贵州小型猪胃粘膜 5-HT 及生长抑素免疫反应细胞的定位及表达

刘 霞,郑邦英,钱 宁,吴曙光,王明镇,刘 蕾,郭俊峰 (贵阳中医学院组织学与胚胎学教研室,贵州 贵阳 550002)

[摘 要] **目的** 观察贵州小型猪胃粘膜 5-羟色胺(5-HT)、生长抑素(SS)免疫反应(IR)细胞的分布及形态特点。**方法** 用免疫组织化学 SABC 法显示成年贵州小型猪胃粘膜 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞,观察其分布和形态,并对阳性细胞进行计数。**结果** 成年贵州小型猪胃粘膜 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞呈锥形、圆形、卵圆形、梭形等多种形态,主要分布于胃腺的体部和底部,阳性细胞计数以胃窦粘膜最多,胃体次之,贲门处最少。**结论** 贵州小型猪胃粘膜 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞形态多样,分布密度以胃窦粘膜最多,与大多哺乳动物消化道内分泌细胞的分布规律相似。

[关键词] 贵州小型猪;胃粘膜;5-羟色胺;生长抑素

[中图分类号] Q954.64;R332;R329 [文献标志码] A [文章编号] 1672-5042(2012)02-0128-03

Distrbution and morphological observation on 5-hydroxytryptamine and somatostatin immunoreactive cells in gastric mucosa of Sus Scrofa domestica var. mino guizhounensis Yu

LIU Xia, ZHENG Bang-ying, QIAN Ning, WU Shu-guang, WANG Ming-zhen, LIU Lei, GUO Jun-feng (Department of Histology and Embryology, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou 550002, China)

Abstract: Objective To observe the distribution and morphology of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and somatostatin (SS) immunoreactive (IR) cells in gastric mucosa of Sus Scrofa domestica var. mino guizhounensis Yu. **Methods** Immunohistochemical SABC method was used to display the 5-HT and SS immunoreactive cells. The number of the cells was counted and image analysis was also used in the study. **Results** The shapes of 5-HT and SS immunoreactive cells were mainly cone, round ovary and shuttle like, found mainly in the body and base of gastric gland. The positive cell count was the highest in gastric mucosa, followed by stomach body and cardia. **Conclusion** The shape of 5-HT and SS immunoreactive cells in gastric mucosa of Sus Scrofa domestica var. mino guizhou-nensis Yu is various. The highest density of endocrine cells is found in gastric mucosa, similar to the distribution in mammals.

Keywords: Sus Scrofa domestica var. mino guizhounensis Yu; gastric mucosa; 5-hydroxytryptamine; somatostatin

胃不仅是消化器官,具有消化食物和吸收功能,也是许多重要内分泌细胞的分布场所。胃粘膜内有 5-羟色胺(5-hydroxytryptamin,5-HT)、生长抑素(somatostatin,SS)、胃泌素免疫反应(immunoreactive,IR)细胞等,它们对调节胃、肠、胰的分泌功能和胃肠壁营养及发育有重要作用[1]。对于消化道内分泌细胞的分布、形态及功能已有广泛研究[2-3],但目前尚未见到对贵州小型猪(Sus Scrofa domestica var. mino guizhounensis Yu)胃粘膜内分泌细胞的研究报道。本实验应用免疫组织化学方法对贵州小型猪胃粘膜5-HT-IR和SS-IR 细胞的分布及形态进行观察,对细胞可能产生的作用进行探讨,为其用于消化道疾病模型复制等医药科研工作提供相关的形态学资料。

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年贵州小型猪 6 只,贵阳中医学院实验动物中心提供。

1.2 取材及标本处理

将贵州小型猪麻醉处死后立即取出胃,生理盐水冲洗干净后分别取贲门、胃体、胃窦组织,10% 甲醛固定,常规石蜡包埋。制作 4 μm 厚度切片(切片间隔 56 μm)备用。

1.3 染色方法

采用免疫组织化学 SABC 法染色,分别显示 5-HT-IR 及 SS-IR 细胞。主要步骤为:切片脱蜡至水,10% H_2O_2 10 min,正常山羊血清(1∶10)封闭 20 min,依次滴加兔 5-HT 及 SS 抗血清(北京中杉金桥生物工程有限公司提供),4 ℃过夜,羊抗兔 IgG、SABC 复合物(武汉博士德生物工程有限公司提供)37 ℃孵育 20 min,DAB-H_2O_2液显色,苏木精复染细胞核,中性树胶封片。方法对照:PBS 缓冲液代替特异性抗血清,其余步骤同上。

