维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2001)02-0129-03

胃肠多肽对大鼠胰腺腺泡细胞生长的影响

韩 军、赵旭东、唐承薇

（重庆医科大学消化疾病研究室 重庆 400016）

【摘 要】目的：了解胆囊收缩素(CCK)、蛙皮素(BBS)、生长抑素、肠血管活性多肽和胃泌素对大鼠胰腺腺泡细胞生长的影响。方法：采用大鼠胰腺腺泡细胞原代培养、测定细胞^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入（^{3}H-TdR）以观察细胞生长。结果：培养期间、细胞存活良好，保持腺泡形态、与对照组(251.5±69.1 cpm)比较、CCK、BBS明显增加了大鼠胰腺腺泡细胞的^{3}H-TdR、分别为361.0±57.6 和 605.5±214.2 cpm，$P<0.05$；而VIP组、SST组和胃泌素组则对大鼠胰腺腺泡细胞的^{3}H-TdR 无明显影响、$P>0.05$。结论：CCK、BBS有促进大鼠胰腺腺泡细胞生长的作用、SST、VIP、胃泌素则不影响胰腺腺泡细胞的生长。

【关键词】胃肠多肽；胰腺腺泡；原代培养；大鼠

【中国图书分类法分类号】Q831.1+1 【文献标识码】A 【收稿日期】2000-08-29

Effects of gut peptides on the growth of rat pancreatic acinar cells

HAN Jun, et al

(Laboratory Gastroenterology, Chongqing Medical University)

【Abstract】 *Objective*: Cumulative data indicate that cholecystokinin(CCK) stimulates the growth of rat pancreas. However, it is unclear whether the receptors for gastrin bombesin (BBS), somatostatin (SST), vasoactive intestinal peptide (VIP) and secretin, which are expressed on the acinar cells of rat pancreas, also mediate DNA synthesis of acinar cells of rat pancreas. *Methods*: To address those questions, the effects of CCK, gastrin, BBS, SST and VIP on the acinar cell growth of rat pancreas were investigated through *in vitro* primary culture of rat pancreatic acinar cells. *Results*: The ^{3}H-thymidine incorporation of pancreatic acinar cells in the group of CCK (361.0±57.6 cpm) or BBS (605.5±214.2 cpm) was significantly higher than that of control (251.5±69.1 cpm), $P<0.05$. No significant differences of ^{3}H-thymidine incorporation of pancreatic acinar cells were found in the groups of SST, VIP and gastrin. *Conclusion*: Both CCK and BBS stimulated the growth of rat acinar cells. No trophic effects of VIP, SST and gastrin on rat pancreas were observed.

【Key words】 Gut peptide; Pancreatic acinar cell; Primary culture; Rat

胃肠多肽参与胰腺生长的调控[1]，其中已知胆囊收缩素(Cholecystokinin, CCK)对大鼠胰腺腺泡有促生长的作用[2,3]。近年来有研究表明大鼠胰腺腺泡细胞还表达蛙皮素(Bombesin, BBS)，生长抑素(Somatostatin, SST)，肠血管活性多肽(Vasoactive intestinal peptide, VIP)等受体[4]。是否这些胃肠多肽受体也介导大鼠胰腺腺泡细胞的生长，目前尚未见报导。本研究通过大鼠胰腺腺泡原代培养，观察CCK、BBS、SST、VIP和胃泌素对大鼠胰腺腺泡细胞生长的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

CCK-8、BBS、SST、VIP、Gastrin、III型胶原酶、大豆胰蛋白酶抑制剂及Triton X-100购自Sigma公司；RPMI-1640培养基系Gibco公司产品；α-淀粉酶测定试剂盒购自上海科华-东菱诊断用品公司、^{3}H-胸腺嘧啶核苷购自中国原子能研究院。健康纯系Wistar大鼠5只、由重庆医科大学实验动物中心提供，鼠龄60～90天，体重250～300g。

