维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2001年第10卷第2期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2001, Vol. 10, No. 2



# GLP-1-IR细胞在人类胃肠道中分布的研究

宋宇宏* 李艳君* 王培君* 史宏宇** 孙明*** 姜吉文* 陈克功*

【摘 要】 目的 研究GLP-1免疫反应活性(GLP-1-IR)细胞在成人胃肠道中的分布情况。方法 应用高特异性单克隆抗体,采用免疫组化SP法,对25~65岁之间成人手术后肠道标本GLP-1-IR细胞进行定位研究。结果 证实成人肠道中GLP-1-IR细胞(L细胞)的分布以直肠最多,其次是结肠和回肠。结论 成人肠道中GLP-1-IR细胞分布不均,各段肠管L细胞的密度由近端向远端递增。

【关键词】 GLP-1; GLP-1-IR细胞;胃肠道;免疫组织化学

**Study of distribution on GLP-1-IR(L) cells in human gut** *Song Yuhong, Li Yanjun, Wang Peijun, et al. Department of Anatomy, Jiamusi Medical College, Jiamusi 154003*

【Abstract】 **Objective** To study the GLP-1-IR cells in the gastrointestinal tract of human. **Methods** We used a highly specific monoclonal antibody against GLP-1(7~36) amide to evaluate the distribution of GLP-1-IR cells (L cell) in the gut of human by immunohistochemistry. **Results** The density of L cells was different in tract. The hightest L cells density occurred in the rectum, then in the colon descendens and ileum. **Conclusion** GLP-1-IR cell is continuous increase from the proximal to the distal portion of small and bowel.

【Key words】 GLP-1; GLP-1-IR cell; Gastrointestinal tract; Immunohistochemistry

肠道类胰高血糖素肽-1免疫反应活性(GLP-1-IR)被定位于肠道粘膜的肠胰高血糖素细胞(L细胞)[1]。肠道胰高血糖素原主要是胰高血糖素原1-69(glicentin)和两种较小的肽:类胰高血糖素肽-1(GLP-1)和类胰高血糖素肽-2(GLP-2)[2],GLP-1的活化形式为GLP-1(7~36)酰胺,是由其分子C末端氨基酸发生酰胺化生成,GLP-1在肠道由L细胞分泌,受肠腔内营养物质的影响,餐后释放入血,通过与特异性受体结合发生作用。GLP-1是一种作用很强的肠促胰岛素,其促胰岛素分泌作用有很强的糖依赖性,还有增加胰岛素前体转录和刺激胰岛素的生物合成,抑制胰高血糖素释放的作用。该激素的分泌状态及其受体的基因表达水平可以直接影响糖尿病的发生、发展和治疗。

本实验室曾经对大鼠、犬和猪等动物L细胞在肠道的分布进行了研究,而人的L细胞在肠道的分布国内未见报道,我们继续对成人L细胞在肠道的分布进行研究以补充国人资料的空白。

本实验采用免疫组织化学方法对人类胃肠道中L细胞的分布规律性进行研究,从而为GLP-1的功能性研究提供形态学依据。

## 材料与方法

1.标本制作:取外科成人消化道肿瘤或其他消化道疾病手术中的经病理证实的正常消化道新鲜标本,不分性别,年龄25~65岁之间;不同个体消化道(食管下段、胃底、胃体、胃窦、十二指肠、空肠、回肠远端、升结肠、降结肠和直肠)不同部位各5~10块,立即用Bouin's溶液固定(24h),常规制作石蜡切片。

2.免疫组化染色:采用免疫组织化学SP法染色:免疫组化SP法试剂盒(购自北京中山生物制品公司);标本切片5μm,脱蜡;特异性单克隆抗GLP-1(7~36)酰胺抗体(兔)(购自日本YANAIHARA INSTITUTE INC.),稀释度为1:6000,37℃孵育1~2h或4℃过夜;生物素化二抗,孵育10~15min;链酶卵白素,孵育10~15min;DAB显色。PBS代替一抗作对照。