1.4 切片观察及细胞计数

每个部位每种抗体选取 5 张切片,光镜下观察阳性细胞的

[基金项目] 贵阳中医学院硕士基金

[作者简介] 刘 霞(1980 -),女,贵州省六盘水市人,讲师,硕士,主要从事实验动物组织学神经内分泌方面的研究。电话:(0851)5606079,E-mail:liuxia0851@126.com

[收稿日期] 2011-09-08 [修回日期] 2011-10-18

分布及形态，对每张切片于 40 倍物镜下随机选 5 个高倍视野进行计数，其计数结果取平均值 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$），采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃粘膜 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞光镜观察

光镜下胃粘膜 5-HT-IR 阳性细胞主要分布于胃腺底部和体部的上皮细胞之间，偶见于粘膜表面上皮内；胞体较大，呈锥体形、卵圆形、圆形、柱状或不规则形，有的细胞顶部伸达腺腔、腺细胞之间或腺体之间的结缔组织内；免疫反应产物位于胞质内，染色深，呈棕黑色细颗粒状；阳性细胞数量从贲门至胃窦逐渐增多（图 1a、b、c）。方法对照切片未见免疫反应阳性细胞。

胃粘膜 SS-IR 阳性细胞数量较少，分布位置与 5-HT-IR 阳性细胞相似，主要于胃腺上皮细胞之间，偶见于粘膜表面上皮细胞之间；胞体较小，以椎体形最常见，其次为圆形和卵圆形，椎体形细胞的顶部常伸达腺腔，有些细胞也可见突起伸至腺细胞之间或腺体之间的结缔组织内；免疫反应产物位于胞质，染色较浅，呈棕黄细颗粒状；贲门和胃体的阳性细胞数量少，胃窦处稍增多（图 1d、e、f）。方法对照切片未见免疫反应阳性细胞。

2.2 胃粘膜 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞计数

对贵州小型猪胃贲门、胃体及胃窦 3 个部位粘膜内的 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞数进行比较，结果见表 1。

表 1 胃粘膜不同部位 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞数（$\bar{x} \pm s$）

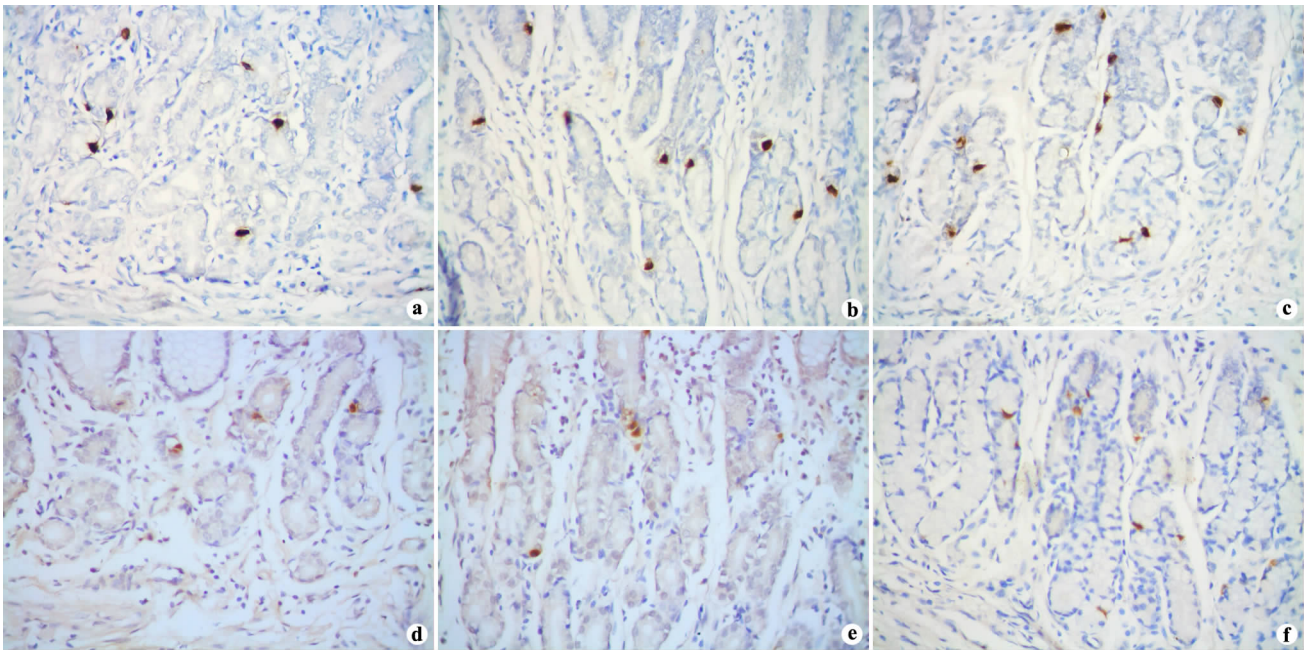
部位	5-HT-IR 细胞（个/视野）	SS-IR 细胞（个/视野）
贲门	7.08 ± 2.29	3.75 ± 1.56
胃体	8.57 ± 2.49 *	4.12 ± 1.39
胃窦	9.38 ± 3.54 *	5.58 ± 1.45 #