1.2 胰腺腺泡细胞制备

在文献报道[5]的基础上加以改进。即常规商用鼠饲料喂养，自由进食、饮水，实验前夜禁食。重物击头处死大鼠，立即取出胰腺0.5～0.8g，放入制备液中。制备液为RPMI-1640，加入HEPES 10mM，$NaHCO_3$ 2.0g/L、青霉素100U/ml、链霉素 0.01g/ml，小牛血清 2.5%(V/V)，大豆胰蛋白酶抑制剂 0.2mg/ml，胶原酶 200U/ml。将制备液多位点注入胰腺，37℃、130rpm的条件下消化约30min，每隔10min用力振荡，直至显微镜下见大量由数个细胞围成花环状的细胞团。离心、细胞重悬后用20目尼龙网过滤。吸取少许胰腺腺

作者介绍：韩 军(1964-)，男，山东人，讲师，硕士生，主要研究方向：胃肠激素

基金资助：国家杰出青年科学基金(39725012)

维普资讯 http://www.cqvip.com

泡细胞悬液，用0.4%台盼蓝染色，镜下观察胰腺腺泡细胞不被着色，证明腺泡细胞有活性。将细胞冻融5遍后适当稀释，采用CNPG3法测定胰腺腺泡细胞的淀粉酶活性，以确定拟培养的细胞是腺泡细胞。

1.3 胰腺腺泡细胞培养

用含0.2%BSA的RPMI-1640细胞培养液，将制备好的、有淀粉酶分泌功能的腺泡细胞进行细胞重悬，分别均匀接种于培养板孔中，每孔5ml，培养基成份与前述制备胰腺腺泡细胞用培养基相同，但不含胶原酶、大豆胰蛋白酶抑制剂浓度改为0.1mg/ml。培养1天后，分别加入CCK-8、BBS、SST、VIP和胃泌素(Gastrin)，浓度均为10 nmol/L，用生理盐水设置对照，细胞培养条件为37℃、5% CO_2、湿饱和，每天更换培养基。

测定细胞^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入可反映其DNA合成状况，是最常用的观察细胞生长的指标。本研究在培养第3天，各孔加入^{3}H-胸腺嘧啶核苷 0.2 Ci / ml，第4天收集培养细胞，液闪法测定cpm值。数据间比较采用 Student *t* 检验。

2 结 果

所制备的胰腺腺泡细胞形态正常(图1)，经检测有淀粉酶分泌活性。培养第2天，加入各种胃肠多肽，细胞存活良好，保持原有腺泡形态(图2)，未见腺泡细胞贴壁生长。

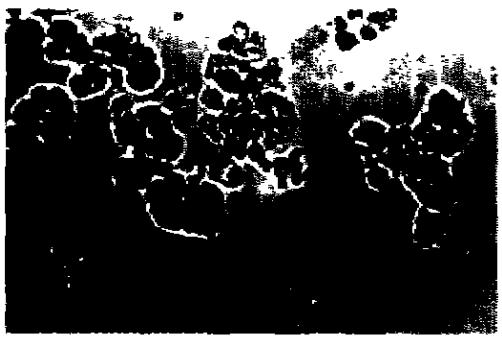


图1 新鲜制备的大鼠胰腺腺泡细胞（×800）



图2 培养基内加入胃肠多肽后2天的胰腺腺泡细胞（×800）

在原代培养期间，与对照组(251.5±69.1 cpm)比较，CCK(361.0±57.6 cpm)、BBS (605.5±214.2 cpm)明显增加了大鼠胰腺腺泡细胞的^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入，$P<0.05$；而VIP组、SST组和胃泌素组则对大鼠胰腺腺泡细胞的^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入无明显影响，$P>0.05$ (图3)。

