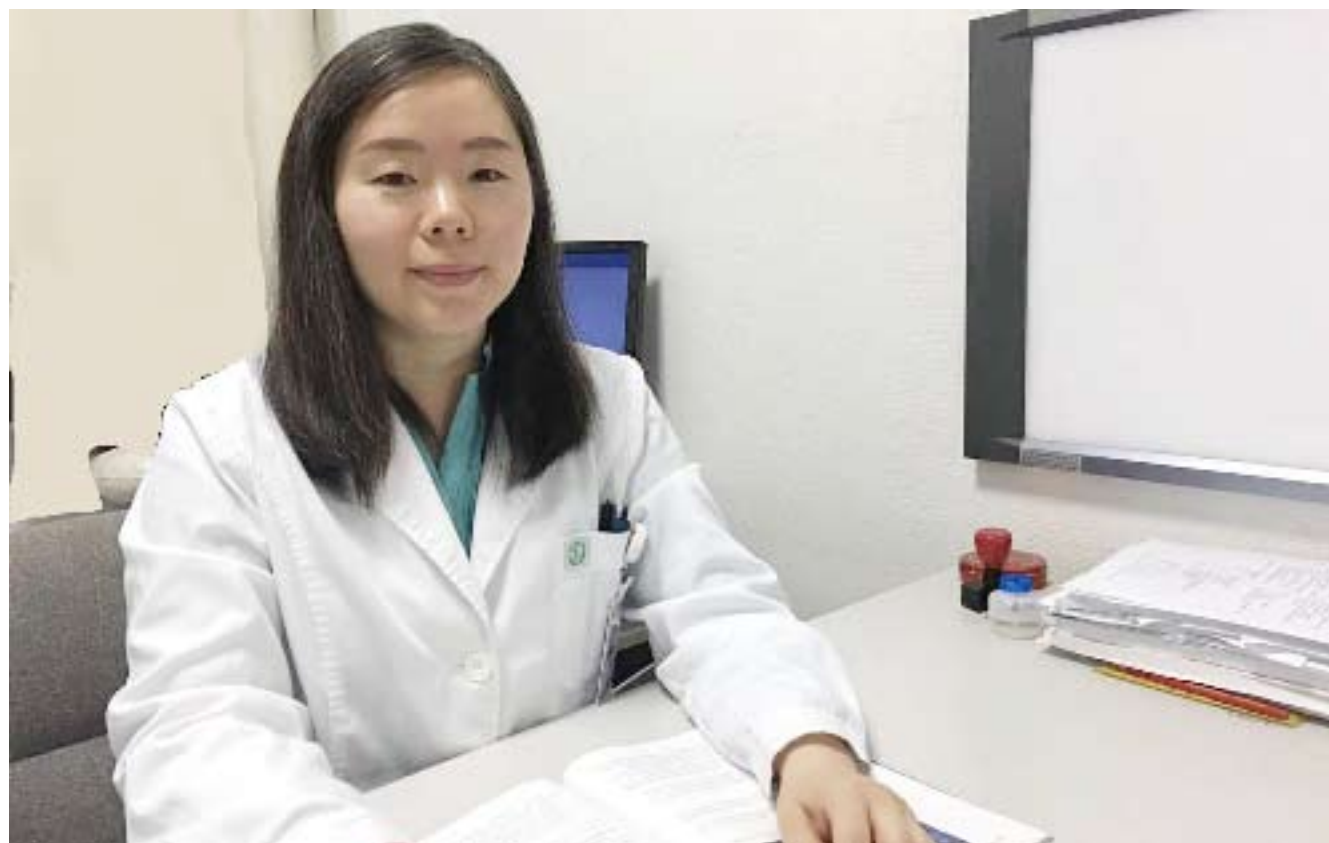


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 4 月 28 日 第 27 卷 第 8 期 (Volume 27 Number 8)



8/2019

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



基础研究

- 477 姜黄素调节miR-133a表达对肝癌细胞迁移和侵袭的影响
袁洪波, 孟佩盈, 戚柳杰
- 485 不同浓度¹³¹I-ELP近距离放射治疗兔VX2肝癌模型的实验研究
李茜, 刘欣培, 王多伟, 申一鸣, 贾强, 刘文天
- 494 miR-181a-5p调控LIF的表达调节胰腺腺泡细胞凋亡的分子机制
龚倩倩, 陈铁江

临床研究

- 503 超声造影在射频消融治疗常规超声不显示原发性肝细胞癌中的临床应用价值
周华玲, 唐潮浪
- 509 根据*H. pylori*培养药敏治疗*H. pylori*感染无效患者危险因素分析
朱德斌, 吴金明

