

后,内皮细胞沿流体方向伸展。韩林等^[4]的研究发现,在稳态层流作用下,18~24 h 后,内皮细胞排列方向趋向于切应力作用的方向规则分布,并呈长梭形变化。本研究将 L-谷氨酸改良方法处理的牛心包片植入于右心房三尖瓣附近,以模拟异种生物瓣三尖瓣置换后所受血流切应力、层流、湍流、脉动、附着、分离等流动特性对内皮细胞生长特征的影响。结果显示,宿主内皮细胞分裂生长初期形态与静态培养的内皮细胞形态相似,呈类圆形的铺路石状。随着血流切应力的影响细胞逐渐由类圆形向长梭形变化。在内皮细胞生长区中部,细胞呈梭形、卵圆形、圆形混杂,该变化可能与细胞分裂生长的先后顺序以及受血流作用时间不同有关。植入的牛心包缝合端内皮细胞呈一致的长梭形,细胞排列方向趋向于切应力作用的方向规则分布,这是该部位移植的牛心包片宿主内皮化完成后内皮细胞形态和排列的特征。显然,右心房三尖瓣处血流的流体力学特性远较稳态层流状态复杂,异种生物瓣上宿主内皮细胞在经过 15 天的连续生长过程后,缝合端呈现为长梭形至梭形,显然已完成了该部位血流作用下的形变。而内皮细胞生长区中部细胞呈梭形、卵圆形、圆形混杂,表明仍有部分内皮细胞尚未完成形变,进

而可以推断这些细胞在该血流状态中已超过 24 h。因此,在心脏三尖瓣处血流状态作用下,宿主内皮细胞分裂生长的形态学改变的时相与体外在稳态层流下单一应力实验是不同的^[4,5]。有研究表明,血流环境因素导致的细胞形态和排列的改变是细胞骨架蛋白分子重组的表现,为细胞形态结构对循环机械应力的适应现象^[3,5]。本研究显示这种改变是从细胞分裂开始的连续过程,这种自身适应过程具有重要的生理意义。

参考文献:

- [1] 张中明,董红燕,刘金东,等·VEGF 基因转移促进异种生物瓣膜宿主内皮化的实验研究[J].中华医学杂志,2001,80(17):1074—1077.
- [2] Nerem RM, Alexander RW. The study of the influence of flow on vascular endothelial biology[J]. Am J Med Sci, 1998, 316(3):169—175.
- [3] Galbraith CG, Skalak R, Chien S. Shear stress induces spatial reorganization of the endothelial cell cytoskeleton[J]. Cell Motil Cytoskeleton, 1998, 40(4):317—330.
- [4] 韩林,张宝仁,柳兆荣,等·稳态层流下内皮细胞形态特征变化[J].第二军医大学学报,1999,20(10):801—803.
- [5] Davies PF. Flow — mediated endothelial mechanotransduction [J]. Physiol Rev, 1995, 75(2):519—525.

收稿日期:2003—03—25 修回日期:2003—06—24

本文编辑:程春开

不同种属动物胃窦粘膜中生长抑素免疫反应细胞的定量研究^{*}

韩正祥,王琳,张大红

(徐州医学院组织胚胎学教研室,江苏 徐州 221002)

摘要:目的 了解生长抑素免疫反应细胞(SS-IR 细胞)在不同种属动物胃窦粘膜中的形态分布。方法 用免疫组织化学方法结合图像分析技术研究家兔、大鼠和小鼠胃窦粘膜中 SS-IR 细胞的数目和细胞的灰度。结果 3 种动物胃窦粘膜中 SS-IR 细胞主要分布于幽门腺的中、下 1/3 处,在大鼠偶尔可见 SS-IR 细胞位于粘膜上皮中。SS-IR 细胞多散在分布于幽门腺细胞之间,偶见几个 SS-IR 细胞聚在一起。在家兔胃窦粘膜中 SS-IR 细胞多为圆形,较少见到有长的胞质突起。在大鼠、小鼠胃窦粘膜中 SS-IR 细胞大小不等,形态多样。多见细胞发出细长的胞质突起,伸向邻近细胞;偶见有的细胞顶部可达腺腔。大鼠胃窦粘膜 SS-IR 细胞的数目比家兔、小鼠胃窦粘膜多,细胞平均灰度值小($P < 0.01$)。结论 胃窦粘膜中 SS-IR 细胞的形态及数量在不同种属动物间存在差异。