3.显微镜下观察:400倍镜下计数,结果应用SPSS统计软件包处理数据,以$\alpha=0.05$为检验水准,对各组均值进行方差分析及t检验。

## 结 果

光镜下,成人肠道壁上,抗GLP-1抗体标记粘膜表层单一的细胞,可见L细胞染色呈棕红色,在不同部位消化道L细胞呈不同密度,散在分布于肠腺柱状上皮细胞之间,多数位于肠腺的基底部,呈不规则的近似圆锥形,尖端指向肠腺腔内,通过尖端开放达到肠腺腔。食管和胃底未见L细胞,在胃体和胃窦可见极少量的

* 作者单位:154003 黑龙江省佳木斯大学基础医学院解剖学教研室
** 黑龙江省佳木斯大学临床医学院附属一院胸外科
*** 黑龙江省佳木斯大学临床医学院附属二院普外科

维普资讯 http://www.cqvip.com



L细胞被染色；我们发现，单一的L细胞位于导管壁上外分泌腺泡之间，外分泌腺细胞和导管细胞不着色。

经统计学分析，各段肠管的L细胞密度不同，总体存在显著差异。L细胞密度最大是直肠，其次是降结肠和回肠，L细胞自小肠和大肠的近段向远端逐渐增加、在阴性对照片上未见L细胞存在(见附表)。

附表 人类消化道GLP-1-IR细胞密度

| 位置 | 密度(细胞数/400倍视野) |
|---|---|
| 食管 | -- |
| 胃底 | -- |
| 胃体 | 0.40±0.50 |
| 胃窦 | s.c. |
| 十二指肠 | 3.09±1.70 |
| 空肠 | 8.29±2.90 |
| 回肠 | 11.10±4.74 |
| 升结肠 | 7.46±4.10 |
| 降结肠 | 14.67±4.77 |
| 直肠 | 16.73±4.45 |

## 讨 论

GLP-1是一种强降血糖肽，在高血糖时，降血糖作用与剂量有关，对重症糖尿病也有效，在血糖正常时，无降糖作用。

GLP-1受肠腔的营养物质(特别是碳水化合物和脂类)刺激由L细胞分泌，L细胞合成属于两个家系的肽，肽YY(PYY，结构相关的胰腺多肽和神经肽Y)和来源于胰高血糖素原的肽：glicentin，GLP-1和GLP-2[2]。

最近通过基因库对cDNA和DNA片断的克隆和序列分析已经使人们对胰高血糖相关肽(GLP)的了解迅速增加，GLP在组织中分子形式间的复杂结构关联已经被确定。已经应用多克隆抗体，确定了肠道中存在的GLP-1-IR细胞[1]，但是特异性较小。以前曾有文献说明GLP-1的氨基酸序列在几种哺乳动物是相同的，其中包括，大鼠、猪和人类[2]，因此，我们在前人实验的基础上采用特异性单克隆抗体，直接作用于GLP-1的C-末端部分，这种特异性抗体是研究胃肠道GLP-1免疫反应的合适工具，与其它结构相关肽无交叉反应。

本研究结果可见，GLP-1-IR细胞分布于国人肠粘膜柱状上皮细胞之间，多位于肠腺基底部，或在一簇或仅单一的细胞，呈不规则圆锥形，向腔内开放，呈开放型内分泌细胞形态，即L细胞，这与以前报道的在鲑鱼、鼠、猪和人的肠道L细胞存在GLP-1-IR相一致，说明GLP-1存在于L细胞中，并由L细胞分泌。L细胞的密度由小肠和大肠的近端向远端递增，密度最大是直肠，其次是降结肠和回肠，食管未见L细胞，这与前人的报道相符[1,3]。在肠管中L细胞不仅存在于空肠、回肠、结肠和直肠，也存在于十二指肠，这与Eissele R[3]等报道的在人类肠道中L细胞不存在于十二指肠形成对照，而且Eissele R[3]等报道在胃底/胃体见到极少量GLP-1-IR阳性细胞，胃窦无此细胞。我们只在胃体和胃窦偶见到单一的阳性细胞，胃底未见阳性细胞。在胃体和胃窦区GLP-1-IR出现在类A细胞当中，在小肠和大肠出现在L细胞。Kreymann B等认为GLP-1(7～36)主要来源于远端回肠，胃肠道的其它部位亦有分布，这与我们的结果不同，我们见到成人L细胞主要来源于直肠。