文献综述

- 515 细胞外囊泡在肝纤维化诊治中的研究进展
赵佳伟, 王玉刚, 施敏
- 521 肠神经胶质细胞形态学研究方法进展
许英, 谢明征

会议纪要

- 527 2019年第28届亚太肝病研究学会年会纪要
朱传武

临床实践

- 530 动态三维超声造影评估原发性肝细胞癌射频消融后的近期疗效
张丹, 周华玲, 唐潮浪

病例报告

- 535 ERCP处理Caroli's病合并胆道感染: 1例案例报告和文献综述
梅剑锋, 王征, 张筱凤, 陆磊

消 息

- 484 《世界华人消化杂志》修回稿须知
402 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
508 《世界华人消化杂志》正文要求
514 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
526 《世界华人消化杂志》外文字符标准

封面故事

杨薇, 北京大学肿瘤医院主任医师, 教授. 北京大学医学部博士毕业, 美国哈佛医学院博士后. 以“影像引导射频治疗肝癌的精准治疗方案”为研究主线, 在肝癌的早期诊断, 胸肺肿瘤超声诊断, 射频消融与纳米靶向载药的联合治疗机制及临床转化方面进行系列创新性研究. 发表学术论文145篇, 以第一或责任作者发表SCI论文25篇. 主持国家级及北京市课题9项. 获得北京市科学技术二等奖2项, 北京市高层次创新创业领军人才以及国际学术奖励4项.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-04-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 27 Number 8 Apr 28, 2019

BASIC RESEARCH

- 477 Curcumin up-regulates miR-133a expression to inhibit hepatocellular carcinoma cell migration and invasion
Yuan HB, Meng PY, Qi LJ
- 485 Brachytherapy using elastin-like polypeptide with different concentration of ^{131}I for treatment of VX2 liver tumor in rabbits
Li Q, Liu XP, Wang DW, Shen YM, Jia Q, Liu WT
- 494 MiR-181a-5p down-regulates LIF expression to inhibit apoptosis of pancreatic acinar cells
Gong QQ, Chen TJ

CLINICAL RESEARCH

- 503 Clinical value of contrast-enhanced ultrasound in radiofrequency ablation for primary hepatocellular carcinoma undetectable by conventional ultrasound
Zhou HL, Tang CL
- 509 Risk factors for treatment ineffectiveness in patients with *H. pylori* infection undergoing eradication treatment according to drug susceptibility testing results
Zhu DB, Wu JM

REVIEW

- 515 Role of extracellular vesicles in diagnosis and treatment of liver fibrosis.
Wang YG, Shi M
- 521 Advances in morphologic study of enteric glial cells
Xu Y, Xie MZ, Liang GG

Conference Summary

- 527 Summary of the 28th annual conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver
Zhu CW

CLINICAL PRACTICE

- 530 Evaluation of short-term efficacy of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma by dynamic three-dimensional contrast-enhanced ultrasound
Zhang D, Zhou HL, Tang CL

CASE REPORT

- 535 ERCP for treatment of Caroli's disease complicated with biliary infection: A case report and review of the literature
Mei JF, Wang Z, Zhang XF, Lu L

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 27 Number 8 Apr 28, 2019

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Wei Yang, Chief Physician, Professor of Peking University Cancer Hospital, 52 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 28, 2019

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

肠神经胶质细胞形态学研究方法进展

许英, 谢明征, 梁国刚

许英, 谢明征, 梁国刚, 大连医科大学附属第一医院腹部急症外科/大连医科大学中西医结合研究院 辽宁省大连市 116000

许英, 在读硕士研究生, 主要从事肠神经与胃肠道运动功能的研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, Nos. 81873164; 81603428; 辽宁省自然科学基金指导计划项目, No.20180550343.

作者贡献分布: 许英撰写; 梁国刚与谢明征负责修改与校审。

通讯作者: 梁国刚, 教授, 116000, 辽宁省大连市西岗区中山路222号, 大连医科大学附属第一医院腹部急症外科/大连医科大学中西医结合研究院。
liangguogang@firsthosp-dmu.com
电话: 0411-83635963

收稿日期: 2018-10-17

修回日期: 2018-11-23

接受日期: 2018-12-31

在线出版日期: 2019-04-28

Advances in morphologic study of enteric glial cells

Ying Xu, Ming-Zheng Xie, Guo-Gang Liang

Ying Xu, Ming-Zheng Xie, Guo-Gang Liang, Department of Emergency Abdominal Surgery/Institute of Integrative Medicine, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81873164 and No. 81603428; Natural Science Foundation Guidance Program of Liaoning Province, No.20180550343.