关键词:生长抑素免疫反应细胞;胃窦粘膜;免疫组织化学;图像分析;家兔;大鼠;小鼠

中图分类号:R952.4;Q954.6—33 **文献标识码:**A **文章编号:**1000—2065(2003)04—0295—04

A quantitative study on the somatostatin immunoreactive cells in the antral gastric mucosa of different species of animal

HAN Zheng-xiang, WANG Lin, ZHANG Da-hong

^{*} 基金项目:徐州医学院课题资助项目(02YJ10)

作者简介:韩正祥(1974—),男,江苏沛县人,助教,在读硕士研究生。

(Department of Histology and Embryology, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

Abstract: **Objective** To explore the differences in morphology and distribution of somatostatin immunoreactive cells (SS-IR cells) in the antral gastric mucosa of different species of animal. **Methods** The number and grey level of the positive SS-IR cells were determined by using the immunohistochemical method combined with image analysis technique. **Results** The SS-IR cells were predominantly located in the middle lower zone of the pyloric gland in all species, occasionally found in the gastric mucosal epithelium in rat. Most of the SS-IR cells were scattered among the other glandular cells, and a few of them were aggregated. The shape of the SS-IR cells in the gastric antrum of rabbit were mainly round in shape, with few protrusions on the surface. In rats and mice, the SS-IR cells in the gastric antrum were diverse in number and shape, with long thin protrusions projecting into the adjacent tissue, and some of the cells were lining the glandular lumen. The number and grey level of the SS-IR cells in gastric antrum were higher in rats than in rabbits and mice ($P < 0.01$). **Conclusion** The results indicate that there are differences in morphology and number of SS-IR cells in the gastric antrum between different species of animal.

Key words: somatostatin—immunoreactive cells; antral gastric mucosa; immunohistochemistry; image analysis; rabbit; rat; mouse

生长抑素(somatostatin, SS)是一种从下丘脑分离的多肽,在体内分布广泛,它不仅存在于神经系统,还存在于胃肠道粘膜生长抑素免疫反应(immunoreactive, IR)细胞(D细胞)内^[1]。SS是胃肠道的一种重要调节肽,对多种生理功能具有抑制作用。研究表明SS及其类似物在各种正常组织以及多种肿瘤组织如胰腺癌、垂体瘤、胃肠道肿瘤等中均有抗增殖作用^[2]。关于胃窦粘膜SS-IR细胞的形态分布研究已有一些资料^[3,4]。但对家兔、大鼠和小鼠这3种最常用实验动物的定量分析比较资料目前报道较少。本研究应用免疫组织化学和图像分析定量技术,对3种最常用的实验动物胃窦粘膜中SS-IR细胞的形态和分布进行比较观察,旨在丰富胃肠比较细胞学的内容,也为胃肠激素的深入研究提供资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物、取材及标本制备 采用成年健康的家兔、SD大鼠和昆明种小鼠各5只,由徐州医学院实验动物中心提供。实验动物处死后,取胃窦组织, Bouin液固定20~24 h,标本常规脱水,透明,石蜡包埋,制成5 μm 厚的连续切片。每例观察切片3张以上,切片间隔45 μm 。

1.2 免疫组织化学染色方法 切片常规脱蜡至水。主要染色步骤为:甲醇-H₂O₂封室温20 min,正常羊血清室温20 min,兔SS抗血清(1:200,武汉博士德试剂公司产品)于4℃过夜,羊抗兔IgG 37℃ 20 min, SABC复合物37℃ 20 min, DAB-H₂O₂液显色,苏木精复染细胞核,树胶封片。对照用PBS代替特异性抗血清,其余步骤同上述。