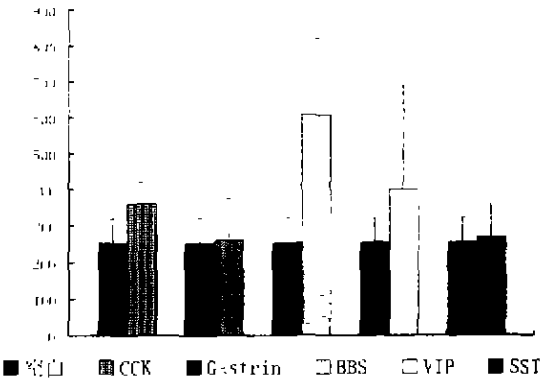


图3 胃肠多肽对大鼠胰腺腺泡细胞^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入的影响，* $P<0.05$

3 讨 论

本研究中，大鼠胰腺经消化、过滤后获得大量腺泡细胞，其它种类细胞大部分被去除。悬液中的细胞绝大部分与文献图片所示的腺泡形态一致[5]，并有分泌淀粉酶的功能。在培养过程中未见细胞贴壁或梭状改变等导管细胞生长的征象。一方面说明没有明显的导管细胞生长，另一方面说明腺泡细胞形态保持良好，避免了有些文献报道啮齿动物胰腺腺泡细胞培养过程中，腺泡细胞向导管细胞转变的现象[6]。此外，^{3}H-胸腺嘧啶核苷的有效掺入表明细胞有较高水平的DNA合成，并能长时间保持细胞的生长特征。

CCK和胃泌素属于同一激素家族。中枢和外周的CCK受体有二种亚型，即CCK-A受体、CCK-B受体/胃泌素受体[7]，已知大鼠胰腺腺泡细胞表达CCK-A受体[8]。本研究观察到CCK显著增加了大鼠胰腺腺泡细胞的^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入，而作为同一家族的胃泌素则无此效应，说明CCK对大鼠胰腺腺泡细胞的促生长效果是通过CCK-A受体介导的。由于大鼠胰腺腺泡细胞上无CCK-B受体表达，故胃泌素不能促进胰腺腺泡的生长。

由14个氨基酸组成的多肽BBS对很多组织都有营养作用，它可通过刺激CCK释放而间接促进胰腺生长。近年文献报告，大鼠的胰腺腺泡细胞表达了BBS受体[4]，但其功能并不清楚。本研究观察到BBS在体外实验中可直接促进胰腺腺泡细胞的DNA合

维普资讯 http://www.cqvip.com

成，其促进作用较CCK明显。结果提示，BBS对胰腺的促生长作用既可为间接的，也可是直接的。

VIP是胃肠道具有生理调节功能的重要的神经肽，它可能是调节胰腺分泌的主要非肾上腺素能神经递质之一。VIP可促进胰腺癌、肺癌等肿瘤细胞株的生长[9]。大鼠胰腺腺泡细胞表达VIP受体已被报道多年[4]，但尚未见对其生理功能研究的报导。我们的结果显示VIP对大鼠胰腺腺泡细胞的^{3}H-胸腺嘧啶核苷掺入无明显影响。

SST能影响细胞的增殖能力，但对胰腺腺泡细胞的营养作用尚不明。本研究未能观察到SST对大鼠胰腺腺泡细胞生长的影响。这一结果使临床应用SST治疗急性胰腺炎时，不必顾虑SST在抑制胰腺外分泌的同时是否会抑制胰腺腺泡细胞的再生，而使急性胰腺炎延迟恢复等问题。

总而言之，促进大鼠胰腺腺泡细胞生长的胃肠多肽不仅有CCK，还有BBS。SST、VIP和胃泌素则不影响胰腺腺泡细胞的生长。上述研究结果增进了胃肠多肽对胰腺部分生理功能调节的认识。用CCK或BBS促进腺泡再生，是否有益于坏死型胰腺炎、慢性胰腺炎治疗以及胰腺移植有待进一步探讨。

参 考 文 献

[1] Mutt V. Historical perspectives on cholecystokinin research[J]. Ann NY Aca Sci, 1994;713:1-10.