Corresponding author: Guo-Gang Liang, Professor, Department of Emergency Abdominal Surgery/Institute of Integrative Medicine, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Xigang District, 222 Zhongshan Road, Dalian 116000, Liaoning Province, China. liangguogang@firsthosp-dmu.com

Received: 2018-10-17

Revised: 2018-11-23

Accepted: 2018-12-31

Published online: 2019-04-28

Abstract

As an important part of the intestinal nervous system, enteric glial cells are about four times as many as intestinal neurons. Furthermore, a large population of astrocyte-like glial cells populate gut muscle layers and the intestinal mucosa, and mounting new evidence points toward enteric glial cells as an active participant in gut pathology. They are similar in morphology and function to the astrocytes of the central nervous system and play an important role in nutrition, supporting gastrointestinal nerve, maintaining gastrointestinal homeostasis, and regulating gastrointestinal function. Because of their complex and diverse roles in the intestinal tract, they have become the focus of research. As the study of their functional mechanism has been extensively deepened, the research methods for intestinal glial cells are also on constant progress and improvement, especially in studying their morphology. This paper mainly introduces the morphological characteristics of enteric glial cells under the conditions of gastrointestinal physiology and pathology, so as to provide a reference for the future study of enteric glial cells and promote the development of this field.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Enteric glial cells; Immunohistochemistry; Electron microscopy; Whole mount stretch preparation

Xu Y, Xie MZ, Liang GG. Advances in morphologic study of enteric glial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(8): 521-526
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/521.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i8.521>

摘要

肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)是肠神经系

统的重要组成部分, 其数量约是肠神经元数量的4倍. 在形态和功能上与中枢神经系统的星形胶质细胞相似. 在营养、支持肠神经、维持胃肠道稳态、调节胃肠道功能等方面发挥着重要作用. 由于其在肠道中发挥的作用复杂而多样, 成为研究的焦点. 对其形态学的观察和研究是非常重要的. EGCs发现至今, 针对其发挥功能的作用机制已得到深入研究, 相应的研究方法也在不断的进步与改进中. 本文主要介绍EGCs在胃肠道生理及病理状态下形态学特点及目前形态学研究方法, 以期对未来研究EGCs提供实验方法的借鉴及参考意义, 推进这一领域的发展.

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠神经胶质细胞; 免疫组织化学; 电镜技术; 全层铺片技术

核心提要: 肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)是肠神经系统的重要组成部分, 在胃肠道吸收、屏障、运动、分泌等功能调节中发挥着重要作用. 研究发现其形态类似于中枢神经系统中的星形胶质细胞, 在肠道中与邻近的肠神经元、肠上皮细胞、肠分泌细胞等都存在着密切的关系. 胃肠道功能障碍时, EGCs形态会发生改变, 研究其解剖位置及形态学变化, 有助于揭示与其相邻近细胞之间作用关系并且进一步提示其发挥功能作用的机制.

许英, 谢明征, 梁国刚. 肠神经胶质细胞形态学研究方法进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(8): 521-526

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i8/521.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i8.521>

0 引言

Dogiel在1899年首次观察并描述了肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)^[1]. 1972年Gabella^[2]确定EGCs是一种独特的神经胶质细胞, 不同于周围神经系统的其它部分, 具有独立的特征(其胞体比肠神经元胞体小, 有许多突起, 在胶质细胞体和突起中有大量胶质丝).

1 肠神经胶质细胞生理形态

Rühl^[3]以成年豚鼠回肠为研究对象, 在电子显微镜下观察肌间神经丛内神经节发现此处有非常紧凑的结构, 周围有基板, 与结缔组织和血管分离. 所有的间隙由神经和胶质元素占据, 形成致密的神经纤维网, 相邻细胞膜之间有20 nm的间隙. EGCs在神经节和神经丛连接处数量较多, 其细胞核数量是神经元细胞的2-3倍, 胶质细

胞比神经元细胞小, 细长型, 胞体界限不清楚, 核椭圆形, 有深深的凹痕, 核外膜上附着大块致密物质. 其胞质中含有丰富的核糖体、内质网、细丝微管. 胶质细丝很突出, 但其数量和密度是可变的. 中心粒部分突出, 有时会有纤毛. 线粒体呈椭圆形, 具有横嵴和致密的嵴间基质. 细胞核和线粒体的形态学特征为胶质细胞的鉴定提供了良好的标准. 胶质细胞体大小、形状不规则, 典型线粒体存在, 胶质细胞丝和微管的出现是胶质细胞识别的主要特征.

Hanani等^[4]运用胶质细胞穿刺灌注赖根过氧化物酶检测, 研究发现胶质细胞的形态取决于它们在肠道中所处的位置和微环境状态, 并且首次提出根据EGCs的形态学差异对胶质细胞群体提出分类: 神经节内的胶质细胞与中枢神经星形胶质细胞相似呈星形, 拥有非常短的不规则的突起, 这种类型与中枢神经系统灰质内的原生质星形胶质细胞非常相似, 称为“原生质”或I型肠胶质细胞. 神经节间纤维束内的胶质细胞类似于中枢神经纤维性星形胶质细胞, 与节间纤维束相平行性延长, 并且很少的分支, 称为“纤维型”或“II型肠胶质细胞”.