1.3 图像分析和数据处理 每种动物每只取3张切片以上,每张切片在高倍镜(10×40)下随机选取5个视野,利用Leica Qwin图像分析系统,测量SS-IR细胞的数目、细胞平均灰度值,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用Stata软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 SS-IR细胞的形态学观察 胃窦粘膜SS-IR细胞的胞质内含棕黄色或棕黑色反应产物,细胞核为阴性。对照切片未见阳性细胞。3种动物胃窦粘膜中SS-IR细胞主要分布于幽门腺的中、下1/3处,特别是下1/3部位(图1),在大鼠偶尔可见SS-IR细胞位于粘膜上皮中。SS-IR细胞多散在分布于幽门腺细胞之间,偶见几个SS-IR细胞聚在一起(图2)。在家兔胃窦粘膜中SS-IR细胞多为圆形(图3),较少见到有长的胞质突起。在大鼠胃窦粘膜的SS-IR细胞大小不等,形态呈圆形、椭圆形、梭形或不规则形等(图4);多见SS-IR细胞发出细长的胞质突起,呈棒状,伸向邻近细胞(图5);有的细胞顶部可达腺腔。在小鼠胃窦粘膜的SS-IR细胞形态多样,多呈圆形、梭形,也有三角形或星形(图6),也多见SS-IR细胞发出细长的胞质突起伸向邻近细胞。

