·论 著·

C57BL6 小鼠呼吸系统组织学特征研究

艾必燕[1],陈俊颖[2],邓玉江[3],陈建康[1],杨 扬[1],米本中[1],黄文涛[1],樵星芳[1] (1. 重庆市中药研究院,重庆 400065;2. 解放军第 324 医院,重庆 400020;3. 第三军医大学基础部实验动物学教研室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 获取正常 C57BL6 小鼠的呼吸系统组织学图谱资料,并与人体呼吸系统的组织学特征进行比较。**方法** 选取从南京大学模式动物研究所购得的 C57BL/6J 小鼠 20 只,在 SPF 级环境中用全价营养鼠饲料饲养,饲养到 6 周龄时将其处死。在 1 h 内对处死的小鼠进行组织解剖,取出呼吸系统器官和组织,于 10% 中性缓冲福尔马林固定;常规病理制片,HE 染色;显微镜观察,照相机摄影,图像采集,用计算机对图像进行标注。**结果** 对小鼠呼吸系统进行详细、系统的组织学观察,并发现人体与小鼠在呼吸系统的差异主要存在于气管腺,小鼠气管腺分 3 种:浆液腺、粘液腺及混合腺,主要分布于粘膜固有层;人的气管腺主要为混合腺,分布于粘膜下层。**结论** 正常 C57BL6 小鼠的呼吸系统组织学图谱已基本建立,为利用该品系小鼠建立呼吸系统疾病遗传工程小鼠模型奠定了基础。

[关键词] 小鼠;呼吸系统;组织学

[中图分类号] Q954.6;R329 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2012)02-0117-03

Investigation on histological characteristics of C57BL6 mouse respiratory system

AI Bi-yan, CHEN Jun-ying, DENG Yu-jiang, CHEN Jian-kang, YANG Yang, MI Ben-zhong, HUANG Wen-tao, QIAO Xing-fang (Chongqing Institute of Chinese Medicine, Chongqing 400065, China)

Abstract: Objective To establish of a histology atlas for wild type C57BL6 mouse respiratory system and to compare histological characteristics of respiratory system between human and mice. **Methods** Totally 20 Wild-type C57BL6 mice were purchased from model animal research centre in Nanjing university and housed under specific pathogen-free conditions. Adult mice of six weeks old were killed and tissue samples of respiratory system were collected and fixed into 10% PBS-buffered formalin. The fixed samples were then subjected to conventional sections and HE staining. Histological figures were taken using Olypmus microscope equipped with Olympus D300 camera and marked using photoshop software. **Results** Detailed and systematic histological investigation was performed using mouse respiratory tissues. The main histological difference between the respiratory systems of human and mice existed in tracheal glands. Mice have tracheal glands of three different types: serous gland, mucous gland and mixed gland, which are located in mucous membrane proper. In contrast, human tracheal glands are mainly of one type---mixed gland, which is mainly located in submucous layer. **Conclusion** The histological atlas of mouse respiratory system is constructed, which can facilitate the generation of novel genetically manipulated mouse disease models of respiratory system.

Keywords: mice; respiratory system; histology

目前,C57BL6 小鼠是常用的实验用小鼠品系,广泛应用于遗传工程小鼠的研制,在解析基因功能、制备人类重大疾病模型的研究中具有重要作用。迄今为止,利用 C57BL6 小鼠建立的遗传工程小鼠品系达到 4 000余种[1]。南京大学国家遗传工程小鼠资源库总共收集了 300 余种,包括糖尿病、肥胖症、心血管系统疾病等多种人类重大疾病,绝大部分小鼠品系是利用 C57BL6 小鼠品系研制的。病理组织学观察是小鼠疾病模型诊断与判定的重要指标。与数量繁多的来自 C57BL6 小鼠的遗传工程小鼠品系相对应的是正常 C57BL6 小鼠本身的组织与病理学背景不清楚,这为来自 C57BL6 小鼠品系的大量的遗传工程小鼠的应用造成了一定的障碍。鉴于此,本实验选取 C57BL/6J 小鼠作为实验对象,利用组织学技术,对 C57BL/6J 小鼠的呼吸系统的组织学结构特征进行观察,并系统比较其与人类呼吸系统的结构特征,为小鼠遗传工程疾病模型研究与应用提供资料。

[基金项目] 国家"重大新药创制"科技重大专项(2010ZX09401-306-1-6);重庆市科技创新能力建设项目(CSTC,2010CB5013)