Bohórquez等^[5]用扫描电镜与共聚焦显微镜联合观察并鉴定肠道分泌细胞, 从三维角度研究其超微结构, 发现肠内分泌细胞的神经荚膜由EGCs护卫. 观察到在固有层内有肠胶质细胞, 并且所观察EGCs形态的特征: 长而薄的足突从细胞体和神经元纤维呈放射状延伸; 在平面细胞体内典型的细长核; 这些突起在神经纤维周围形成独特的神经鞘. 胶质细胞从固有层由上皮基层纤维形成的基板的开窗进入上皮. 胶质细胞突触内含有可见的小的透明的分泌小泡, 类似于突触末端, 而神经胶质源性神经营养因子可以促进肠内分泌细胞神经荚膜的发育.

相关研究进一步发现EGCs在肠道内广泛分布于肠道的黏膜层、黏膜下神经丛、肌间神经丛和肌层, 肠外也分布于胃黏膜固有层^[6,7]. EGCs在肠黏膜上皮与黏膜下层的肠神经系统之间形成网络, 其一端与肠上皮紧密接触, 另一端则紧密包绕肠神经, 从而将肠上皮细胞与肠神经系统联系起来, 贯穿整个肠壁^[8]. 免疫组化也显示, 在小肠绒毛中, 胶质原纤维酸性蛋白(gial fibrillary acidic protein, GFAP)阳性的胶质细胞胞体和突触紧邻肠上皮, 延伸至绒毛顶端^[9]. EGCs网络分为三层: 与肠上皮细胞紧密相连的为第一层, 其足突与肠上皮细胞形成类似神经突触样的特殊结构; EGCs彼此之间形成第二层, 其通过足突形成的缝隙链接彼此相连; EGCs网络延伸至黏膜深层, 密切包绕神经元及突触间

隙, 形成第三层^[10]。

随着研究不断深入, 发现EGCs在肠道微环境中呈现不同的形态特征, 迄今为止分为四种形态类型: I型或“原浆”和II型或“纤维型”如前所述; III型或“黏膜型”EGCs是上皮下的神经胶质细胞, 有几个长分枝; VI型或“肌肉内”的EGCs是细长的胶质细胞运行在肌肉组织的神经纤维中^[11,12]。EGCs形态结构特征或许与其所处的微环境有关, 根据所处位置还可以分为黏膜神经胶质、神经节内神经胶质、肌内神经胶质, 而不同位置的胶质细胞具有不同的生理功能^[1]。

2 EGCs病理学形态改变

一系列研究发现EGCs与胃肠道功能密切相关, 在不同的胃肠道病理状态下其形态会发生不同改变。

Fujikawa等^[13]首次在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)中观察到EGCs发生的形态学的改变(即从丝状到叶状改变), EGCs结构的变化可能反映了其胶质活性的改变。在IBS动物模型中免疫荧光观察: 大部分EGCs(GFAP免疫阳性)分布于肠道神经元(HuCD免疫阳性)周围, 正常组可见少量与神经元重叠的EGCs, 然而这些EGCs密度增生即与神经元重叠的EGCs增生密度在模型组(压力增加)大鼠中逐渐增加。在不同压力情况下, 胶质细胞根据其末端结构分为丝状(没有明显颈部或球状末端肿胀)和叶状(颈部有球状末端肿胀区)。实验组叶状突起与每个神经节总突起的比值高于对照组, 在急性应激过去4 wk后, 上述结构发生逆转。在应对应激反应中, 增生的EGCs(尤其是球状肿胀)表现与神经元显著重叠^[14]。

研究者应用免疫荧光染色观察肌间神经丛发现, 正常条件下EGCs包绕在神经节周围, 扁平外突清晰光滑, 连续延伸, 荧光度偏低; 失血性休克后出现变形, 外突变得模糊, 有些出现中断, 荧光度增强; 电针足三里穴可以减轻失血性休克后EGCs的形态异常, 外突比模型组清晰光滑, 荧光度更强^[15,16]。在应用透射电镜对IBS患者EGCs进行超微结构的观察, 电镜结果显示IBS患者EGCs异染色质明显减少(此为转录激活的信号), 线粒体数目明显增多, 糖原颗粒明显增多, 镜下粗面内质网及多核糖体经肉眼观察也多于对照组, 表明IBS患者存在EGCs功能异常活跃^[17]。

应用HE染色观察慢传输便秘结肠黏膜形态学改变, 发现对照组(正常组)EGCs及其突起组成神经节, 细胞排列整齐均匀。模型组(慢传输便秘)EGCs明显减少尤其以黏膜下环肌层表面和环肌层区域更加突出, 神经纤维空泡样变性且排列紊乱, 大部分模型动物结肠壁肌间神经丛和黏膜下神经丛的肠神经元数量较空白