2.2 SS-IR细胞的定量分析 大鼠胃窦粘膜和家兔、小鼠胃窦粘膜SS-IR细胞的数目及细胞平均灰度值比较有显著性差异($P < 0.01$),而家兔和小鼠胃窦粘膜SS-IR细胞的数目和细胞平均灰度值之间无差异(表1)。

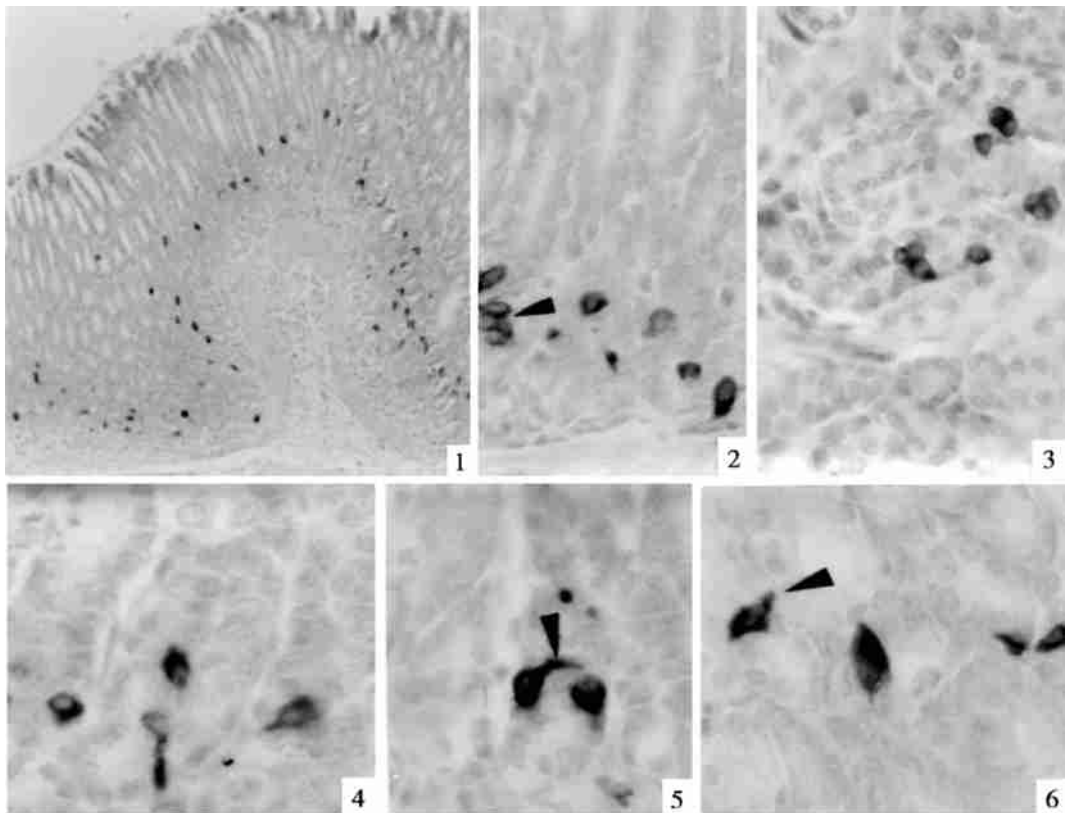


图1 SS-IR 细胞主要分布于大鼠幽门腺的中、下 1/3 处,特别是下 1/3 部位(免疫组化染色,×100)
图2 家兔幽门腺中几个 SS-IR 细胞聚在一起(免疫组化染色,×400)
图3 家兔胃窦粘膜中多为圆形的 SS-IR 细胞(免疫组化染色,×400)
图4 大鼠胃窦粘膜中 SS-IR 细胞形态多样(免疫组化染色,×400)
图5 大鼠胃窦粘膜中 SS-IR 细胞发出细长的胞质突起(免疫组化染色,×400)
图6 小鼠胃窦粘膜中星形的 SS-IR 细胞(免疫组化染色,×400)

表1 家兔、大鼠和小鼠胃窦粘膜 SS-IR 细胞的数目和细胞平均灰度值($\bar{x} \pm s$)

动物种类	SS-IR 细胞的数目	SS-IR 细胞的平均灰度值
大鼠	16.3±1.719	38.78±3.82
家兔	6.65±1.039 *	43.00±4.48 *
小鼠	6.10±1.440 *	42.04±3.08 *

与大鼠比较: * $P < 0.01$

3 讨论

3.1 SS 在胃肠道中的生理功能 SS 在种系发生上是一种比较古老的肽类物质,在无脊椎动物中就有 SS 分布,而且其分子形式多样,主要有 SS-14、SS-28 等。它既存在于脑组织,也存在于胃肠道,属于脑肠肽。SS 对胃肠道有普遍的抑制作用,如:①可以抑制几乎所有的胃肠激素(包括促胃液素、促胰液素、血管活性肠肽等)的释放,抑制胃液、胃蛋白酶、内因子、胆汁等的释放,抑制胃肠运动;②减少营养物质的吸收,减少肠系膜血流量,增加血管阻力。SS

对胃肠道还具有保护作用,降低某些化学物质对胃肠道的毒性反应,减少溃疡的发生。此外 SS 对胃肠道肿瘤有着重要的抑制作用,体外培养的肿瘤细胞及实验性肿瘤证明,生长抑素 SS 可以抑制肿瘤细胞的增殖。因此研究胃肠内分泌细胞的种类、分布对临床上胃肠道疾病的发生、诊断、治疗等大有裨益。

3.2 胃窦粘膜中 SS-IR 细胞的形态和分泌方式 胃肠道不仅是消化器官,也是迄今已知的最大、最复杂的内分泌器官。分泌生长抑素的 D 细胞广泛分布于胃肠道粘膜,以胃窦部最多^[5]。本研究用免疫组织化学方法,特异地显示 SS-IR 细胞在大鼠和小鼠胃窦粘膜中主要分布于幽门腺的中、下 1/3 处,细胞大小不等,形态多样,多见细胞发出细长的胞质突起,伸向邻近细胞,与 Larsson 等^[3]和王庆堂等^[4]报道相似。大鼠和小鼠胃窦粘膜中 SS-IR 细胞有长的胞质突起,为其具有旁分泌功能提供了形态学依据。我们观察到家兔胃窦粘膜中 SS-IR 细胞很少有长的胞质突起,这种形态的差别可能反映了不同种属动物之间 SS-IR 细胞的功能状态不同或存在

不同的细胞亚群。此外,我们还观察到胃窦粘膜中有几个SS-IR细胞聚在一起,推测SS不仅具有抑制其他细胞的功能,SS-IR细胞之间可能也存在相互作用。本文为进一步研究SS的生理功能及作用机制提供形态学依据。

