

肠腺无细胞滤液对受照射小鼠 肠腺再生的影响

曾桂英 韩士臣 刘健 刘爱平 周元恺

(第四军医大学, 西安)

摘要 用刮取法制备小鼠肠腺细胞悬液, 分别经冻融和超声处理, 并抽滤, 获得肠腺无细胞滤液。BALB/c小鼠经15 Gy γ 线全身照射后, 注入肠腺无细胞滤液或肠腺细胞悬液。72 h后照射对照空肠段除有极少数残存肠腺外, 已无肠腺再生; 而照射注入组注入肠段有较多的新肠腺形成, 肠腺内细胞生长良好, 并可见未分化细胞。在9.4 Gy γ 线腹部照射实验中观察到, 照射并注入无细胞滤液后14 d时, 新肠腺仍持续存在。本实验结果提示, 在肠腺无细胞滤液中, 存在着某种肠腺修复因子, 它能促进受照射小鼠肠腺的修复再生。

关键词 肠腺, 照射, 无细胞滤液, 再生

为探讨电离辐射对小肠上皮的损伤与修复规律, 周元恺等^[1]已证实小鼠肠腺细胞悬液能促进受照射小鼠新肠腺的形成, 并对新肠腺形成的机理提出两种推测: (1) 由于进入肠腺腔内的幼稚细胞(包括小肠干细胞)增殖; (2) 肠腺细胞悬液内非细胞体液因子的作用。本文将肠腺细胞悬液经冻融或超声破碎, 并经细菌漏斗抽滤, 观察肠腺无细胞滤液对受照射小鼠肠腺修复再生的影响, 并与用肠腺细胞悬液注入的实验结果相比较。

材料与 方法

(1) 实验动物 采用12—15周龄的BALB/c小鼠, 性别不拘。

(2) 照射条件 ^{60}Co γ 线, 剂量率为1.08—1.88 Gy/min。腹部照射时, 躯体其余部分用5 cm厚的铅块屏蔽。

(3) 肠腺细胞悬液的制备 用刮取法^[1]制备正常小鼠新鲜肠腺细胞悬液。细胞数为 $(2.6 \pm 0.2) \times 10^6$ 个/ml。

(4) 肠腺无细胞滤液的制备 将肠腺细胞悬液分别经冻融和超声处理。

① 冻融处理 将小鼠新鲜肠腺细胞悬液放入 -22°C 冰柜内冻结11 h左右, 取出于 35°C 水中融化, 反复冻融6次。

② 超声破碎处理 用MSE 150型超声磨碎机将小鼠新鲜肠腺细胞悬液进行超声处理。超声时间为2 min/次, 每批样品超声3次。

经冻融和超声处理的肠腺细胞悬液分别用G₀细菌漏斗抽滤, 获得无色透明的冻融肠腺无细胞滤液(简称滤液1)和超声处理肠腺无细胞滤液(简称滤液2)。两滤液经镜检均无细胞结构存在。

(5) 肠腺无细胞滤液与肠腺细胞悬液的注入 采用空肠肠腔内注入法^[1]。

(6) 光镜和电镜标本的制备 取照射注入组注入段空肠和照射对照组的相应肠段, 分别用

Bouin 液或 4 % 戊二醛和 1 % 锇酸固定, 按常规方法制作光镜和电镜标本。

(7) 肠腺存活率测定 采用单位面积法^[2]测定小鼠空肠肠腺存活率。

结果与讨论

1. 15 Gy γ 线全身照射

小鼠于照后 72 h 活杀, 取材、分别进行大体、光镜和电镜观察。小鼠 142 只分 9 批进行实验。

(1) 大体观察 照射对照小鼠空肠段肠壁变薄、苍白、严重水肿, 肠腔内充满胆汁, 弹性差。两滤液和肠腺细胞悬液注入组注入段肠壁较厚、色泽红润, 肠腔内由食物充填, 富有弹性。

(2) 光镜观察 照射对照空肠段肠腺结构几乎完全破坏, 仅见个别残存肠腺, 肠腺内细胞数很少; 未见再生肠腺(图 1 b); 绒毛明显缩短, 上皮细胞脱落。而两滤液和肠腺细胞悬液注入组小鼠注入肠段有较多的新肠腺生成, 肠腺内细胞数较多、体积较大、为柱状或矮柱状、核大(图 1 a), 还见细胞分裂相; 绒毛细胞形态和结构正常。

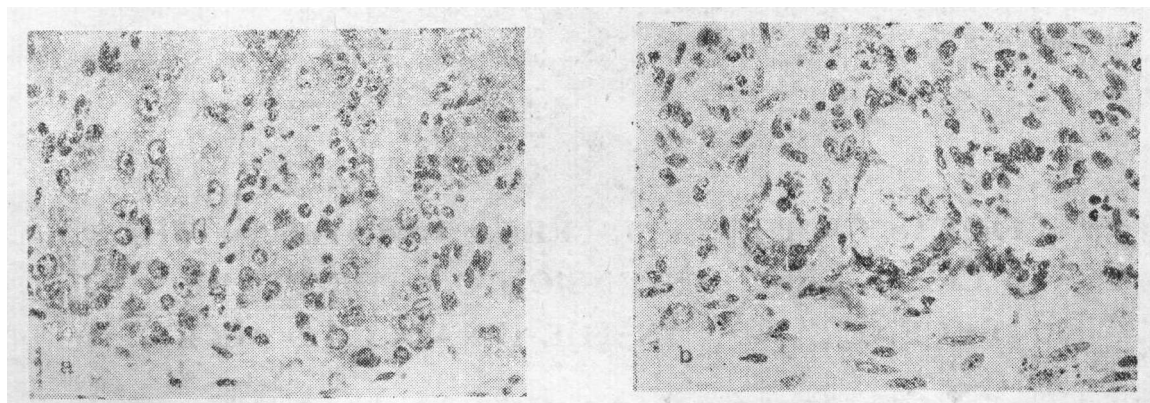


Fig 1 Light micrograph of the jejunum in mice 72 hours after 15 Gy γ ray whole-body irradiation (H. E. stain, $\times 462$)
(a) Filtrate administration (b) Irradiated control

