

· 论著 ·

Cajal 间质细胞与肠套叠关系的探讨

李良波 刘自光 黄茂伦 甄国志 谢 芬 王春强 冯立文

【摘要】 目的 探讨 Cajal 间质细胞在小儿肠套叠发生、发展中的作用。**方法** 应用 c-kit, NSE 免疫组化染色方法, 分别检测肠套叠患儿套叠头端和正常对照组肠管神经丛 Cajal 间质细胞的分布, 观察肠间质细胞的数量与分布情况。**结果** 肠套叠患儿套叠头端 Cajal 间质细胞的数量较正常对照组明显减少, 且分布疏密不一, 较紊乱, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 肠套叠患儿套叠头端 Cajal 间质细胞数目减少, 排列紊乱, 可能是引起肠套叠发生、发展的重要原因。

【关键词】 间质细胞/免疫学; 肠套叠; 研究

Interstitial cells of Cajal in intussusception. LI Liang-bo, LIU Zi-guang, HUANG Mao-lun, et al. Department of Pediatric Surgery, Shunde Health Hospital of Women and Children, Shunde, 528300, China

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between distribution of the ganglionic cells and interstitial cells of Cajal (ICCs) in the ileum of intussusception. **Methods** Twenty cases (Male 13, female 7) aging from 10 day to 16 months reported. The distribution of ICCs in between the muscle layer of bowel from normal controls and intussusception patients was studied by c-kit immunohistochemistry. Antihuman c-kit serum was used for visualization of c-kit positive (c-kit⁺) cells. **Results** In bowels from normal controls, moderate to large amount of c-kit⁺ ICCs were observed in between the muscle layers. On the contrary, the number of c-kit⁺ ICCs was remarkably reduced or even disappeared in between the muscle layers in intussusception. Statistics showed the significant difference of c-kit ICCs between showed the significant difference of c-kit ICCs between the segment of bowels in intussusception and that of normal controls ($P < 0.05$). **Conclusions** These results suggest that lack of c-kit ICCs may lead to the bowel spasm in intussusception

【Key words】 Stromal Cells/IM; Intussusception; Research

肠套叠是引起小儿肠梗阻的常见原因之一, 多见于 2 岁以下婴幼儿。肠套叠与肠动力改变的关系密切。Cajal 间质细胞 (interstitial cells of Cajal, ICC) 是胃肠运动的起搏细胞, 具有自发电活动和产生、传播慢波的功能, 对胃肠运动具有重要调节作用, c-kit 是胃肠道 ICC 的特异性标志物。制备抗 c-kit 抗体可选择性标识 Cajal 间质细胞。本研究通过检测肠套叠患儿肠管内 c-kit 的表达, 探讨肠套叠与 ICC 的关系, 阐明 Cajal 间质细胞在肠套叠发生中的作用。

材料和方法

一、组织标本来源

收集 20 例 (病例来源于佛山市顺德区妇幼保健院手术病例及作者既往工作单位广西省百色市右江民族医学院附院手术病例) 肠套叠手术患儿肠管标本, 年龄 10 d 至 16 个月, 其中男性 13 例, 女性 7 例。术中取套叠头端及距头端 3 cm 以上正常回肠组织, 经 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋备用。取套叠头端肠管标本为肠套叠组, 取距头端 3 cm 以上正常回肠组织标本为对照组。

二、主要试剂

实验试剂鼠抗人 c-kit 单克隆抗体和 NSE 抗体来源于北京中杉金桥生物技术有限公司。

三、试验方法

Cajal 间质细胞的检测采用免疫组化方法进行。每一肠管标本蜡块连续切片 3 张, 分别为 HE、NSE、c-kit 免疫组化 (1:50) 染色, NSE 和 c-kit 免疫组化染色在高倍镜下 ($\times 400$) 随机选取 10 个视野, 观察肌间神经丛 ICC 和 NSE 染色阳性神经丛神经节细胞的数量, 取平均数为该标本数量。

四、统计学处理

应用 SPSS11.0 软件进行统计学分析,数据以均数 + 标准差表示,采用成组设计的两样本均数比较 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

结 果

一、NSE 染色结果

肠套叠组神经节细胞、神经纤维主要分布于内环肌与外纵肌交界处,呈片状、散灶点状分布,神经节细胞数目少。对照组神经节细胞、神经纤维分布广泛而规则,在内环与外纵肌间纵行线索状均匀规律分布,神经节细胞数目较多。二者比较,肠套叠组神经节细胞数目明显减少 ($t = 3.33, P < 0.05$),差异有统计学意义(表 1)。

