夜,PBS 5 min/次×3次,试剂C室温10 min,PBS 3 min/次×3次,试剂D室温下10 min,PBS洗3 min/次×3次,DAB-H_2O_2液显色,中性树胶封片。

1.3 统计学处理

所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并采用统计软件SPSS11.5进行分析。

2 结果

13~16周阑尾上皮已经完全演变成为单层柱状,胎儿阑尾绒毛出现,结构分层逐渐明显(图1a)。14周绒毛开始融合并减少,淋巴小结雏形形成,位于固有层或粘膜下层内,CD20免疫反应阳性细胞出现,数量少,散在分布于固有层、粘膜下层,或少量聚集成群,逐渐形成淋巴小结(图1b)。17~20周CD20阳性反应细胞增多,成群分布。21~28周人胎阑尾绒毛逐渐消失,淋巴小结明显可见,数量增多,CD20阳性反应细胞聚集,主要位于淋巴小结处(图1c、d)。细胞计数发现,13~16周胎龄CD20阳性细胞(7.05±1.92),17~20周胎龄CD20阳性细胞(32.35±10.92),21~28周胎龄CD20阳性细胞(126.75±30.22)。随胎龄增大,CD20阳性细胞数量逐渐增多,反应增强,差异有统计学意义($P<0.01$)。



a:12周胎儿阑尾示阑尾腔绒毛及壁内淋巴细胞(HE染色);b:14周胎儿阑尾示CD20阳性细胞单个分布(SABC染色);c:20周胎儿阑尾示CD20阳性细胞聚集成群(SABC染色);d:23周胎儿阑尾示CD20阳性细胞参与淋巴小结形成(SABC染色)

图1 不同胎龄人胎CD20阳性细胞的变化(×400)

3 讨论

CD20是一种磷酸化蛋白质分子,位于B淋巴细胞表面,是B淋巴细胞表面分化抗原[2]。作为B淋巴细胞表面膜蛋白,CD20与B淋巴细胞Ca^{2+}的跨膜传导密切相关,CD20对B淋巴细胞的增殖和分化具有调节作用[3]。CD20可在前B淋巴细胞、未成熟B淋巴细胞、成熟B淋巴细胞和激活B淋巴细胞中表达[4]。因此,人胎阑尾内CD20阳性细胞发育,在一定程度上反应了消化管肠相关淋巴组织的形成,以及消化道免疫功能的建立和完善。本实验以CD20作为靶点对阑尾B淋巴细胞的发育进行探讨,结果发现14周阑尾壁内出现CD20阳性细胞,随着数量的增多,主要参与淋巴小结的构成,这一结果与有的研究认为无论小肠或大肠,上皮内及固有层的淋巴细胞均以T细胞为主,B细胞极少的观点不一致[5]。

在人胚早期CD20阳性细胞主要定位于胚肝内，随着发育，阑尾淋巴细胞也表达CD20分子[6]，可以认为其通过参与组成Ca^{2+}离子通道对B细胞的分化和成熟进行调控，标志着消化道免疫功能的进一步完善。本实验观察到阑尾14周出现CD20阳性细胞，这一时间较CD20在扁桃体或小肠大肠出现的时间晚[7]，因此认为阑尾淋巴组织的发育及功能的完善较其它段消化道晚，推测这可能与抗原刺激的先后顺序有关。

[参考文献]

[1] Zahid A. The vermiform appendix: not a useless organ[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2004, 14(4): 256 - 258.

[2] 洪海燕，舒翠玲，郭燕翔，等. 人CD20胞外区基因在原核系统中的表达[J]. 免疫学杂志，2000，16(3)：172 - 174.

[3] 新保敏，石黑精. CD分类手册—细胞膜分化抗原的国际分类[M]. 天津：天津科技翻译出版公司，2001. 46 - 47.

[4] Cyster JG. Lymphoid organ development and cell migration[J]. Immunol Rev, 2003, 195: 5 - 14.

[5] 朱清仙，邓 锋，江鹏飞，等. 人胎大肠和小肠上皮内淋巴细胞的比较分析[J]. 中国体视学与图像分析，2004，9(2)：84 - 87.