[作者简介] 艾必燕(1974 -),男,四川省大竹县人,副研究员,硕士,主要从事实验动物学及疾病动物模型方面的研究。E-mail:dwsaby@163.com

[通讯作者] 樵星芳(1980 -),女,助理研究员,硕士,主要从事实验动物学方面的研究。E-mail:qiaoxingfang@163.com

[收稿日期] 2011-09-13 [修回日期] 2011-11-05

1 材料与方法

1.1 实验动物

从南京大学模式动物研究所购得 6 周龄 C57BL/6J 小鼠 20 只,平均体重为 17 g 左右,其中雌性 10 只,雄性 10 只,在 SPF 级环境中饲养,每笼 2 只,1 雌 1 雄,自由饮水进食,饲料采用 SPF 级全价营养鼠饲料。动物饲养笼具(笼内空间 142 平方英寸)、饮水瓶定期消毒,所用垫料经高压灭菌,饲养房内定期紫外灯消毒。

1.2 标本取材及制备

用颈椎脱臼法处死小鼠。用固定板仰卧位固定。解剖和取材顺序是先腹腔后胸腔。用手术剪沿腹部正中线剪开剑突至肛门之间的腹前壁,再沿最低位肋骨分别向左右两侧剪开侧腹壁至脊柱两旁,完全暴露胸腹腔器官。依次取出气管、支气管、肺等组织。取出的器官及组织立即分别装入编好号码的试管中,用 10% 中性缓冲福尔马林固定。