(3) 电镜观察 对照空肠段绝大部分肠腺细胞已坏死脱落, 只剩下基底膜。残存肠腺内仅有的少数细胞为潘氏细胞和变扁的柱状细胞, 细胞胞浆稀薄, 有空泡样变, 内质网扩张, 核糖体脱落, 核膜增厚, 微绒毛全部脱落; 绒毛细胞有变性、坏死。而两滤液和肠腺细胞悬液注入组肠腺内可见沿基底膜排列的柱状细胞、杯状细胞、嗜银细胞和潘氏细胞; 细胞胞浆饱满, 内含丰富的粗面内质网、发育良好的线粒体和高尔基氏复合体; 胞核较大, 核仁清晰, 同时还见少数体积较大、核大、核质弥散、胞浆内富含游离核糖体, 而粗面内质网和线粒体稀少的未分化细胞。这类细胞与文献[3]上描述的小肠干细胞相似。绒毛细胞未见异常。

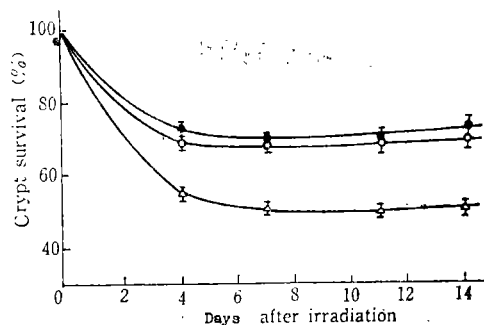


Fig 2 Crypt survival of jejunum in mice after 9.4 Gy γ ray abdominal irradiation (5 to 10 mice per point)
(Δ) irradiated control;
($\circ$) filtrate 1 administration;
($\bullet$) filtrate 2 administration.

2. 9.4 Gy γ 线腹部照射

两滤液注入组和照射对照组小鼠分别于照后第4、7、11和14d活杀,取注入段空肠和对照组的相应肠段进行肠腺存活率测定。照后4至14d内,照射对照空肠段肠腺存活率在49.6%—54.6%之间。滤液1和滤液2注入组注入肠段肠腺存活率分别为68.6—69.7%和69.2—73.4%(图2)。统计结果表明:照射对照组和两滤液注入组肠腺存活率间相差非常显著($p < 0.01$),两滤液注入组间无相差显著性($p > 0.05$)。

上述光镜和电镜观察及肠腺存活率的测定结果都表明,肠腺无细胞滤液和肠腺细胞悬液都具有促进受照射小鼠肠腺再生的作用。从而证明,在用刮取法制备的正常小鼠肠腺无细胞滤液中,存在着某种(或某些)能促进受照射小鼠肠腺修复再生的因子,暂称它为肠腺修复因子。对肠腺修复因子的分离和鉴定正在进一步研究中。

李向党,杨传红同志参加电镜标本的制作,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 周元恺,韩士臣,曾桂英,刘健,军事医学科学院院刊,11(2),88(1987)。
- [2] 周元恺,沈世仁,生物化学与生物物理进展,(2),70(1979)。
- [3] C. P. Leblond, Am. J. Anat., 160(2), 113(1981)。

(稿件收到日期:1989年9月23日)

EFFECTS OF THE CELL-FREE FILTRATES OF THE CRYPT CELL SUSPENSION ON THE CRYPT REGENERATION IN THE IRRADIATED MICE

Zeng Guiying, Han Shichen, Liu Jian,

Liu Aiping and Zhou Yuankai

(Department of Radiation Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an)

ABSTRACT Two cell-free filtrates were obtained by filtering the fresh crypt cell suspensions which were pretreated with freeze-thawing and ultrasonic disintegration respectively through the G_6 funnel. 0.4 ml of each filtrate or the fresh crypt cell suspension was administered separately into the lumen of a 3 cm jejunal segment in BALB/c mouse 1-3 hours following 15 Gy γ -ray total-body irradiation. Seventy-two hours later, no regenerating crypt could be found and the villi become remarkably shorter in the irradiated control, while in the jejunal segments receiving both filtrates or the fresh crypt cell suspensions, numerous newly-formed crypts were visible with the villi apparently normal; meanwhile, the columnar, goblet, argentaffin, Paneth cells as well as undifferentiated cells could be identified in the crypt region under electron microscope. The new crypts were found to exist persistently in 14 days' experimental period after 9.4 Gy γ -ray abdominal irradiation and filtrates administration. The above findings suggest the presence of a crypt repair factor in cell-free filtrates prepared from the intestinal crypt cell suspension of normal mice.

KEY WORDS Intestinal crypt, Irradiation, Regeneration, Cell-free filtrate