

贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织分布规律研究

刘霞¹, 郑邦英¹, 郭俊峰¹, 钱宁², 吴曙光², 王明镇², 王平³, 田维毅³

(1. 贵阳中医学院 组织学与胚胎学教研室, 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院 实验动物研究中心, 贵阳 550002; 3. 贵阳中医学院 微生物教研室, 贵阳 550002)

中图分类号: S828.8

文献标识码: A

文章编号: 1004-7034(2013)03-0001-03

关键词: 贵州小型猪; 胃肠黏膜; 淋巴组织

摘要: 为了观察贵州小型猪(*Sus Scrofa domestica* var. *mino Guizhounensis* Yu.) 胃肠黏膜淋巴组织的分布特点, 研究随机抽取封闭群健康成年贵州小型猪, 采集胃肠道组织, 常规 H. E. 染色, 观察和分析其淋巴组织的分布规律。结果表明: 成年贵州小型猪胃黏膜淋巴细胞主要分布于固有层; 小肠黏膜的淋巴细胞较胃黏膜极显著增加($P < 0.01$), 且从十二指肠到回肠呈上升趋势; 回肠固有层及黏膜下层可见集合淋巴小结; 大肠黏膜淋巴细胞由上至下呈减少趋势($P < 0.01$)。胃肠黏膜各段均可见上皮内淋巴细胞, 其中以小肠最多, 且从十二指肠到回肠呈下降趋势, 大肠次之, 胃黏膜最少。说明成年贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织分布规律与人及大鼠、小鼠等哺乳动物相似, 以小肠最丰富, 大肠其次, 胃黏膜最少; 小肠三段黏膜淋巴组织呈上升趋势, 回肠最丰富, 而大肠黏膜淋巴组织则呈下降趋势。

The research of lymphoid tissue distribution in gastrointestinal mucosa of Guizhou miniature pig

LIU - Xia¹, ZHENG Bang - ying¹, GUO Jun - feng¹, QIAN Ning², WU Shu - guang²,
WANG Ming - zhen², WANG Ping³, TIAN Wei - yi³

(1. Department of Histology and Embryology, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Research Center of Experiment Animal, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

3. Department of Pathogenic Microorganism, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

Key words: Guizhou miniature pig; gastrointestinal mucosa; lymphoid tissue

Abstract: To observe the distribution characteristics of the lymphoid tissue in gastrointestinal mucosa of Guizhou miniature pig (*Sus Scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu.), the healthy and adult Guizhou miniature pigs were randomly selected, and the tissues of the gastrointestinal tract were collected, and then hematoxylin - eosin staining was used to observe and analyze the lymphoid tissue distribution in gastrointestinal mucosa of Guizhou miniature pig. The result showed that the lymphocytes in gastrointestinal mucosa of Guizhou miniature pig were mainly located in lamina propria. The lymphocytes in small intestinal mucosa were highly significantly increased ($P < 0.01$) compared to that of in the gastric mucosa, showing upward trend from the duodenum to the ileum. There are many Peyer's patches observed in the lamina propria of ileum and submucosa. A decreasing trend was found from top to bottom in the lymphocytes of large intestinal mucosa ($P < 0.01$). The intraepithelial lymphocytes were found in all of the gastrointestinal mucosa, most of them were located in the small intestine, with a decreasing trend from the duodenum to the ileum. It was followed by the large intestine, at least in gastric mucosa. The results indicated that the lymphoid tissue distribution in gastrointestinal mucosa of Guizhou miniature pig was similar to that of in humans, mice, rats and other mammals. The highest density of lymphoid tissue was found in the small intestinal mucosa, the second in large intestinal mucosa and at least in the gastric mucosa. An upward trend was found in the lymphoid tissue of three sections of mucosa in the small intestine, and the highest density of lymphoid tissue was found in the ileum, with a decreasing trend in lymphoid tissue of large intestine.

