DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.02.003

大鼠小肠降钙素基因相关肽在肠型放射病时的变化

吴 康 蔡文琴（组胚教研室）

提 要 本文应用免疫细胞化学（整装分层铺片和恒冷箱冰冻切片）和放射免疫测定技术，对大鼠小肠降钙素基因相关肽（CGRP）的分布特征及其在肠型放射病时的变化进行了观察。

结果表明：小肠各层均有丰富的CGRP-免疫反应性(CGRP-I)神经，以肌间神经丛、粘膜下神经丛和粘膜神经丛密度为高，小肠壁内小血管及肠腺周围也较丰富，在肌间和粘膜下神经丛中见有一些CGRP-I神经细胞。肠型放射病时，小肠CGPR水平有一双相改变，24h下降，48和72h升高。

以上结果提示，CGRP可能与胃肠道运动，吸收，分泌，感觉和局部血流的调节有关，CGRP在AIRS时可能有一应激性释放，并通过多种途径，尤其是影响局部血流和增加血管的通透性，参与AIRS的损伤机制。

关键词 小肠；降钙素基因相关肽；免疫细胞化学；放射免疫测定

降钙素基因相关肽（calcitonin gene-related peptide,CGRP）是近年来应用重组DNA技术后发现的一种新肽[1]。目前关于它的研究报告，尤其是在胃肠道方面报告较少。肠型放射病（acute intestinal radiation sickness,AIRS）是核战争与核事故中常见放射病类型之一，从50年代起，许多学者对其进行了系统研究[2]。有资料表明，神经体液因素参与了AIRS的疾病过程[3]。本文用免疫细胞化学（immunocytochemistry,ICC）和放射免疫分析（radioimmunoassay,RIA）技术，对大鼠小肠CGRP的分布及其在AIRS时的变化进行了形态观察和定量分析，以期为AIRS发病机制和抗放损伤的研究提供线索和资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

Sprague—Dawley纯系成年大鼠62只（体重180—300g），按表1分组，全身1次性$^{60}Co\gamma$-射线照射20Gy，分别于照后24、48和72h取材。

表1 实验动物分组

组 别	ICC	RIA
正常组	10	10
照后24h组	4	10
照后48h组	4	10
照后72h组	4	10

1.2 ICC

动物腹腔麻醉，改良Zamboni's液心脏灌注后浸泡固定，恒冷箱冰冻切片和分层铺片，PAP法免疫染色。ICC主要试剂表见2

1.3 RIA

断头处死动物，经煮沸称重（全小肠）、匀浆、离心等，取上清液分装于-20℃备用。另设样品及标准品回收组，与样品同时处理和测定。以氯胺-T法自制^{125}I-CGRP。RIA主要试剂见表3。

1.4 数据处理及统计

以各浓度标准品管特异结合率对〔CGRP〕含量拟合，求出最佳关系方程，作为理论标准曲线予测

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

〔CGRP〕。再进行单因素方差分析，并对各组均值进行显著性检验。

表2 ICC 主要试剂一览表

主要试剂	种属来源	工作效价	生产来源
Tyr -CGRP(合成)	大鼠		Peninsula Lab Inc
兔抗CGRP(合成，大鼠)	兔	1:6000	Peninsula Lab Inc
羊抗兔血清	羊	1:30	第二军医大学生理
PAP复合物	兔	1:80	同 上

表3 RIA 主要试剂一览表

试剂	种鼠来源	生产来源	工作浓度
Tyr - CGRP(合成)	大鼠	Peninsula Lab Inc	
抗CGRP(RIA)	羊	Peninsula Lab Inc	10.2pg/管
抗兔血清	羊	上一医红旗制药厂	1:2
正常兔血清	兔	自制	1:8

2 结果

2.1 大鼠照后表现及病理特征

大鼠照后随着时间的增加出现厌食、反应迟钝、水样便至血水便；胃、小肠充盈，含水样物；绒毛微粒感不清至消失；光镜下见绒毛及肠腺上皮细胞肿大(24h)，上皮细胞开始脱落(48h)，至照后72h绒毛及肠腺上皮完全脱落、腺腔空虚，粘膜表面光滑。

2.2 ICC

2.2.1 正常组 小肠各层均有CGRP-免疫反应性 (CGRP-immunoreactive,CGRP-I) 神经分布，以粘膜、粘膜下层和肌间神经丛密度为高，在肌间丛呈网格状分布，在环肌与平滑肌走向一致；CGRP-I纤维还常沿小肠壁内血管走行形成血管周围丛，在肠腺周围及绒毛内也较丰富（图3，4）。CGRP-I神经细胞见于肌间丛和粘膜下丛，以后者略多（图1，2）。

