

[文章编号] 1000-2200(2007)06-0682-02

。临床医学。

## Cajal间质细胞在先天性巨结肠发病中的作用

王亮, 王忠荣, 李龙, 孙华

[摘要]目的: 观察 Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICCs)在先天性巨结肠患儿狭窄段和扩张段的分布情况, 探讨 ICCs在巨结肠发病中的作用。方法: 应用免疫组化 PV法, 检测 32例先天性巨结肠患儿和 10例对照组肠标本 ICCs光镜下观察不同肠段肌间神经丛及环肌层内 ICCs分布情况。结果: 在对照组及巨结肠扩张段, ICCs大量分布在肌间神经丛周围及环肌层内, 并形成网络结构。在狭窄段, 肠壁各层 ICCs细胞密度明显减少甚至消失, 正常所见的网络结构遭到破坏。结论: Cajal间质细胞分布异常是先天性巨结肠病理改变之一, 可能是该病重要的发病机制, 参与肠运动障碍的发生。

[关键词] 巨结肠; Cajal间质细胞; 免疫组织化学

[中国图书资料分类法分类号] R 574.62 [文献标识码] A

## Role of interstitial cells of Cajal in Hirschsprung disease

WANG Liang, WANG Zhongrong, LI Long, SUN Hua

(Department of Pediatric Surgery, Affiliated Anhui Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, China)

[Abstract] Objective: To observe the distribution of interstitial cells of Cajal (ICCs) in Hirschsprung disease (HD), and investigate the role of ICCs in HD. Methods: The distribution of ICCs was examined in 32 patients with HD and 10 normal controls by PV immunohistochemistry. Results: In bowels from normal controls and ganglionic segment from HD, the moderate to large amount of ICCs were observed around the myenteric plexus and at the circular muscle layer. ICCs in these domain appeared as a network structure. On the contrary, the number of ICCs was significantly decreased or even disappeared in between the muscle layers of the ganglionic segment in HD. Conclusion: Abnormal distribution of ICCs in the bowel affected by HD may explain the bowel dysmotility seen in these patients.

[Key words] Hirschsprung disease; interstitial cells of Cajal; immunohistochemistry

先天性巨结肠(Hirschsprung disease, HD)又称肠管无神经节细胞症, 是以结肠远端或直肠缺失神经节细胞为特征的肠道发育畸形, 其发病机制仍不十分清楚。近几年对胃肠道 Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICCs)的研究表明, 该细胞是胃肠道电活动的起搏点, 在肠神经系统与肠道平滑肌之间担负着“桥梁”和“纽带”作用。作为消化道一种特殊的间质细胞, 其在胃肠道动力障碍性疾病中的作用已越来越受到人们的重视。本研究应用免疫组化方法对 HD患儿及对照组儿童结、直肠壁内 ICCs进行标记, 以探讨 ICCs在 HD发病中的作用。

## 1 材料与方法

1.1 标本 从我院 2000~2003年先天性巨结肠患儿的手术标本中挑选 32例。均为散发病例, 男 25例, 女 7例; 年龄 3天~6岁。长段型 8例, 短段型 7例, 常见型 17例。诊断依据病史、体征、钡灌

肠、直肠肛管测压检查及直肠黏膜活检等综合结果。排除临床上因机械型肠梗阻、中毒性麻痹性肠梗阻等所致的继发性巨结肠患者。每例取扩张段及痉挛段标本的存档蜡块各一块。对照组 10例, 为外伤、肠息肉等非巨结肠疾病手术的结直肠标本。

1.2 主要试剂 兔抗人 c-kit多克隆抗体标记 ICCs使用二步法免疫组化检测试剂盒(PV-9000 polymer detection system for immunohistochemical staining)。上述试剂均为北京中杉公司产品。

1.3 实验方法 每例蜡块作连续切片 3张, 片厚 4 $\mu$ m, 依次编号为 1、2、3, 分别作苏木精伊红(HE)染色、c-kit(CD117)免疫组化染色、甲苯胺蓝特染。HE染色及甲苯胺蓝特染均按常规方法进行。免疫组化染色步骤按照试剂说明书进行。