消化管淋巴组织也称肠相关淋巴组织(gut - as-

sociated lymphoid tissue, GALT), 包括黏膜淋巴小结、弥散在固有层的淋巴细胞(lamina propria lymphocytes, LPLs)、上皮内淋巴细胞(intraepithelial lymphocytes, IELs)及肠系膜淋巴结。在保护胃肠黏膜免受病原微生物侵袭方面起着重要作用^[1]。研究显示, 黏膜集合淋巴小结(peyer patch, PP)内淋巴细胞经肠腔细菌抗原和非细菌抗原诱导激活、分化、成熟后, 移行到肠黏膜上皮和固有层等效应部位, 发育成为上皮

收稿日期: 2012-04-23

基金项目: 贵州省科技基础条件平台项目(黔科平台[2009]4008)

作者简介: 刘霞(1980-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为实验动物组织学, liuxia0851@126.com.

通信作者: 田维毅(1972-), 男, 教授, 硕士, 研究方向为实验动物微生物及免疫学, tianweiyi1972@sina.com.

内淋巴细胞、固有层淋巴细胞,发挥免疫效应^[2]。

小型猪在解剖学、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,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^[3]。贵州小型猪是贵阳中医学院培育的实验用小型猪,是我国主要的实验用小型猪品种之一,其实验动物化研究已有30余年历史,目前未见到关于贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织的研究报道。试验通过H. E.染色法,观察贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织,并对其分布及形态进行分析,为其用于消化道黏膜免疫相关疾病模型复制及医药科研工作提供形态学依据。

1 材料

1.1 动物

封闭群成年贵州小型猪(12~18月龄),由贵阳中医学院实验动物中心提供。

1.2 试剂和仪器

苏木精染料、伊红染料,市购。光学显微镜(型号为BX51T-PHD-J11),日本奥林巴斯公司生产;多功能真彩色细胞图像分析管理系统(型号为Image-Pro Plus),美国Media Cybernetics公司生产;切片机(型号为RM2015),德国莱卡公司生产。

2 方法

2.1 取材和切片的制备

随机抽取成年健康贵州小型猪6头,麻醉处死,立即取出从食管至直肠整个消化道,用生理盐水冲洗干净后分别取贲门、胃体、幽门、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠及直肠各段组织,每段长度约0.5 cm,4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,制成4 μm厚的切片,经H. E.染色显示胃肠黏膜组织结构。每个标本随机取切片1张,应用图像分析系统进行检测,在高倍镜下每张切片随机取5个视野,分别计数每个视野内的淋巴细胞。

2.2 统计学分析

试验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用SPSS17.0统计软件经Duncan's多重比较的方法进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 胃肠黏膜淋巴组织光镜观察结果

光镜下,胃黏膜的淋巴细胞数量较少,多弥散分布于固有层,细胞多呈圆形,细胞核染色深,仅见少量细胞质,偶见到孤立淋巴小结,贲门、胃体及幽门黏膜淋巴细胞的分布及数量无明显差别(见165页彩图1A、图1B)。小肠各段黏膜淋巴细胞较胃黏膜明显增多,且从十二指肠至回肠呈上升趋势,十二指肠和空肠黏膜固有层可见孤立淋巴小结,至回肠黏膜固有层及黏膜下层则形成PP(见165页彩图1C、图1D)。大肠黏膜内淋巴细胞数介于胃黏膜和小肠黏膜之间,

从盲肠至直肠呈下降趋势,固有层可见孤立淋巴小结(见165页彩图1E、图1F)。胃肠道各段均可见上皮内淋巴细胞,数量很少,大多数胞体呈不规则形,染色较上皮细胞深,小肠上皮内淋巴细胞数量较胃黏膜明显增加,但从十二指肠至回肠呈下降趋势,大肠IELs数量则介于胃黏膜与小肠黏膜之间(见165页彩图1A、图1F)。

3.2 胃肠黏膜淋巴细胞的计数

对贵州小型猪贲门、胃体、幽门、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠和直肠9个部位黏膜内淋巴细胞数进行比较,结果见表1。

表1 贵州小型猪胃肠道黏膜淋巴细胞数的多重比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 The multiple comparisons of the lymphocytes in gastrointestinal mucosa of *Sus Scrofa* domestic var. *mino guizhounensis* Yu. 个·视野⁻¹