*：与贲门比较，$P < 0.01$；#：与贲门和胃体比较，$P < 0.01$

3 讨论

小型猪解剖学、生理学、疾病发生等方面与人类极为相似，是人体医药学实验的最佳替代者之一。张集建等[4]证实，贵州小型猪在术后的饮食及切口愈合等方面均优于犬类。小型猪胃肠道结构、心血管系统、新陈代谢机制、营养物质的吸收和转运及糖代谢等均与人类相似，目前已被广泛运用于人类疾病模型的复制和药物安全性评价[5]。鉴于小型猪在生物医学研究领域中具有广阔的应用前景，有必要对其相关微细结构进行探索和研究。本实验用免疫组织化学 SABC 法对贵州小型猪胃粘膜两种内分泌细胞的分布及形态进行观察，对细胞可能产生的作用进行探讨。

哺乳动物大约 60% ~90% 的 5-HT 存在于胃肠道内，胃幽门窦和十二指肠含量最多，而胃底粘膜内数量随动物种属而异，猪、狗、兔、猴较多，豚鼠较少[6]。胃肠道 5-HT 可刺激胃肠平滑肌，提高胃肠紧张度和活动性，使胃肠收缩和蠕动，当胃肠道管腔或胃肠道神经受到机械或化学刺激时 5-HT 被释放出来，参与调节胃肠的运动和分泌[7-8]。5-HT 与呕吐、腹泻、胃肠运动失调及肠预激综合征的病理形成机制有关，并参与消化性溃疡、胃肠功能病及返流性食管炎等疾病的内分泌调节[9-10]。SS 主要由 D 细胞合成和分泌，除中枢神经系统外也广泛分布于消化系统。经测定，胃肠道 SS



a：贲门 5-HT-IR 细胞；b：胃体 5-HT-IR 细胞；c：胃窦 5-HT-IR 细胞；d：贲门 SS-IR 细胞；e：胃体 SS-IR 细胞；f：胃窦 SS-IR 细胞

图 1 贵州小型猪胃粘膜 5-HT-IR、SS-IR 阳性细胞（SABC 法 ×400）

最高浓度在幽门区,其次是胃体和十二指肠[11]。SS 对胃肠道有广泛的抑制作用:胃的 D 细胞能以旁分泌的方式作用于壁细胞,抑制其分泌盐酸;SS 还能抑制胃肠道的运动;几乎所有胃肠激素的分泌释放均受 SS 调节;SS 还可通过影响细胞因子和前列腺素的产生,对胃肠免疫功能进行调节从而保护胃肠粘膜[12]。淋巴细胞表面有 SS 受体分布,说明 SS 对免疫系统也有调节作用,与胃肠道的免疫功能有关[13]。

本实验观察到贵州小型猪胃粘膜内的 5-HT-IR、SS-IR 细胞形态多样,主要分布于胃腺的体部和底部,偶见于粘膜表面上皮细胞之间,细胞分布密度以胃窦粘膜最多,胃体次之,贲门处最少,其分布规律和大多哺乳动物相似。5-HT-IR 细胞数量较多,阳性产物呈棕黑色,而 SS-IR 细胞数量较少,胞体小,阳性产物着色浅淡。根据细胞的形态可判断出 5-HT-IR、SS-IR 细胞的作用方式有 3 种:部分细胞通过突起向腺腔内释放激素称腔分泌或外分泌;部分细胞突起走行于腺细胞之间,指向腺细胞基底部,通过旁分泌的方式作用于邻近细胞;而有些细胞的突起则指向腺泡之间的结缔组织,说明此部分细胞可向结缔组织内的毛细血管释放激素,通过内分泌的方式行使其功能。本实验的观察结果将为贵州小型猪用于医药科研工作,尤其是消化道疾病模型复制提供相关的形态学资料。

[参考文献]

[1] 成令忠,钟翠平,蔡文琴. 现代组织学[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2003:583 - 596.

[2] Sjolund K, Sanden G, Hakanson R, et al. Endocrine cells in human intestine: an immunochemical study[J]. Gastroenterology, 1983, 85(5): 1120 - 1130.