对照组明显减少。电镜观察对照组可见EGCs核染色质分布均匀, 核膜清晰, 形态正常, 胞质内线粒体, 粗面内质网, 核糖体等细胞器结构清晰。模型组可见细胞核染色质聚集, 部分核固缩, 细胞质内线粒体肿胀, 粗面内质网扩张^[18]。

采用消化道全层铺片(whole mount stretch preparation)的方法研究缺血再灌注损伤时EGCs变化, 发现正常状态下动物肠肌间神经丛EGCs纵横交织呈网格状包绕在肠神经节周围, 与节间神经连接, 包绕轴突, 延伸出的扁平外突把神经元与神经节外细胞不完全隔离, 呈连续性分布, 形成了一个巨大的网络结构; 而在缺血再灌注后, 肠黏膜受到不同程度损伤, 肌间神经丛EGCs细胞也受到一定程度的受损, 钙结合蛋白S100 β 阳性细胞数量明显减少, 连续性条带消失, 网格变得模糊^[19]。

观察EGCs在不同病理状态下形态学的改变, 对于揭示其在肠道中发挥的作用具有很重要的意义, 提示EGCs在维护肠道屏障功能, 改善肠道炎症等方面发挥着重要的作用。

3 EGCs形态学研究方法

肠神经系统在神经胃肠病学中被称为“肠脑”, 主要由肠神经元和EGCs组成, EGCs作为肠神经系统的重要组成部分, 引起广泛关注^[20]。研究者从不同的角度运用不同的研究方法研究EGCs在胃肠道中发挥的作用。其中对EGCs形态学的研究主要运用HE染色、免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)、免疫细胞技术、透射电镜技术等, 从大体观到微观结构观察EGCs在生理和病理情况下的形态学改变, 揭示了EGCs参与到胃肠道功能调节, 并且发挥着重要作用。

3.1 IHC技术 IHC是生命科学, 尤其是现代病理学诊断、鉴别诊断、肿瘤特异性分子靶标筛选、鉴定的最重要技术手段之一, IHC技术于1941年Coons等^[21]采用荧光素标记抗体检测肺炎双球菌研究时产生。随着技术的不断更新发展, 产生了酶标抗体技术、辣根过氧化物酶标记抗体过氧化物酶技术、ABC法, 快速ABC法、二步ABC法等等, 随着抗原修复技术的出现, IHC技术的敏感性、特异性大幅度提高, 靶标的定位更为准确、背景愈加清晰。此外, 由于单克隆抗体技术的发展, IHC可检测分子靶标谱和适用样本范围大幅度扩展, 越来越多的指标可采用IHC在冷冻切片、细胞爬片、细胞滴片和常规福尔马林固定、石蜡包埋的组织样本中检出^[22,23]。研究发现, EGCs分泌胶原纤维酸性蛋白GFAP、钙结合蛋白S100 β 、Sox8/9/10等^[11,24], 因此通常以GFAP或S100 β 免疫阳性作为EGCs标志物, 检测其在胃肠标本中整体表达和分布情况, 并进行半定量分析。但研究发现,

GFAP、S100 β 抗体在免疫组化染色模式下不能很好地区分单个细胞, 而且其在肠道组织中免疫反应不规则及片状化, 不允许进行一定的定量IHC研究. Sox8/9/10免疫阳性完全局限于胶质细胞核, 能够清楚明确地辨别单个细胞, 从而能够较容易而可靠地实现对EGCs定量^[25]. 在研究神经胶质细胞和肠神经元凋亡在难治性慢传输型便秘的神经病理学中的作用时, 研究者运用免疫组化染色发现与正常组相比, 慢传输型便秘患者肠内神经元和ICC细胞明显减少, 但EGCs(S100标记)减少的更加明显, 可能进一步削弱本已不稳定的神经肠内平衡^[26]. 为进一步了解EGCs在人类胃肠道疾病中的作用, 任何肠全层活检的组织病理学研究不仅评估神经元, 而且应该查看肠神经胶质网络的异常变化.