部位	平均分布密度	部位	平均分布密度
贲门	24.67 ^{Aa} ± 4.13	回肠	145.37 ^{De} ± 15.61
胃体	26.13 ^{Aa} ± 3.63	盲肠	73.70 ^{Bc} ± 18.52
幽门	27.20 ^{Aa} ± 8.98	结肠	53.13 ^{Ef} ± 15.60
十二指肠	72.97 ^{Bc} ± 13.76	直肠	38.02 ^{Fg} ± 8.55
空肠	98.93 ^{Cd} ± 20.51		

注:数据肩标含相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$),大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

4 讨论

胃肠道的黏膜免疫系统参与构成机体免疫系统的第一道防线,其包含的淋巴组织超过其余所有淋巴器官的总和,在胃肠道免疫功能中起重要作用,它既能抵御致病因子入侵,又可形成对肠道非致病菌群的耐受^[4]。试验对贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织进行观察和分析,可为该动物用于胃肠道黏膜免疫相关研究提供参考依据。

试验结果表明,贵州小型猪胃黏膜淋巴组织较少,弥散的淋巴细胞主要分布于固有层结缔组织内,上皮细胞内较少,胃各部分(贲门、胃体、幽门)黏膜中淋巴细胞计数无明显差异($P > 0.05$)。这可能与胃酸及消化酶的杀菌作用有关,进入胃内的细菌大部分可被胃酸及消化酶灭活,故此处淋巴组织不如小肠和大肠丰富。贵州小型猪小肠黏膜的淋巴组织较胃黏膜极显著增多($P < 0.01$),且从十二指肠至回肠逐渐增加,回肠黏膜及黏膜下层可见大量PP。PP是肠相关淋巴组织的一个重要组成部分,在肠道免疫功能中发挥着重要作用,肠道黏膜免疫功能异常在许多消化道疾病的发病机制中占有重要地位^[5]。贵州小型猪PP的分布规律提示该动物胃肠道黏膜免疫屏障的

(下转第7页)

为 3.0 kb; EcoR I 酶切后普通鸡为 6.0 kb, 而矮小鸡不明显; 因此, 推测矮小鸡的 GHR 基因的胞内区或跨膜区存在片段长度至少为 1.0 kb 的缺失突变。S. K. Agarwal 等^[10]研究发现, 矮小鸡中 GHR 基因存在包括编码 27 个高度保守的氨基酸和部分 3' 非翻译区序列在内的长 1 773 bp 片段缺失。戴茹娟等^[11]报道, 用³²P 标记 GHR 基因的 2.5 kb 和 6.0 kb 序列片段, RFLP 技术分析正常型和矮小型鸡, 发现 6.0 kb 片段在矮小鸡中的表现为 4.1 kb, 差异发生在序列的 3' 端。K. L. Hull 等^[12]报道, 利用限制性片段长度多态性(RFLP)技术未发现矮小来航鸡的 GHR 基因存在片段缺失, 但其编码胞外区 1 个碱基突变(T→C)致使丝氨酸被色氨酸替换。各种不同突变所造成的影响可能发生在转录水平或翻译水平, 但共同点是导致 GHR 与 GH 结合活性丧失, 阻断细胞合成和释放 IGF-1 的信号转导通路, 从而抑制鸡孵化后的生长。

生长激素受体是调节机体生长发育的关键蛋白, GHR 基因突变能影响受体功能的发挥, 与矮小性状之间有着密切的相关性。试验采用 PCR-SSCP 技术分析德保矮马的 GHR 基因外显子 2~10 片段, 发现外显子 2 4 6 存在多态性, 为下一步研究 GHR 基因对矮马矮子体型的影响及其形成机制打下基础。

参考文献:

- [1] 蒋钦杨, 韦英明, 黄艳娜. 德保矮马生长激素基因的克隆与序列分析[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2009, 31(12): 35-38.
- [2] SHEVAH O, RUBINSTEIN M, LARON Z. Molecular defects of the growth hormone receptor gene, including a new mutation, in Laron syndrome patients in Israel: relationship between defects and ethnic groups[J]. Isr Med Assoc J, 2004, 6(10): 630-633.
- [3] SHEVAH O, KORNREICH L, GALATZER A, et al. The intellectual capacity of patients with Laron syndrome (LS) differs with various molecular defects of the growth hormone receptor gene. Correlation with CNS abnormalities[J]. Horm Metab Res, 2005, 37(12): 757-760.
- [4] SAVAGE M O, BLAIR J C, JORGE A J, et al. IGFs and IGFs in GH insensitivity[J]. Endocr Dev, 2005, 9: 100-106.
- [5] HUJEIRAT Y, HESS O, SHALEV S, et al. Growth hormone receptor sequence changes do not play a role in determining height in children with idiopathic short stature[J]. Horm Res, 2006, 65(4): 210-216.
- [6] KO J M, PARK J Y, YOO H W. Common exon 3 polymorphism of the GH receptor (GHR) gene and effect of GH therapy on growth in Korean children with idiopathic short stature (ISS) [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2009, 70(1): 82-87.
- [7] 于意, 王伟, 王莹, 等. 生长激素受体基因多态性与特发性矮小遗传易感性的关系[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2011, 31(7): 932-936.
- [8] 崔敬茹, 郑荣秀, 刘戈力, 等. 生长激素受体外显子 3 缺失多态性在矮小儿童与正常儿童中的分布比较[J]. 天津医药, 2011, 39(5): 387-390.
- [9] BURNSIDE J, LIOU S S, ZHONG C, et al. Abnormal growth hormone receptor gene expression in the sex-linked dwarf chicken [J]. Gen Comp Endocrinol, 1992, 88(1): 20-28.
- [10] AGARWAL S K, COGBURN L A, BURNSIDE J. Dysfunctional growth hormone receptor in a strain of sex-linked dwarf chicken: evidence for a mutation in the intracellular domain [J]. J Endocrinol, 1994, 142(3): 427-434.
- [11] 戴茹娟, 吴常信, 李宁. 性连锁矮小鸡生长激素受体基因位点多态性分析[J]. 畜牧兽医学报, 1996, 27(4): 315-318.
- [12] HULL K L, MARSH J A, HARVEY S. A missense mutation in the GHR gene of Cornell sex-linked dwarf chickens does not abolish serum GH binding[J]. J Endocrinol, 1999, 161(3): 495-501.

(009)

(上接第2页)

区域特点。贵州小型猪大肠黏膜的淋巴组织介于胃黏膜和小肠黏膜之间, 盲肠和结肠的淋巴组织又较直肠丰富, 多位于固有层。试验还观察到, 贵州小型猪胃肠黏膜各段均可见上皮内淋巴细胞, 分布于基膜上方、绒毛上皮细胞之间, 数量以小肠黏膜上皮内最多, 并从十二指肠至回肠呈下降趋势, 大肠黏膜上皮内淋巴细胞较少, 胃黏膜上皮内淋巴细胞则更少见。有研究表明, 上皮内淋巴细胞是庞大的 T 淋巴细胞群体, 此细胞对肠上皮部位有特殊的趋向性, 活化后具有强大的细胞毒活性, 在肠道免疫屏障中占有特殊地位^[6]。贵州小型猪上皮内淋巴细胞的细胞属性及其功能特点有待进一步研究。

姚光弼^[5]报道, 在人类和某些哺乳动物, 距小肠远端越近, PP 的分布就越多, 即十二指肠和空肠较少, 回肠最多。文献已证实, 人、小鼠及大鼠上皮内淋巴细胞, 从空肠、回肠到结肠, 细胞数逐渐减少。通过对贵州小型猪胃肠道 9 个部位黏膜淋巴组织进行观

察和分析, 发现贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织分布规律有其自身特点, 但总体上又与人及大鼠、小鼠等哺乳动物相似。本试验结果可为贵州小型猪用于消化道黏膜免疫相关疾病模型复制及医药科研工作提供科学依据。