[3] Voutilainen M, Juhola M, Pitkanen R, et al. Immunohistochemical study of neuroendocrine cells at the gastric cardia mucosa[J]. J Clin Pathol, 2002, 55(10): 767 - 769.

[4] 张集建,郭光金,张天飞,等. 小型猪与家犬在手术教学中的对比分析[J]. 局解手术学杂志,2003,12(5):337 - 338.

[5] 袁 进,顾为望. 小型猪作为人类疾病动物模型在生物医学研究中的应用[J]. 动物医学进展,2011,32(2):108 - 111.

[6] 余 跃,侯晓华. EC 细胞与胃肠疾病研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2005,14(2):206 - 208.

[7] Li JP, Chang TM, Chey WY. Roles of 5-HT receptors in the release and action of secretin on pancreatic secretion in rats[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 280(4): G595 - G602.

[8] Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2002, 71(4): 533 - 554.

[9] Lychkova AE. Role of serotoninergic system in the development of gastrointestinal diseases[J]. Bull Exp Biol Med, 2009, 147(2): 262 - 268.

[10] Lesurtel M, Soll C, Graf R, et al. Role of serotonin in the hepato-gastro-Intestinal tract: an old molecule for new perspectives[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(6): 940 - 952.

[11] 陈元方. 胃肠激素概述[J]. 中华消化杂志,1996,16(1):45 - 47.

[12] Panteris V, Karamanolis DG. The puzzle of somatostatin: action, receptors, analogues and therapy[J]. Hepatogastroenterology, 2005, 52(66): 1771 - 1781.

[13] Ferone D, Boschetti M, Resmini E, et al. Neuroendocrine-immune interactions: the role of cortistatin/somatostatin system[J]. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1069: 129 - 144.

(编辑:余汇洋)

(上接第 127 页)

力状况下收紧腱组织,防止缝合后跟腱扭曲及偏移发生;②为确保腱组织在夹持部位上下厚度一致,术中通过断端探查触摸吻合器夹持的跟腱,防止矢状位缝合偏心;③防止缝线拉裂跟腱组织,插入吻合器的深度以最远端穿线孔距腱断端距离大于 1 cm 即可,过深则容易使跟腱对合力线不良,也可通过水平方向调整吻合器定位杆使三组缝线在跟腱不同平面上;④在收紧三组缝线使跟腱断端对合时,注意防止跟腱之间缝隙过宽或过紧,影响术后踝关节功能。

开放性跟腱断裂术中创伤过大、破坏腱周组织血运过多,导致术后感染、跟腱延迟愈合、粘连加重的情况。如果创面进行彻底清创后,采用原创口清理显露跟腱断端,利用 Achillon 微创缝合的方法治疗,则对跟腱局部血供影响小,而且创伤小。

[参考文献]

[1] Chiodo CP, Wilson MG. Current concepts review: acute ruptures of the achilles tendon[J]. Foot Ankle Int, 2006, 27(4): 305 - 313.

[2] 孙淑红,孙臣友,唐茂林. 跟腱周围软组织血供与跟腱断裂修补术入路选择的解剖学研究[J]. 中国骨伤,2007,20(2):106 - 107.

[3] Storm AC, Casillas MM. Achilles tendon rehabilitation[J]. Foot Ankle Clin, 2009, 14(4): 773 - 782.

[4] Khan RJ, Fick D, Keogh A, et al. Treatment of acute achilles tendon ruptures: a meta analysis of randomized, controlled trials[J]. J Bone Joint Surg(Am), 2005, 87(10): 2202 - 2210.

[5] 李 欢,商晓军,朱亚平,等. 微创腱皮缝合治疗急性跟腱断裂的生物力学评价[J]. 临床骨科杂志,2008,11(3):271 - 274.

[6] 杨 柏,姜 恒,马 岩,等. 关节镜辅助下经皮牵引治疗陈旧性跟腱断裂[J]. 局解手术学杂志,2010,19(3):219.

[7] 任小宝,陈翔宇,孙 激,等. Achillon 微创跟腱吻合器治疗 29 例闭合性跟腱断裂[J]. 第三军医大学学报,2011,33(6):641 - 643.

[8] Bhattacharyya M, Gerber B. Mini-invasive surgical repair of the achilles-tendon--does it reduce post-operative morbidity?[J]. Int Orthop, 2009, 33(1): 151 - 156.

[9] Aktas S, Kocaoglu B. Open versus minimal invasive repair with Achillon device[J]. Foot Ankle Int, 2009, 30(5): 391 - 397.

(编辑:左艳芳)