1.4 结果判定 采用盲法在光镜下对染色结果进行判断, 以胞质出现棕褐色颗粒为 c-kit(+)细胞。10 $\times$ 40倍光镜下, 分别在正常对照组、HD有神经节细胞肠段(扩张段)和无神经节细胞段(狭窄段)肠壁的肌间神经丛及环肌层随机选取 10个视野, 观察各部位 ICC细胞分布情况。

## 2 结果

正常结、直肠标本中可见 c-kit(+)细胞从形态

[收稿日期] 2006-07-06

[作者单位] 安徽医科大学附属省立医院 小儿外科, 安徽 合肥 230001

[作者简介] 王亮(1980-), 男, 硕士。

[通讯作者] 王忠荣(1949-), 男, 教授, 硕士生导师。

上可分为两大类。一类呈圆形,胞体较大,大量分布在黏膜层、黏膜下层,在肌层和浆膜下极少。应用甲苯胺蓝染色,这些细胞被染成红紫色,证明其为肥大细胞。第二类胞体小,呈纺锤状或星形,与肌束平行走行,有 2个或 2个以上的细长突起,细胞核大,呈梭形或卵圆形,核周胞质少。应用甲苯胺蓝染色后不出现异染性,证明其为肠间质细胞。

ICC大量分布在肌间神经丛周边部,彼此靠突起相互连接,形成网络状结构(见图 1)。在神经丛内部神经纤维及神经节之间偶尔可见散在的 ICCs。神经丛内的神经节细胞、Schwann细胞呈 c-kit阴性表达。在环肌层,ICC中等量分布在环肌层,位于肌间隔内,与平滑肌细胞紧贴,并与其平行走行。纵肌层内也可见少量 c-kit免疫反应阳性细胞。

在先天性巨结肠有神经节细胞段,结肠壁内 ICC细胞的分布与正常结肠无明显差别(见图 2)。在无神经节细胞段,肠壁浆肌层内 ICC细胞密度明显减少甚至消失,残存的 ICCs多分布于肌间丛附近,但细胞密度与有神经节细胞段相比大为减少,且彼此间距离较远,连接不明显,正常所见的网络结构遭到破坏(见图 3)。

### 3 讨论

先天性巨结肠是一种小儿常见的先天性消化道畸形,对其发病机制研究较多。目前认为,病变肠段肌间和黏膜下神经丛内神经节细胞缺如,即固有神经系统遭到破坏,以及肠壁内一氧化氮、血管活性肠肽等神经递质的缺乏,导致病变肠段舒张功能障碍而出现持续性痉挛,近端肠管继发性扩张。但神经节细胞缺如、神经递质缺乏只能解释巨结肠发病机制的某个方面,临床上有研究发现 HD 患儿的临床症状与无神经节细胞段的长度之间并非直接相关,同一类型甚至病变范围相同的 HD 患儿,有不同轻重程度的临床表现<sup>[1]</sup>。这些提示在 HD 肠运动障碍的发生机制上可能还有其它因素在起作用。

在人类胃肠道 ICC有着广泛的分布,近年来的形态学和电生理研究认为,ICC有三大主要功能<sup>[2]</sup>:

(1)作为胃肠道运动的起搏细胞,产生慢波;(2)作为肠神经系统控制胃肠平滑肌细胞运动的中介;(3)促进电活动扩布。胃肠平滑肌电活动的特点是膜电位节律性震荡,收缩活动是在慢波活动的基础上增添了收缩,慢波活动对平滑肌细胞的收缩功能起制约限制作用,因此就控制了蠕动活动。ICC的超微结构研究发现,ICCs互相之间,ICCs与平滑肌之间,ICCs与神经细胞之间形成网络和很多缝隙连接。这种结构特点适应 ICCs作为神经系统控制胃

肠道平滑肌运动的起搏和中介功能。已经发现,先天性肥厚性幽门狭窄<sup>[3]</sup>、慢性传输型便秘<sup>[4]</sup>、糖尿病胃轻瘫<sup>[5]</sup>等多种疾病均存在 ICCs分布异常。