3.2 免疫荧光染色技术 免疫荧光染色技术是将抗体或抗原在不影响其免疫学特性的条件下, 以化学方法同荧光素相结合, 然后将标记有荧光素的抗体(或抗原)作为试剂, 在特定的条件下与相应抗原(或抗体)进行反应, 再借助荧光显微镜观察特异性免疫荧光现象的一种免疫标记技术. 免疫荧光技术特点: 快速性、敏感性、广泛适应性、定位性. 缺点: 不能对组织细胞进行细微结构的观察, 不易鉴别细胞种类, 难以制备永久性标本, 荧光容易消退. 免疫荧光染色特点是可在细胞水平上对特异性抗原或抗体定位的一种通用手段. 其中多重免疫荧光染色技术利用抗原-抗体特异性结合的原理, 可对细胞中多种蛋白进行可视化定量、定性及共定位. 间接免疫荧光技术, 一直以来同种来源的抗体染色会发生相互串色, 造成结果误判, 而运用间接多重免疫荧光染色可避免这种情况. 基于免疫过氧化物-免疫荧光序贯技术的图像编辑系统, 该方法采用数字图像编辑技术将两个独立采集的图像合并为一个合并图像, 采用间接免疫过氧化物酶, 然后依次进行间接免疫荧光、数字图像采集和图像编辑. 可以实现在不同细胞中识别不同抗原以及在同一细胞中共定位抗原. 与双重免疫荧光相比, 能更好观察组织形态结构, 很容易在同一个细胞中定位两个不同抗原^[27].

通过免疫荧光技术标记GFAP来检测EGCs, 结果显示正常EGCs胞体内含有大量大小、形状不同的突触, 其围绕着细胞核呈现清晰、连续、细长的形态, 分布在细胞体边缘^[28]. 在对功能性消化不良患者十二指肠活检进行免疫荧光染色观察发现正常组黏膜下神经丛内EGCs(S100标记)包绕肠神经元(HuCD免疫阳性)并在神经节内形成清晰的网络结构, 为肠神经提供网络结构和功能支持. 而功能性消化不良组黏膜下神经丛内肠神经元周围胶质细胞反应性增生, 体积增大, 网络结构紊乱,

单个细胞无法识别. 此观察结果是功能性消化不良疾病黏膜下神经丛肠神经功能和结构异常的直接证据, 可能对功能性消化不良具有预测和诊断的价值^[29].

3.3 全层铺片技术 消化道全层铺片即整装撕片. 根据消化道管壁内神经丛的结构特点, 分纵层肌、环层肌、黏膜下层等分层撕开铺片, 以暴露不同的壁内神经丛, 是研究肠壁内神经形态和分布的有效实验手段. 可以直接暴露肌间神经丛, 能完整观察神经丛的形体和结构, 另外, 神经元和神经纤维的数量较大, 可以提高神经丛上待测物质的阳性率^[30,31]. 神经丛为扁平网状结构, 使用全层铺片技术与IHC染色相结合可以直观、全面显示所要观察细胞的形态、整体结构或多细胞间的相互关系及位置变化. 研究大鼠结肠肌间神经丛内EGCs时, 在体式显微镜下逐层剥离黏膜层、黏膜下层、环形肌, 清楚显示位于纵、环肌之间的肌间神经丛, 将组织撕片附于载玻片上, 获得肠肌间神经丛全层铺片标本. 再与神经胶质细胞特异性标志物钙结合蛋白S100 β 免疫荧光组织化学染色相结合, 可清晰显示肌间神经丛EGCs的形态, 即从胞体发出的突起伸展填充在神经元胞体及其突起之间^[32]. 全层铺片技术可以很好补充冰冻切片或石蜡切片在实验观察中的不足. 制备全层铺片后再进行细胞学或免疫细胞化学染色, 能较好地显示胃肠道环形肌、纵形肌、肌间神经丛及其周围细胞的形态与结构, 便于观察疾病时肠神经系统及其周围细胞的形态结构与重塑^[33].

3.4 电镜技术 透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)能够在超微结构水平上观察生物组织、细胞及细胞器的形态结构^[34]. 透射电镜技术在各组织超微结构病理学观察中发挥着无可替代的作用, 它是以电子束为“光源”通过电磁透镜成像的电子光学仪器, 放大倍数可达几十万倍^[35]. 应用透射电镜观察EGCs的超微结构染色质、线粒体、内质网等细胞器结构, 是研究EGCs生理病理情况下超微结构变化最常用的方法. 但透射电镜对样本制作及仪器的操作要求极高, 其中透射电镜制样过程中样本超微结构的保存受多种因素的影响^[36].

另外扫描电子显微镜可以将特定细胞的精细超微结构在三位空间中被揭示出来, 使细胞和组织的超微结构在三维中以常规和自动化的方式呈现. 扫描电子显微镜在神经科学中已经非常流行, 它有助于揭示神经回路的特定突触连接. 用扫描电镜观察到在固有层内肠胶质细胞, 以三维视角可看到更为清晰的特征: (1)长而薄的足突从细胞体和神经元纤维呈放射状延伸; (2)在平面

细胞体内典型的细长核; (3)这些突起在神经纤维周围形成独特的神经鞘。胶质细胞从固有层由上皮下基层纤维形成的基板的开窗进入上皮。胶质细胞突触内含可见的小的透明的分泌小泡, 类似于突触末端^[5]。