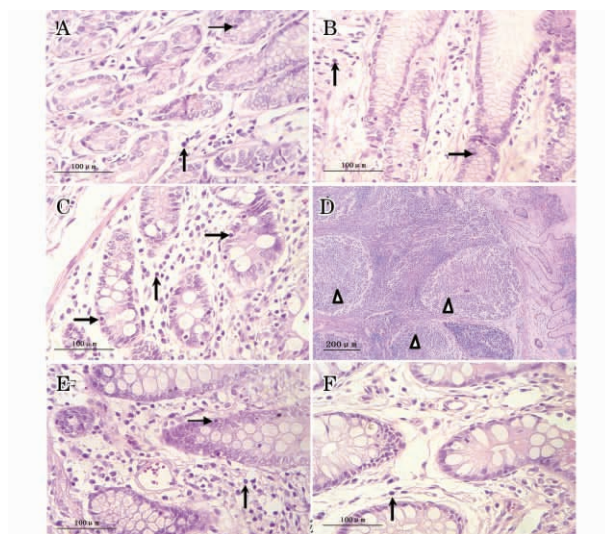
参考文献:

- [1] MOWAT A M, VINEY J L. The anatomical basis of intestinal immunity[J]. Immunol Rev, 1997, 156(1): 145-166.
- [2] TORRES M I, RIOS A. Current view of the immunopathogenesis in inflammatory bowel disease and its implications for therapy [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(13): 1972-1980.
- [3] 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.
- [4] 吴翰桂, 朱诚, 丁仁瑞. 肠道黏膜免疫研究进展[J]. 免疫学杂志, 2000, 16(3): 235-238.
- [5] 姚光弼. 小肠的免疫功能[J]. 中华消化杂志, 1997, 17(5): 289-291.
- [6] MÜLLER C A, AUTENRIETH I B, PESCHEL A. Innate defenses of the intestinal epithelial barrier[J]. Cell Mol Life Sci, 2005, 62(12): 1297-1370.

(009)

贵州小型猪胃肠黏膜淋巴组织分布规律的初步研究

(作者刘 霞等,正文见第 1~2,7 页)



A. 贲门; B. 幽门; C. 空肠; D. 回肠; E. 肠; F. 直肠。

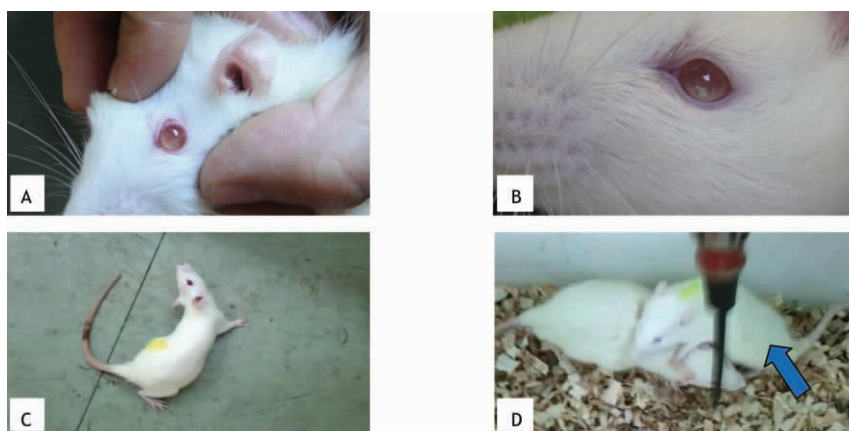
注: ↑示 LPLs; →示 IEL; △示 PP。

图 1 贵州小型猪胃肠黏膜淋巴细胞

Fig 1 Hematoxylin - eosin staining for the lymphocytes
in gastrointestinal mucosa of *Sus Scrofa*
domestica var. *mino guizhounensis* Yu.

穴位注射黄芪多糖注射液对 I 型糖尿病模型大鼠并发症防治作用

(作者刘 韬等,正文见第 11~13,16 页)



A、B. 出现糖尿病眼病,眼浑浊,视力大幅下降,对光不敏感;

C. 出现糖尿病脑病症状,头颈偏向左侧; D. 出现周围
神经症状,稍加触碰则剧烈闪躲,旁侧大鼠无此现象。

图 1 模型组糖尿病大鼠并发症

Fig 1 Complications of diabetes in rats from the
model control group