3.3 胃窦粘膜中SS-IR细胞的定量分布 王瑞安等^[6]曾报道了胰腺中SS-IR细胞的形态分布及数量在不同哺乳动物之间存在着差别,但家兔、大鼠和小鼠等几种最常用实验动物胃窦粘膜中SS-IR细胞的定量分析资料目前报道较少。本实验应用图像分析技术对家兔、大鼠和小鼠胃窦粘膜中SS-IR细胞的数目和细胞的灰度值进行了比较研究,结果显示:胃窦粘膜中SS-IR细胞的数量和细胞平均灰度值在家兔和小鼠之间无差异,而大鼠胃窦粘膜SS-IR细胞的数目及细胞平均灰度值和家兔、小鼠胃窦粘膜比较则有显著差异;从灰度值来看,灰度值大者示细胞内SS数量少,反之则数量多。大鼠胃窦粘膜SS-IR细胞的数目及SS的含量均比家兔和小鼠多,这种量的差异说明了SS在不同种属动物胃窦粘

膜中的有一定的差异。提示SS在不同种属动物胃窦粘膜中的作用或许存在差异。

参考文献:

- [1] Polak JM, Bloom SR. Somatostatin localization in tissues[J]. Scand J Gastroenterol Suppl, 1986, 119: 11-21.
- [2] Evers BM, Pareek D, Townsend CM, et al. Somatostatin and analogues in the treatment of cancer: A review[J]. Ann Surg, 1991, 213(3): 190-198.
- [3] Larsson LI, Ternann NG, Magistris LD, et al. Somatostatin cell processes as pathways for paracrine secretion[J]. Science, 1979, 205(28): 1393-1395.
- [4] 王庆堂,肖道恒,蒋放,等.大鼠胃幽门D细胞内生长抑素的组织化学观察[J].解剖学杂志, 1987, 10(3): 190-193.
- [5] 周吕主编.胃肠生理学基础与临床[M].北京:科学出版社, 1998. 73-97.
- [6] 王瑞安,蔡文琴,苏慧慈.人、大鼠、豚鼠、猪、狗和牛胰腺生长抑素免疫反应细胞形态和分布的比较研究[J].解剖学报, 1995, 26(2): 176-179.

收稿日期:2003-04-28 修回日期:2003-06-19

本文编辑:程春开

不同分离方法对人胚胎脑海马区神经干细胞体外生长的影响^{*}

姚瑞芹,朱海兵,徐铁军,张凤真,徐夏红

(徐州医学院解剖学和神经生物学教研室,江苏 徐州 221002)

摘要:目的 比较不同分离方法对人胚胎脑海马区神经干细胞生长的影响。方法 取胎龄8~12周药物流产的人胚胎脑,分别用胰蛋白酶消化法和机械分离法分离海马区细胞,均以 10^6 个细胞/ml接种到含人表皮生长因子(h-EGF)、人碱性成纤维细胞生长因子(h-bFGF)和人白细胞抑制因子(h-LIF)的基础培养液中培养,以含1%胎牛血清(FBS)的DMEM/F12和多聚鸟氨酸诱导分化,免疫细胞化学鉴定。结果 胰蛋白酶消化组和机械分离组分分离到的活细胞分别占各自细胞总数的48.2%和61.7%($P<0.05$);7天后,两组均形成许多直径从几十到几百个微米不等的细胞球,但机械分离组的细胞球数目明显多于胰蛋白酶消化组。取细胞球诱导分化及免疫细胞化学染色鉴定,细胞分别呈RNA-结合蛋白、 β -III管蛋白、胶质原纤维酸性蛋白和半乳糖脑苷脂免疫细胞化学反应阳性。结论 人胚胎脑海马区有神经干细胞存在,离体培养时能分裂增殖,并能被诱导分化为神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。机械分离法可以获得更多的活细胞,原代培养易形成较多的细胞球。

关键词:神经干细胞;人;细胞培养;海马;胚胎

中图分类号:Q813.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-2065(2003)04-0298-05

The culture of neural stem cells from the hippocampus of human embryo and the influence of isolation methods on their growth

YAO Rui-qin, ZHU Hai-bing, XU Tie-jun, et al

(Department of Anatomy and Neurobiology, Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221002, China)

Abstract: Objective To cultivate the neural stem cells from the hippocampus of human embryo and to examine the influ-

^{*} 作者简介:姚瑞芹(1975-),女,河北泊头人,助教,硕士。