4 结论

EGCs形态学的研究是对其进行鉴别以及分子特征和功能特征研究的前提, 也是充分了解EGCs在胃肠道功能和疾病中发挥作用的前提, 有效的形态学研究方法尤为重要。EGCs的形态取决于它们在胃肠道中所处的位置和微环境状态, 在病理状态下还可以发生表型改变和重塑, 以应对营养、机械、疾病相关的损伤。大量研究已经揭示了EGCs在胃肠道中不仅仅局限于营养、支持肠神经, 还参与胃肠道稳态、肠道黏膜屏障、胃肠道运动、胃肠道免疫等功能的调节。对于未来的研究更多倾向于研究EGCs起作用的复杂的分子信号机制。集中于研究EGCs与肠上皮细胞、肠神经元、肠道免疫细胞、肠道分泌细胞相互之间作用机制, 影响调节肠道的许多功能, 如运动、分泌、屏障功能。采用有效的研究方法, 从形态学角度揭示EGCs及与邻近细胞形态学变化将对其作用机制的研究有很大的提示作用。此外, 运用有效的形态学研究方法观察病理状态下EGCs数量及形态结构的改变对于临床诊断和评估胃肠道疾病具有重要的意义。除了传统的免疫荧光、电镜等技术外, 较前沿的基因嵌合分析与免疫染色双标相结合等方法, 对EGCs进行高分辨率的形态学表征的研究, 扩展了先前关于EGCs形态学的研究。技术不断发展, 那么更精准的形态学研究方法有待于进一步探索。

5 参考文献

- Gulbransen BD, Sharkey KA. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 625-632 [PMID: 22890111 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.138]
- Gabella G. Fine structure of the myenteric plexus in the guinea-pig ileum. *J Anat* 1972; 111: 69-97 [PMID: 4335909]
- Rühl A. Glial cells in the gut. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 777-790 [PMID: 16336493 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00687.x]
- Hanani M, Reichenbach A. Morphology of horseradish peroxidase (HRP)-injected glial cells in the myenteric plexus of the guinea-pig. *Cell Tissue Res* 1994; 278: 153-160 [PMID: 7954696 DOI: 10.1007/bf00305787]
- Bohórquez DV, Samsa LA, Roholt A, Medicetty S, Chandra R, Liddle RA. An enteroendocrine cell-enteric glia connection revealed by 3D electron microscopy. *PLoS One* 2014; 9: e89881 [PMID: 24587096 DOI: 10.1371/journal.pone.0089881]
- De Giorgio R, Giancola F, Boschetti E, Abdo H, Lardeux B, Neunlist M. Enteric glia and neuroprotection: basic and clinical aspects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G887-G893 [PMID: 22878122 DOI: 10.1152/ajpgi.00096.2012]
- Coelho-Aguiar Jde M, Bon-Frauches AC, Gomes AL, Verissimo CP, Aguiar DP, Matias D, Thomasi BB, Gomes AS, Brito GA, Moura-Neto V. The enteric glia: identity and functions. *Glia* 2015; 63: 921-935 [PMID: 25703790 DOI: 10.1002/glia.22795]
- Liu YA, Chung YC, Pan ST, Shen MY, Hou YC, Peng SJ, Pasricha PJ, Tang SC. 3-D imaging, illustration, and quantitation of enteric glial network in transparent human colon mucosa. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e324-e338 [PMID: 23495930 DOI: 10.1111/nmo.12115]
- Savidge TC, Sofroniew MV, Neunlist M. Starring roles for astroglia in barrier pathologies of gut and brain. *Lab Invest* 2007; 87: 731-736 [PMID: 17607301 DOI: 10.1038/labinvest.3700600]
- Neunlist M, Van Landeghem L, Mahé MM, Derkinderen P, des Varannes SB, Rolli-Derkinderen M. The digestive neuronal-glial-epithelial unit: a new actor in gut health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 90-100 [PMID: 23165236 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.221]
- Boesmans W, Lasrado R, Vanden Berghe P, Pachnis V. Heterogeneity and phenotypic plasticity of glial cells in the mammalian enteric nervous system. *Glia* 2015; 63: 229-241 [PMID: 25161129 DOI: 10.1002/glia.22746]
- Sharkey KA. Emerging roles for enteric glia in gastrointestinal disorders. *J Clin Invest* 2015; 125: 918-925 [PMID: 25689252 DOI: 10.1172/JCI76303]
- Fujikawa Y, Tominaga K, Tanaka F, Tanigawa T, Watanabe T, Fujiwara Y, Arakawa T. Enteric glial cells are associated with stress-induced colonic hyper-contraction in maternally separated rats. *Neurogastroenterol Motil* 2015; 27: 1010-1023 [PMID: 25960044 DOI: 10.1111/nmo.12577]
- Grubišić V, Gulbransen BD. Enteric glia: the most alimentary of all glia. *J Physiol* 2017; 595: 557-570 [PMID: 27106597 DOI: 10.1113/JP271021]
- 赵增凯. 电针足三里对失血性休克大鼠肠屏障和肠胶质细胞保护作用的研究. 2015; 15: 136-139 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-8521.2014.03.002]
- Hu S, Zhao ZK, Liu R, Wang HB, Gu CY, Luo HM, Wang H, Du MH, Lv Y, Shi X. Electroacupuncture activates enteric glial cells and protects the gut barrier in hemorrhaged rats. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 1468-1478 [PMID: 25663766 DOI: 10.3748/wjg.v21.i5.1468]
- 王鹏. 肠易激综合征肠上皮-肠胶质细胞网络调控异常的分子机制研究. 山东大学, 2015
- 刘丽莎, 张微, 赵敏, 毛廷丽, 李思宇, 李瑛, 钟振东. 针刺大肠俞募穴对慢传输便秘小鼠结肠组织形态学的影响. *中华中医药杂志* 2016; 31: 255-258
- Mendes CE, Palombit K, Vieira C, Silva I, Correia-de-Sá P, Castelucci P. The Effect of Ischemia and Reperfusion on Enteric Glial Cells and Contractile Activity in the Ileum. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 2677-2689 [PMID: 25917048 DOI: 10.1007/s10620-015-3663-3]
- Bassotti G, Villanacci V, Antonelli E, Morelli A, Salerni B. Enteric glial cells: new players in gastrointestinal motility. *Lab Invest* 2007; 87: 628-632 [PMID: 17483847 DOI: 10.1038/labinvest.3700564]
- Coons AH. The development of immunohistochemistry. *Ann N Y Acad Sci* 1971; 177: 5-9 [PMID: 44005566 DOI: 10.1111/j.17496632.1971.tb35025.x]
- Rossi S, Laurino L, Furlanetto A, Chinellato S, Orvieto E, Canal F, Facchetti F, Dei Tos AP. Rabbit monoclonal antibodies: a comparative study between a novel category of immunoreagents and the corresponding mouse monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* 2005; 124: 295-302 [PMID: 16040303 DOI: 10.1309/NR8H-N08G-DPVE-MU08]
- Ward JM, Rehg JE. Rodent immunohistochemistry: pitfalls and troubleshooting. *Vet Pathol* 2014; 51: 88-101 [PMID: 24078006 DOI: 10.1177/0300985813503571]
- Cirillo C, Sarnelli G, Esposito G, Turco F, Steardo L, Cuomo