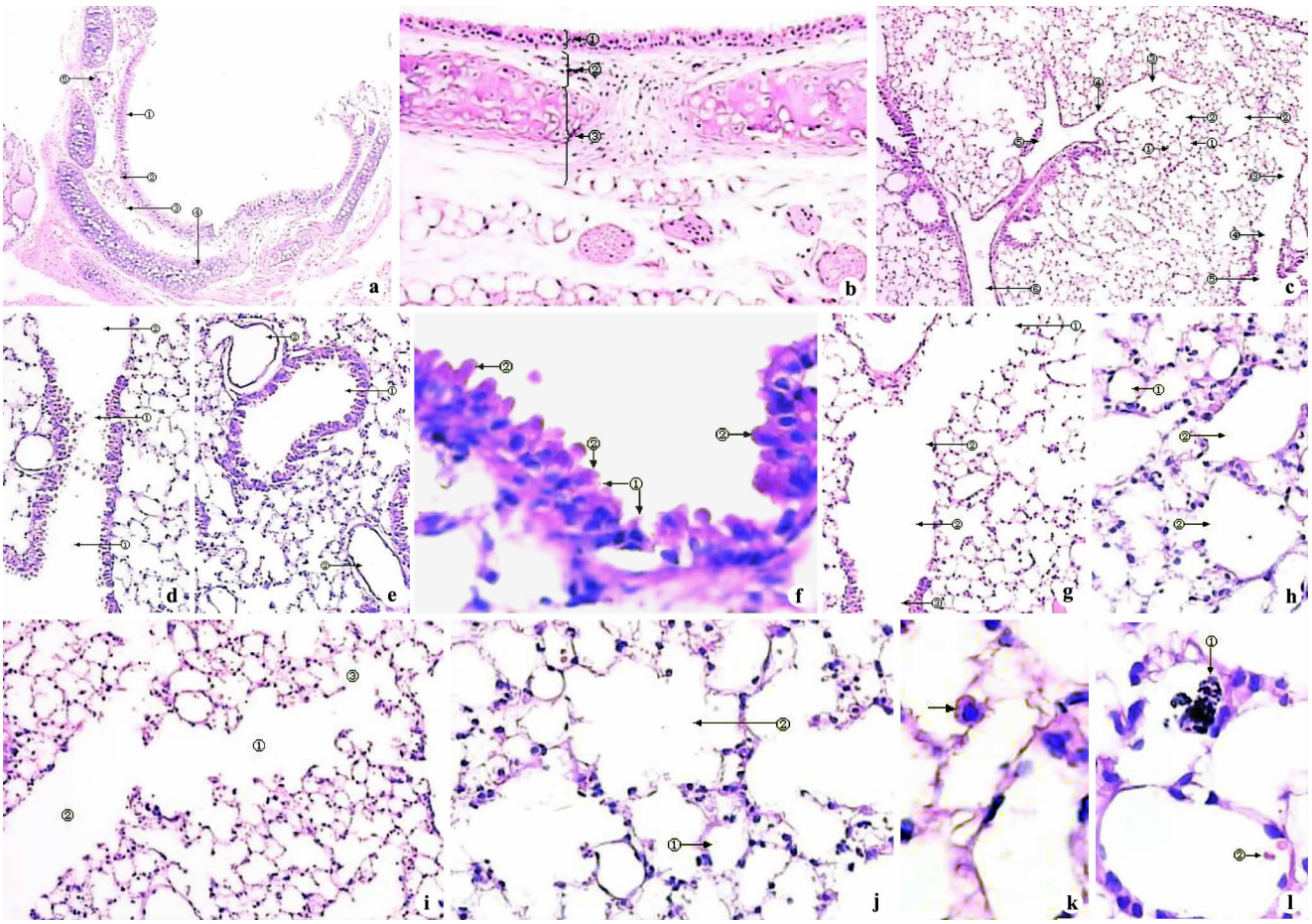
1.3 石蜡切片制作

1.3.1 脱水透明与石蜡包埋 将包好的各组织放入自动脱水机,经过不同浓度的梯度酒精溶液脱水,酒精浓度分别为 70%、80%、95% 和 100%。样本脱水后经二甲苯溶液浸泡透明,并放入石蜡中浸透。之后放入融化的液体石蜡中包埋。

1.3.2 切片与贴片 使用石蜡切片机,调整切片刀平面与组织切面间呈 15°左右的夹角进行常规切片。切片完成后,将切片投入到 48 ℃的温水浴中,切片自然展平后,用涂有 5% 明胶水溶液的载玻片倾斜着插入水面捞取切片,使切片贴附在载玻片的合适位置,于室温下放置一昼夜后使其彻底干燥。

1.4 HE 染色

常规进行 HE 染色。首先梯度酒精溶液和蒸馏水对样本进行浸水处理,之后分别用苏木精和伊红染色液对切片进行染色处理,再用梯度酒精溶液和无水乙醇对样本进行脱水处理。最后经二甲苯溶液透明处理后,中性树胶封固。



a:气管横切,①假复层纤毛柱状上皮,②固有层,③粘膜下层,④透明软骨,⑤气管腺(×40);b:气管纵切,①粘膜,②粘膜下层,③外膜(×100);c:肺,①肺泡,②肺泡囊,③肺泡管,④呼吸性细支气管,⑤终末细支气管,⑥细支气管(×40);d:终末细支气管(纵切),①终末细支气管,②呼吸性细支气管(×100);e:终末细支气管(横切),①终末细支气管,②细支气管(×100);f:终末细支气管,①纤毛细胞,②克拉拉细胞(×400);g:呼吸性细支气管(纵切),①肺泡管,②呼吸性细支气管,③终末细支气管(×100);h:呼吸性细支气管(横切),①肺泡,②呼吸性细支气管(×200);i:肺泡管(纵切),①肺泡管,②呼吸性细支气管,③肺泡囊(×100);j:肺泡管(横切),①肺泡,②肺泡管(×200);k:肺Ⅱ型肺泡细胞(×400);l:①肺巨噬细胞,②红细胞(×400)

图 1 C57BL6 小鼠呼吸系统组织切片(HE 染色)

1.5 图像观察采集和标注

将每一张染好的切片分别在放大倍数为 10×4 倍、10×10 倍、10×20 倍、10×40 倍的显微镜下观察,然后在上述各倍数下用数码相机照像采图,再将图片在计算机中对器官的组织进行观察、标注。

2 结果

2.1 气管

小鼠呼吸系统组织学特征与人的不同主要在气管腺,小鼠气管腺分 3 种:浆液腺、粘液腺及混合腺,主要分布于粘膜固有层(图 1a、b)。人的气管腺主要为混合腺,分布于粘膜下层。