[2] Povoski SP, Zhou W, Longnecker DS, et al. Stimulation of in vivo pancreatic growth in the rat is mediated specifically by way of cholecystokinin-A receptors[J]. Gastroenterology, 1994: 107:1135-1146.

[3] Nylander AG, von-Friesen CP, Monstein HJ, et al. Increased expression of cholecystokinin A receptor mRNA in pancreas and cholecystokinin B receptor mRNA in oxyntic mucosa after porta-caval shunting in rats[J]. Pharmacol-Toxicol, 1997;80:147-151.

[4] Tang C, Biemond I, Appel MJ, et al. Gut peptide receptors in pancreata of azaserine-treated and normal control rats[J]. Carcinogenesis. 1995;16:2951-2956.

[5] Schultz GS, Sarras MP, Guther GR, et al. Guinea pig pancreatic acini prepared with purified collagenase[J]. Exp Cell Res. 1980;130:49-62.

[6] Githens S. Pancreatic duct cell cultures[J]. Annu.Rev. Physiol. 1994;56:419-43.

[7] Wank SA. Cholecystokinin receptors[J]. Am J Physiol. 1995: 269:G628-646.

[8] Tang C, Biemond I, and Lamers CBHW. Visualization and characterization of CCK receptor in exocrine pancreas of rat with storage phosphor autoradiography[J]. Pancreas, 1996;13:311-315.

[9] Moody TW. Peptides and growth factors in non-small cell lung cancer[J]. Peptides. 1996;17 545-555.

(上接第128页)

粒细胞方向分化。尽管本实验未观察到对HL-60的诱导分化作用，但不能排除它们有诱导HL-60分化的可能性。为进一步明确GPS对HL-60的诱导分化作用及机理，还需在诱导条件包括药物浓度、时间及其它因素进行分子生物学水平摸索并深入探讨。

综上所述，GPS体外对HL-60增殖有明显抑制作用，经GPS作用后HL-60细胞体积减小，核/浆比例减小，但未证实GPS在体外能诱导HL-60向成熟粒细胞和/或单核细胞方向分化。同等剂量的GPS能明显促进正常粒单系造血祖细胞的增殖分化。推测GPS有可能成为既能促进正常造血又能抑制白血病细胞增殖的天然诱导剂。在今后的实验中，我们将进一步探讨GPS诱导HL-60分化的作用及其机理。

参 考 文 献

[1] 王亚平，祝彼得. 当归多糖对小鼠粒单系血细胞发生的影响[J]. 中国实验血液学杂志，1993;1(1):79.

[2] 刘 锐. 多糖成分药理研究概况[J]. 甘肃中医学院学报，1991; 8(3): 42-44.

[3] Kim KH, Lee YS, Jung IS, et al. Acidic polysaccharide from Panax ginseng, ginsan, induces Th1 cell and macrophage cytolines and generates LAK cells in synergy with rIL-2[J]. Planta Med. 1998; 64(2): 110-115.

[4] 钱伯初，臧星星，许初阳，等. 人参多糖对肿瘤及荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药理学报，1987; 8(3): 277.

[5] 杨 桦，赫 牲，杨明久. 人参多糖抗肿瘤活性的实验研究[J]. 中国药理学通报，1992; 8(3): 218-220.

[6] Lee YS, Chung IS, Lee IR, et al. Activation of multiple effector pathways of immune system by the antineoplastic immunostimulator acidic polysaccharide ginsan isolated from Panax ginseng[J]. Anticancer Res. 1997; 17(1A): 323-331.

[7] Shin KS, Kiyohara H, Matsumoto T, et al. Rhamnogalacturonan II from the leaves of Panax ginseng C.A. Meyer as a macrophage Fc receptor expression enhancing polysaccharide[J]. Carbohydr Res, 1997; 300(3): 239-249.

[8] Young DC, Griffin JD. Autocrine secretion of GM-CSF in acute myeloblastic leukemia[J]. Blood. 1986; 68:1178.