ICC表达原癌基因 c-kit 它的产物为一种酪氨酸激酶生长因子受体。c-kit 是 ICC发育和功能表达所必需的因子,c-kit 基因的自发性突变可引起肠壁内围绕神经节起搏区内的 ICCs显著减少,从而引起肠肌层自发性慢波活动的消失,肠蠕动失调而出现慢性肠梗阻。

本研究应用兔抗人 c-kit 抗体对 ICCs进行观察发现,ICC在 HD 无神经节细胞肠壁内数目明显减少,肌间神经节周围 ICC形成的网络结构遭到严重破坏,肌层内 ICC减少更显著甚至消失。这种 ICCs分布的异常,使肠壁内 ICCs之间以及 ICCs与肠壁的平滑肌细胞、神经细胞之间电性耦联的完整性消失,细胞间信号通道受损,阻止动作电位传递,从而致肠壁内许多平滑肌细胞脱离这种调节机制;或者即使残存的 ICCs仍具有其正常的生理功能,但它激发的起搏活动功能减弱、消失或蠕动无能。Kubota 等<sup>[6]</sup>应用跨膜微电极对 HD 游离体肠段电活动的记录结果显示无神经节细胞段肠壁自发性慢波活动缺乏。应用直肠电图对 HD 患儿在体肠壁电活动测定的结果也进一步确认了肠壁节律性电活动的消失。

综上所述,我们认为,与神经节细胞缺如相似,肠壁内 ICC减少也是 HD 的病理改变之一,它与肠壁神经、肠壁肌肉病变同时存在,在 HD 肠动力障碍的产生中起重要作用。所以在病理检查中对肠神经、肌肉、ICC同时进行研究,则更有利于理解 HD 肠动力障碍的病理生理机制。但 ICC的缺陷是 HD 的伴发病变或继发病变,c-kit 基因突变与 HD 的关系尚有待进一步研究。

(本文图 1~3 见封四)

### [参 考 文 献]

- [1] 王怡平,余亚雄,张忠德.先天性巨结肠症状与病变肠段关系分析[J].中华小儿外科杂志,1994,15(5):279-281
- [2] Kito Y, Suzuki H. Electrophysiological Properties of gastric Pacemaker Potentials [J]. J Smooth Muscle Res 2003, 39(5): 163-173.
- [3] Yanataka A, Fujiwara T, Kato Y, et al. Lack of intestinal Pacemaker (CKIT-Positive) cells in infantile hypertrophic pyloric stenosis [J]. J Pediatr Surg 1996 31(1): 96-99
- [4] Shafik A, Shafik AA, El-Sibai Q, et al. Electric activity of the colon in subjects with constipation due to total colonic inertia: An electrophysiological study [J]. Arch Surg 2003 138(9): 1007-1011
- [5] 张亚平,张宽学,罗金燕,等.糖尿病大鼠肠道 Cajal 间质细胞结构变化的研究[J].中华内科杂志,2002,41(5):310-312
- [6] Kubota M, Ito Y, Ikeda K. Membrane Properties and innervation of smooth muscle cells in Hirschsprung's disease [J]. Am J Physiol 1983, 244(4): 406-415.