2.2 肺

2.2.1 肺部整体结构 肺组织分实质和间质两部分。实质为肺内支气管的各级分支及其末端的大量肺泡;间质是肺内的结缔组织、血管、淋巴管和神经等(图 1c)。

2.2.2 肺导气部 终末细支气管,其上皮由两种细胞组成,即纤毛细胞和无纤毛的克拉拉细胞(图 1d、e、f)。

2.2.3 肺呼吸部 呼吸性细支气管是终末细支气管的分支(图 1g、h),为导气部过度到呼吸部的管道,其管壁不完整,出现少量肺泡开口,故有换气功能。肺泡管见于相邻肺泡开口之间的部分管壁上有许多开口,自身管壁的结构很少。在切片上呈现一系列相邻肺泡开口之间的结节状膨大(图 1i、j)。肺泡为半球形的小囊,开口于肺泡囊。肺泡管或呼吸性细支气管,是肺进行气体交换的主要部位,构成肺的主要结构。肺泡上皮有两种细胞:Ⅰ型细胞和Ⅱ型细胞。Ⅰ型细胞:又称扁平细胞,由于肺泡隔很薄,肺泡上皮与毛细血管内皮紧密相贴,两者的细胞核不易分辨,因此Ⅰ型细胞无法辨认。Ⅱ型细胞:又叫分泌细胞,细胞核大,呈圆形,细胞顶部胞质呈泡沫状(图 1k)。在肺泡腔或肺泡隔内,还可以见到尘细胞,为含尘埃颗粒的巨噬细胞(图 1l)。

3 讨论

由于 C57BL6 是制备遗传工程动物模型的常用小鼠品系,已成功应用于多种人类重大疾病模型的创制[2-6]。因此,为了方便比较正常小鼠的各个器官的组织形态,我们选用 C57BL/6J 小鼠(该小鼠是 1921 年 C. C. Little 对 Miss Abby Lathrop 品系交配繁育而成,于 1948 年由 Jackson 实验室从 Hall 引入的 6 号系)作为实验对象。选取 C57BL/6J 小鼠的主要器官,利用组织切片技术,通过取材、10% 中性缓冲福尔马林固定、脱水、包埋、常规 HE 染色,制作了 1 589 张切片。采用显微镜观察、摄影、图像采集和计算机图像标注,建立了相对系统的小鼠组织学图谱。

由于要观察正常健康小鼠的组织形态,我们选取的小鼠都在生长旺盛期。因此,所取材料的细胞都处于最佳生长状态。本文对小鼠的呼吸系统进行了详细的观察与标注,形成了较为系统的小鼠呼吸系统组织学图谱。本实验发现,C57BL6 小鼠的呼吸系统与人体呼吸系统的主要差异在于气管腺。小鼠气管腺分 3 种:浆液腺、粘液腺及混合腺,主要分布于粘膜固有层。人的气管腺主要为混合腺,分布于粘膜下层。因此,在利用 C57BL6 小鼠制备呼吸系统疾病动物模型时,人与小鼠之间气管腺的差异应作为重要的诊断参考指标。本实验还为小鼠应用于呼吸系统疾病动物模型的研制提供了较为系统的正常小鼠呼吸系统组织学图谱。目前,该图谱作为数据库的一部分已于国际互联网在线发布,为呼吸系统疾病小鼠模型的建立、诊断及应用提供了有价值的参考。

[参考文献]

[1] The Jackson Laboratory. JAX Mice and Services[DB/OL]. http://jaxmice.jax.org/index.html.

[2] 颜 伟,胡厚源,周 林,等. 两种 LXR 激动剂对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化影响的对照研究[J]. 第三军医大学学报,2005,27(5):381-3841.

[3] Plump AS, Smith JD, Hayek T, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells[J]. Cell,1992,71(2):343-353.

[4] Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, et al. Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2001,21(10):1681-1688.

[5] Napoli C, Williams Ignarro S, De Nigris F, et al. Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004,101(23):8797-8802.

[6] Ramachandran S, Penumetcha M, Merchant NK, et al. Exercise reduces preexisting atherosclerotic lesions in LDL receptor knock out mice[J]. Atherosclerosis,2005,178(1):33-38.

(编辑:余汇洋)

(上接第 116 页)

学唱歌曲一定要会识谱,否则无法判定音调是否准确。掌握了人体器官定位的法则及规则,就能在复杂的相互交汇的器官定位中,把握其彼此的消长,运筹帷幄,决胜千里。本文的目的就是要让学习者做一个主动的创造者,避免成为一个盲目的随从者。

[参考文献]

[1] 格兰特. 解剖学方法[M]. 北京:科学出版社,1966:276.

[2] 毛泽东. 毛泽东选集[M]. 北京:人民出版社,1991:299-333.

[3] 吕来清,潘三强,宿宝贵. 应用唯物辩证法认识人体器官形态的差异与同一[J]. 局解手术学杂志,2010,19(2):75-76.

(编辑:郭光金)