GLP-1有效地刺激胰岛素分泌，对人的胃肠道有很强的作用，实验证明GLP-1释放的必需条件是葡萄糖自回肠粘膜吸收，而不是葡萄糖与回肠粘膜接触[5]，经口摄入或十二指肠内注入营养物质诱发回肠和结肠L细胞迅速释放GLP-1的机制尚未明确，可能与迷走-迷走反射有关，胆碱能的兴奋(毒蕈碱受体激动剂)及某些神经肽(如蛙皮素)能增加GLP-1的分泌，特别是胃释放多肽和P物质，也可使神经控制导致的GLP-1分泌增加。肠道切除对于进食诱发的GLP-1分泌影响很小，提示壁内神经通路可能不是主要的[6]。

由于69%的K细胞和51%L细胞在小肠，双标记确定在这些重叠部位有超过30%的L细胞被发现和K细胞相联系。这些结果显示分泌GLP-1的L细胞和GIP的K细胞分泌存在旁路的相互作用，存在分泌联系，并说明空肠在通过肠诱导的肠促胰液素调节胰岛素释放上的重要性[7]。Roberge与Brubaker及其同事给大鼠十二指肠输入葡萄糖或脂肪可刺激血GIP升高，同时伴有血GLP-1的升高；静脉输注生理量的GIP，血GLP-1升高两倍而不依赖血糖水平，说明十二指肠-空肠之间可能存在一个新的肠道内分泌环，可能是进食所至GLP-1早期分泌反应的原因之一[8]。但给人输入生理剂量的GIP，并不能增加GLP-1的分泌，因此，虽然我们发现远段小肠的L细胞密度较近段密度高，营养物质迅速抵达近段小肠仍是进食早期GLP-1分泌峰的最好解释。Schirra等则认为是通过神经旁路完成的。

由于L细胞分布是由小肠和大肠的近端向远端递增，高密度区多位于低位小肠和直肠，使我们觉得这与GLP-1的葡萄糖依赖性分泌相矛盾，这可能说明葡萄糖自身可能不是刺激GLP-1分泌的直接刺激物，一种可能性是来自于低位小肠的GLP-1的释放是通过迷走

维普资讯 http://www.cqvip.com



神经传入反射对口服葡萄糖的反应介导的；另一方面，肠道末端的L细胞位于肠道远端对出现在肠道内未被高位肠道吸收的营养物质敏感。总之，肠腔中复杂的因素相互作用加上神经因子一起调节GLP-1的分泌，远端肠道L细胞释放到循环当中的大量GLP-1有着重要的病理生理作用。