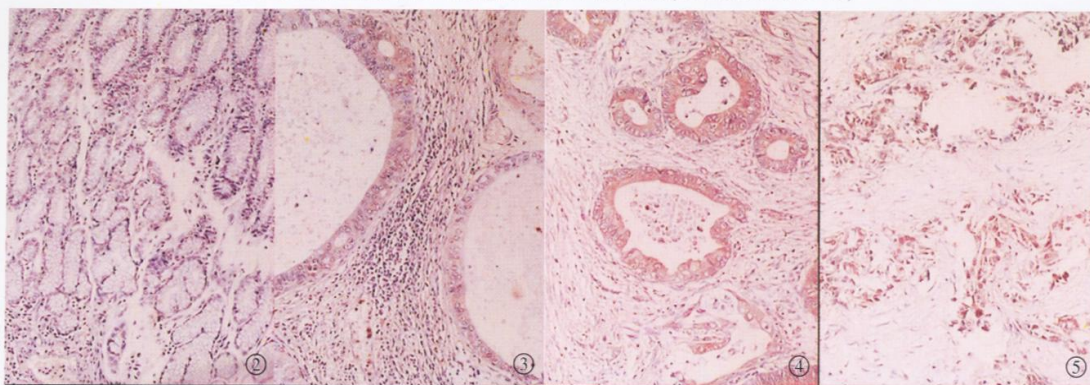


图 2 正常胃组织survivin 蛋白表达(-)(×100,IHC) 图 3 胃腺癌(高分化) survivin 蛋白表达(+)(×100,IHC)  
图 4 胃腺癌(中分化)survivin 蛋白表达(++) (×100,IHC) 图 5 胃腺癌(差分化)survivin 蛋白表达(+++) (×100,IHC)

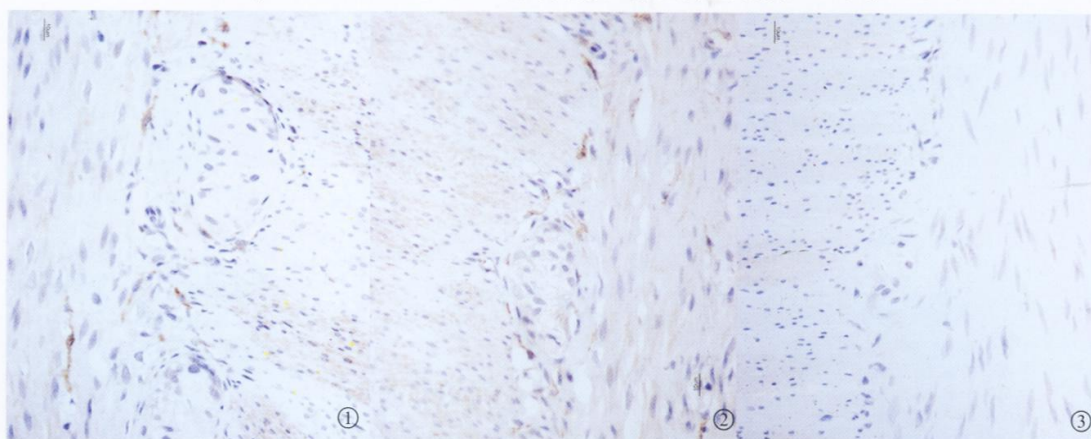


图 1 正常结肠肌间层存在大量 Cajal 间质细胞(ICCs),分布在神经丛周边部,与平滑肌细胞紧密相连(免疫组化 PV 法 ×400) 图 2 先天性巨结肠(HD)有神经节细胞段 ICCs 的分布(免疫组化 PV 法 ×400) 图 3 HD 无神经节段的 ICCs 减少或消失(免疫组化 PV 法 ×400)

## 蚌埠医学院学报

双月刊(1976年3月创刊)  
2007年第32卷第6期(总第150期)  
2007年11月15日出版

## Journal of Bengbu Medical College

Bimonthly(Founded in March 1976)  
2007,Vol.32,No.6(Sum 150)  
November 15,2007

主管单位:安徽省教育厅  
主办单位:蚌埠医学院  
主 编:祝 延  
编辑出版:蚌埠医学院学报编辑部  
(安徽省蚌埠市东海大道 2600 号 233030)  
电话:(0552)3175456  
电子信箱:bang@chinajournal.net.cn  
印 刷:蚌埠市光大彩色制印有限公司  
国内订阅:全国各地邮政局  
国内总发行:蚌埠市邮政局  
国外总发行:中国国际图书贸易总公司  
(北京 399 信箱)

**Responsible Institution** The Education Department of Anhui Province  
**Sponsored by** Bengbu Medical College  
**Editor in Chief** ZHU Yan  
**Edited and Published by** The Editorial Board of Journal of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030,China  
Tel:(0552)3175456  
**E-mail** bang@chinajournal.net.cn  
**Printed by** Bengbu Guangda Color Printing Co.Ltd  
**Domestic Subscription** Local Post Offices  
**Domestic Distribution** Bengbu Post Office  
**Foreign Distribution** China International Book Trading Corporation  
(P.O.Box 399,Beijing,China)