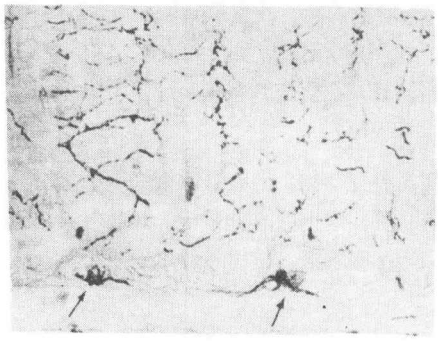


图1 空肠切片，显示肠腺周围及粘膜下层中的CGRP-I纤维，箭头所示为粘膜下层CGRP-I神经细胞体。×600

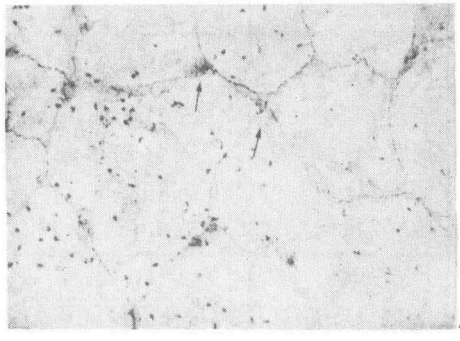


图2 空肠粘膜下层铺片，示粘膜下CGRP-I神经节丛，箭头所示为CGRP-I神经细胞体。×500

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

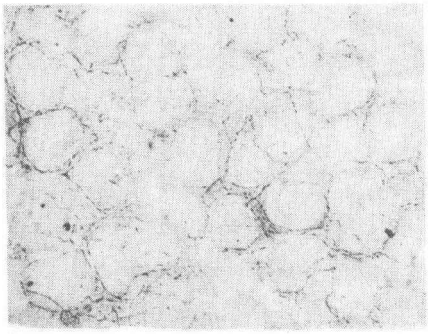


图3 空肠粘膜固有层铺片，示CGRP-I纤维围绕肠腺呈环状分布。×500

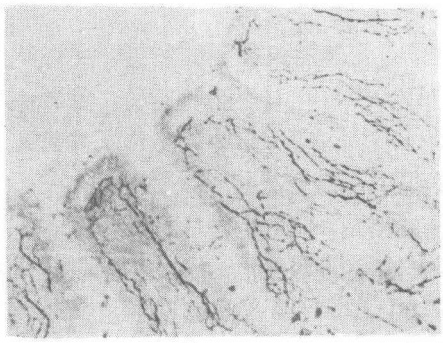


图4 十二指肠切片，示绒毛中的CGRP纤维网。×500

2.2.2 照射组 照后72h，粘膜层内GRP-I神经密度略有增加，排列紊乱，正常肠腺周围的环形分布消失（图5，6）。

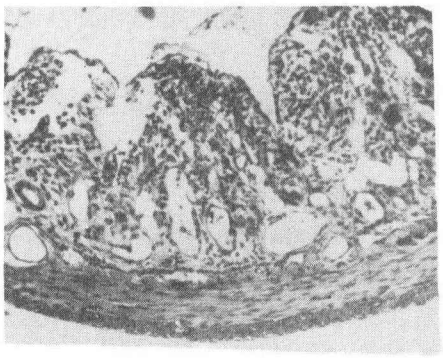


图5 照后72h，空肠切片（见结果2.1）×500。



图6 照后72h空肠粘膜固有层铺片，示CGRP-I纤维密度增加，环形分布消失。×500

2.3 RIA

照后，全小肠CGRP含量先下降(24h)后回升(48h)，再下降(72h)，但仍高于正常，各组间均相差非常显著($P<0.01$)，照后48h和72h，单位小肠组织CGRP含量显著高于正常组及24h组（$P<0.01$），小肠重量在24h、48h呈进行性下降（$P<0.01$），72h仍轻微下降，但仍低于24h组（$P<0.01$）。

表4 大鼠照射前后4项指标变化

时间 (h)	体重 (g)	小肠重量 (g)	每克湿组织 CGRP(ng/gwt)	小肠CGPR总量 (ng/只)
对照组	258.4±15.62	13.56±0.54	59.59±4.8	813.06±32.59
24h 组	261.6±10.25	9.01±0.30	61.11±8.0	550.69±19.46
48h 组	257.4±11.33	5.81±0.20	187.67±29.0	1089.42±38.63
72h 组	216.5±13.64	5.28±0.30	178.86±22.8	944.90±56.37

3 讨论

3.1 大鼠小肠CGRP的分布特征和意义

本文结果表明，大鼠小肠CGRP-I物质的分布，除少量存在于内分泌细胞中外，主要以神经肽形式存在于CGRP-I神经细胞和纤维中；CGRP-I纤维在各层均有分布，但以粘膜、粘膜下层和肌间神经丛密度为高，并常沿肠壁血管走行形成血管周围神经丛，在肠腺周围呈环状分布，在绒毛内也有较高密度，并发出分枝伸达上皮。大鼠小肠绒毛的血管丛呈喷泉型，外源性CGRP可引起血管，尤其是器官内的小血管强烈扩张，血压下降[4]。另有资料表