## 参 考 文 献

1. Varndell IM, Bishop AE, Sikri KL, et al. Localization of glucagon-like peptide-1(GLP) immunoreactants in human gut and pancreas using light and electron microscopic immunocytochemistry. J Histochem Cytochem, 1985, 33: 1080 - 6.
2. Göke R, Fehmann HC, Göke B. Glucagon-1like peptide-1(7 ~ 36) amide is a new incretin/enterogastrone candidate. Eur J Clin Invest, 1991, 21: 135 - 44.
3. Eissele R, Göke R, Willemer S, et al. Glucagon-like peptide-1 cells in the gastrointestinal tract of rat, pig and man. Eur J Clin Invest, 1992, 22: 283.
5. Sugiyama K, Manaka H, Kata T, et al. Stimulation of truncated glucagon-like peptide-1 release from the isolated perfused canine ileum by glucose absorption. Digestion, 1994, 55: 24 - 28
6. Nauck MA, Siemsglumss J, Orskov C, et al. Release of GLP-1 [7 ~ 36 amide] after oral glucose in patients with upper and lower gut-resectins. Abstract Gut, 1995, 37(Suppl 2): A123.
7. Damholt AB, Kofkd H, Buchan AM. Immunocytochemical evidence for a paracrine interaction between GIP and GLP-1 producing cells in canine small intestine. Cell Tissue Tes, 1999, 298(2): 287 - 93.
8. Fehmann HC, Göke B, Göke R, et al. Synergistic stimulatory effect of glucagon-like peptide-1(7 ~ 36) amide and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide on the endocrine rat pancreas. FEBS Lett, 1989; 252: 109 - 12.
9. Roberge JN, Brubaker PL. Regulation of intestinal proglucagon-derived peptide secretion by glucose-dependent insulinotropic peptide in a novel enteroendocrine loop. Endocrinology, 1993; 133(1): 233 - 40.

(2001-03-28)

·个案与短篇·

# 乳胶片引流在甲状腺手术中的应用

田志军* 邱宝梁* 殷 岳*

本文收集了本手术组1994年1月至2000年9月甲状腺手术336例的临床资料，对术后经手术切口薄乳胶片引流的情况，进行分析总结如下。

一、临床资料

1. 本组病例共336例，男性85例，女性251例；年龄16 ~ 67岁，平均年龄41岁；甲状腺腺瘤96例，行单纯性腺瘤摘除术；结节性甲状腺肿瘤181例，原发性或继发性甲亢59例，均行甲状腺大部切除术。

2. 甲状腺术后，用宽约2 cm左右薄乳胶片，置甲状腺窝，沿颈白线经手术切口正中引出，以钮扣线连续皮内缝合，术后24 ~ 28 h内拔出。

二、结果

本组病例伤口愈合良好，未发生切口裂开、皮瓣水肿及窦道形成；无伤口感染，无因伤口内积血而再手术者，术后3 ~ 6个月复诊未出现颈前皮肤粘连。

三、讨论

甲状腺位于颈部软组织中、附于气管之上，有一定活动度，其血液、淋巴循环丰富，术后安放引流是必要的。目前临床上多采用引流管，另造口引流；存在以下几点不足：1. 引流管易扭曲、折叠、血凝块及异物阻塞造成引流不畅、2. 引流管与甲状腺残面、血管接触易引起出血；3. 若大出血引起呼吸困难，拆除缝线再清除积血，延误时间；4. 另造口增加瘢痕、影响颈部外观。本手术组采用经手术切口薄乳胶片引流，通过对336例病例回顾性分析，效果良好。

甲状腺术后引流为预防性引流，关键术中止血彻底，除甲状腺上动脉双重结扎外、甲状腺残面处理，我们采用可吸收线连续锁边缝合两层、经切口放入引流片。采用本方法有以下优点：(1)引流效果好、乳胶片质软、可弯曲使创腔缩小，并且引流路径短、直接。(2)如甲状腺窝内大出血，打开钮扣，经引流口直接进入甲状腺窝，清除积血，很快解决呼吸道压迫症状。(3)可以引流出皮瓣下积液。(4)伤口皮内以钮扣线缝合，拔出引流后，收紧皮内缝线，伤口闭合完整。(5)未另造口引流、不影响颈部外观。应用本方法注意术后24h后更换敷料，如敷料未被血浸透(三层纱布厚)，挤压颈前伤口如无积血溢出，既可拔除引流片；反之，重新包扎，加用止血药；本组最长引流48h，伤口未感染。

(收稿：2001-01-08)

* 作者单位：100007 北京市第六医院外科