[6] 刘 影，唐军民，唐 岩，等. 人早期胚中CD20阳性细胞的免疫组织化学定位[J]. 解剖学报，2007，38(2)：238 - 240.

[7] 李爱玲，孙英勋，洪海燕，等. 利用基因重组抗原研制人CD20单克隆抗体及其功能的研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志，2002，22(4)：385 - 388.

（编辑：左艳芳）

120例腹腔镜下输卵管妊娠切开术的配合体会

韩雪梅 （鞍山市双山医院手术室，辽宁 鞍山 114032）

[关键词] 输卵管妊娠；腹腔镜；手术配合

[中图分类号] R713.8 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2010)01-0005-01

随着腔镜技术的不断进展，采用腹腔镜下输卵管妊娠切开取胎术成为常用方法。我院妇科自2005年7月至2008年8月对120例异位妊娠患者采用腹腔镜下输卵管切开取胎术，获得良好疗效。现将手术配合体会报告如下。

1 临床资料

本组120例，年龄最小18岁，最大45岁；其中未婚28例，已婚92例，已生育者80例，未生育者40例。全麻成功后患者取仰卧位，消毒铺单，脐下切口长1 cm，用气腹针穿刺进入腹腔，内置CO_2气体2～4 L，建立人工气腹后插入腹腔镜。在腹腔镜引导下，于下腹麦氏点处穿刺，置手术器械于下腹穿刺点内直入腹腔。对输卵管伞部妊娠者，用无损伤钳固定伞部后可直接钳夹清除妊娠产物及血块；对输卵管妊娠可直接切开取胚胎。如发现出血可予电凝止血；如发现对侧输卵管病变可一并处理。用生理盐水冲洗盆腔并吸净[1]。本组120例均经腹腔镜下输卵管妊娠取胎，治疗愈后良好，无并发症发生，分别在术后3～5 d出院。

2 手术配合

针对患者疑惑、紧张、焦虑不安的心理耐心解答病人及家属提出的问题，消除其紧张情绪，让他们在良好的心理状态下接受手术。巡回护士准备镜头、电缆、光纤、冷光源、气腹针、微型摄像系统、气腹机负压吸引器等。病人为仰卧位，去枕，用约束带将双膝关节固定，迅速建立好1～2条静脉输液通道，协助麻醉师给药。正确连接好各种仪器导线及电源，使其处于已正常工作状态，手术开始后关闭无影灯，调节好冷光源亮度及气腹压力，认真巡视，保证台上手术用品供给。器械护士熟练传递手术器械（如纤维止血钳，无挫伤钳等），做到及时准确，使用病理袋取出妊娠产物，并协助术者止血并用生理盐水冲洗盆腔干净为止。手术结束时放出腹腔气体，清点手术用品无误后，提示术者可缝合切口。

3 讨论

随着腹腔镜的普及应用，由微创技术代替了开腹手术，不仅手术时间短，而且出血少、离床活动早，故得到越来越多的患者的认同和欢迎[2]。护理人员要熟练掌握各种精密器械和仪器的使用方法，根据不同术式，认真制定好护理计划，并且术前深入病房向患者做好必要的告知，确保手术的顺利进行。

腹腔镜下输卵管妊娠取胎术常有术中及术后再出血的可能，个别还有持续异位妊娠现象。所以，要求手术配合时严格执行无菌操作，稳准轻快密切地协助术者，用单式双极电凝认真止血；当病人返回病房时，不仅要保持好输液通畅，还必须认真与病房护士做好各项交接，所有这些都是微创手术取得成功的基础和保证。

[参考文献]

[1] 姜泽允，李庆芬，乔 梅，等. 输卵管妊娠腹腔镜保守手术治疗与传统开腹手术治疗对比分析[J]. 实用妇产科杂志，2008，24(7)：427.

[2] 曹丽秋，王 红，李文红. 腹腔镜治疗输卵管妊娠的临床观察[J]. 局解手术学杂志，2005，14(3)：206.

[收稿日期] 2009-10-17 [修回日期] 2009-11-03

（编辑：郭光金）