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

明，CGRP是胃酸的一种强抑制剂，并影响多种胃肠激素的分泌，参与小肠运动等。结合本文结果，CGRP可能与小肠的运动、吸收、分泌、感受和局部血流的调节有关。

3.2 CGRP在AIRS时的变化及其意义

本文采用大鼠全身性一次性受照20Gy，从临床表现、病程及光镜下病理改变等方面看，已造成典型AIRS模型[6]。由于AIRS时，小肠粘膜上皮脱落明显，而肽类物质（本文为CGRP）在小肠各层常为不均匀分布。故本文认为以全小肠和单位小肠组织CGRP含量综合考虑其在AIRS时的变化趋势和意义较为客观。

目前认为，辐射对机体的作用主要是通过①神经元途径；②内分泌途径和；③毒血症等机制介导的[7]。本文ICC结果显示，照后72h小肠粘膜CGRP-I神经密度略有增加；RIA结果显示，照后小肠CGRP含量呈明显变化，提示CGRP参与了AIRS的全身性应激反应。由于正常大鼠小肠CGRP主要分布于肠神经系统，且照后内分泌细胞随小肠上皮脱离、小肠重量进行性减低时，小肠CGRP含量却明显升高，这说明小肠的CGRP可能主要是以神经肽的形式参与AIRS的神经元机制。

CGRP可能通过多途径或多个环节参与AIRS的一系列病理生理过程，其中主要可能是：

①对局部血流的影响：CGRP具有强烈的扩血管作用，尤其是器官内的小血管。大量资料表明[8]，照后早期，小肠血流量增加，血管扩张，晚期则相反。本文结果显示，大鼠小肠CGRP-I神经形成血管周围丛，且照后小肠CGRP含量（在小肠重量下降时）呈现一个早期下降、晚期升高的双相变化。这说明CGRP可能与上述AIRS时的病理生理变化有关。

②增加血管通透性：CGRP可增加血管的通透性，并与速激肽类、缓激肽类有迭加作用[9]。AIRS时小肠SP的变化趋势与本文中CGRP的变化趋势非常相似[10]，结合SP与CGRP在小肠有共存的事实，CGRP可能在照后与SP共同参与应激反应，二者协同作用，使小肠血管通透性增加，从而加重AIRS时已有的病理生理变化。

综上所述，CGRP在AIRS时可能有一应激性释放过程，并通过多环节或多途径，尤其是影响局部血流和增加血管通透性，参与AIRS的损伤机制，这与AIRS的发病机制之一——“血管通透性增加学说”相吻合[6]。

参考文献

1. Rosenfeld MG, et al. production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue specific RNA processing. Nature 1983; 304:129
2. Quastler H. The nature of intestinal radiation death. Radiat Res 1956:4:303
3. 詹正嵩。急性肠型放射病的发病机理及防治研究进展概况。国外军事医学资料第二分册 1979,(增)2:1
4. Brain SD,et al.Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. Nature 1985:313:271
5. Lenz HJ, et al. CGRP inhibits basal pentagastrin, histamine and behtanecol stimulated gastric acid secretion. Gut 1985:26:550
6. 程天民，主编。防原医学。第一版，上海科学技术出版社，1986
7. 朱壬葆，等著。辐射生物学。第一版，科学出版社，1987
8. 郭鹤，等。放射损伤病理学。第一版，人民卫生出版社，1987
9. Gamse R, et al. potentiation of tachykinin-induced plasma protein extravasation by calcitonin gene-related peptide. Eur J pharmacol 1985:114:61
10. 王正品，等。大鼠小肠肽能神经支配及其在肠型放射病中的改变。解剖学报 1989;20(Suppl):59

（收稿：1989.09.22；修回：1989.12.21）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Change of Calcitonin Gene-Related Peptide in Small Intestine of Rats in Acute Intestinal Radiation Sickness (AIRS)

Wu Kang and Cai Wenqin (Department of Histology & Embryology, Third Military Medical College)

By using immunocytochemistry (the whole mount stretch preparations and cryostat sections) and radioimmunoassay, the characteristics of distribution of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in small intestine of rats and its change in acute intestinal radiation sickness are studied. The results show that all layers of the small intestine are rich in CGRP-immunoreactive (CGRP-I) nerves with a high density in the myenteric, submucosal and mucosal plexuses. Also it has a rather high density around the small blood vessels of the small intestine and intestinal crypts. Same CGRP-I neurons are seen in the myenteric and submucosal plexuses. In AIRS the level of CGRP in small intestine has a double-phase change which is lower at the 24th h followed by a higher level at 48th h, 72th h after the exposure. The results indicate that CGRP may be related to the regulation of motility, secretion, absorption sensation and regional blood flow of the gastrointestinal tract. CGRP is probably released under the stress of AIRS and participates in the mechanism of injury of AIRS through multiple ways, in particular, the influence on the regional blood flow and the increase of permeability of blood vessels.

Key words: small intestine; calcitonin gene-related peptide; immunocytochemistry; radioimmunoassay

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net