二、c-kit 免疫反应结果

神经丛 ICC 分布于内环肌与外纵肌的肌间神经丛,呈梭形、多角形,沿其纵轴有 2 个长的突起,胞浆丰富,为棕黄色。肠套叠组 Cajal 间质细胞分布较稀疏,其中 1 例新生儿肠套叠合并闭锁患儿几乎未见到 Cajal 间质细胞,而对照组分布均匀,数目较多,两组 Cajal 间质细胞数目比较,肠套叠组 Cajal 间质细胞数目明显减少,甚至消失 ($t = 3.33, P < 0.05$),差异有统计学意义(表 2)。

表 1 两组 NSE 染色阳性神经节细胞数目 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	细胞数
肠套叠组	20	7.63 \pm 3.25
对照组	20	17.00 \pm 5.10

注: $t = 4.21, P < 0.05$

表 2 两组 c-kit 阳性 Cajal 间质细胞数目 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	细胞数
肠套叠组	20	2.70 \pm 1.95
对照组	20	6.3 \pm 3.57

注: $t = 3.33, P < 0.05$

讨 论

肠套叠在我国发病率远较欧美国家为多,许多学者对小儿肠套叠作了一些新的研究,以期找出肠套叠的发生机理。临床上也观察到肠套叠与肠动力改变关系密切。对患儿肠套叠邻近肠段电生理测试发现,其移行性复合波(MMC)II 相消失^[1]。林中等用 LPS 可诱发 23.8% 的小鼠发生肠套叠,在 LPS 注

射后 6 h 和 9 h,胃肠传递时间显著减慢,15 h 后恢复至正常水平。同时观察到,LPS 注射后肠套叠的形成在 6 h 进入高峰,而 15 h 后骤降至零,提示肠动力紊乱和肠套叠的发生有一定关系^[2]。

Cajal 间质细胞是胃肠运动的起搏细胞,具有自发性电活动和产生、传播慢波的功能,对胃肠运动具有非常重要的调节作用。研究显示,ICC 的主要功能包括:①是胃肠道平滑肌的起搏细胞,能产生生理慢波,并促进电活动的扩布,从而控制胃肠道平滑肌的收缩和蠕动^[3-5];②是胃肠道非肾上腺能、非胆碱能抑制性神经传递介质;③参与免疫调节、生长、修复等。c-kit 成为胃肠道 ICC 的特异性标志物。制备抗 c-kit 抗体可选择性标识有关细胞,且 c-kit 抗体在消化道仅标记 ICC 和肥大细胞,从而具有较高的特异性。

近年来不少学者分别应用原位杂交和免疫组化方法研究了 c-kit 在小儿胃肠动力障碍性疾病,包括先天性巨结肠及其类缘性疾病、先天性肥厚性幽门狭窄等中的表达,发现患儿病变肠管均有 ICC 减少或缺失、密度下降等,表明 ICC 在小儿胃肠动力障碍性疾病的发病机制中起重要作用,但未见 ICC 在肠套叠中变化的报道^[6-7]。本实验结果显示肠套叠肠管 Cajal 间质细胞较对照组明显减少,且分布紊乱。Cajal 间质细胞是肠道运动的起搏细胞,具有自发性电活动和产生、传播慢波的功能,Cajal 间质细胞激发的自发性慢波通过电性偶联在肌层按三维方向扩布,从而使肠壁产生协同性收缩,引起肠道蠕动。Cajal 间质细胞可产生内源性一氧化氮(CO),CO 在 Cajal 间质细胞和肠道平滑肌细胞之间起着信号分子的作用。Cajal 间质细胞减少可引起抑制性递质 CO 的减少,从而导致肠道舒张功能障碍^[8]。本实验结果表明肠套叠肠管 Cajal 间质细胞减少,分布紊乱导致肠道舒张功能障碍,可能是诱发肠套叠的原因。

作者同时也观察到肠套叠组肠管神经节细胞、神经纤维异常,神经丛呈片状、散灶点状分布,且神经节细胞数目减少。通常结直肠神经节细胞消失或减少可引起结直肠处于痉挛状态,是先天性巨结肠及其同源病发病的原因。本实验中肠套叠组肠管神经节细胞、神经纤维异常,是否说明肠管神经节细胞减少是肠套叠发生的原因也值得进一步探讨。

参 考 文 献