- R. S100B protein in the gut: the evidence for enteroglial-sustained intestinal inflammation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1261-1266 [PMID: 21455324 DOI: 10.3748/wjg.v17.i10.1261]
- 25 Hoff S, Zeller F, von Weyhern CW, Wegner M, Schemann M, Michel K, Rühl A. Quantitative assessment of glial cells in the human and guinea pig enteric nervous system with an anti-Sox8/9/10 antibody. *J Comp Neurol* 2008; 509: 356-371 [PMID: 18512230 DOI: 10.1002/cne.21769]
- 26 Bassotti G, Villanacci V, Maurer CA, Fisogni S, Di Fabio F, Cadei M, Morelli A, Panagiotis T, Cathomas G, Salerni B. The role of glial cells and apoptosis of enteric neurones in the neuropathology of intractable slow transit constipation. *Gut* 2006; 55: 41-46 [PMID: 16041063 DOI: 10.1136/gut.2005.073197]
- 27 杨敏, 田志华, 马博, 贾凯英, 张鸿丽, 富晶, 蔡雯雯, 赵威. 多重间接免疫荧光技术的建立及其在肝癌样本多种抗原检测中的应用. *细胞与分子免疫学杂志* 2018; 34: 97-104 [DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.008522]
- 28 Le Berre-Scoul C, Chevalier J, Oleynikova E, Cossais F, Talon S, Neunlist M, Boudin H. A novel enteric neuron-glia coculture system reveals the role of glia in neuronal development. *J Physiol* 2017; 595: 583-598 [PMID: 27436013 DOI: 10.1113/JP271989]
- 29 Cirillo C, Bessissow T, Desmet AS, Vanheel H, Tack J, Vanden Bergh P. Evidence for neuronal and structural changes in submucous ganglia of patients with functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 1205-1215 [PMID: 26077177 DOI: 10.1038/ajg.2015.158]
- 30 白艳华, 张军. 大鼠胃肠道肌间神经丛铺片的制备和染色法的研究. *第四军医大学学报* 2009; 30: 1950-1952
- 31 Pearson GT. Structural organization and neuropeptide distributions in the equine enteric nervous system: an immunohistochemical study using whole-mount preparations from the small intestine. *Cell Tissue Res* 1994; 276: 523-534 [PMID: 7520362 DOI: 10.1007/bf00343949]
- 32 纪托, 薛红, 朱进霞. 显示肠肌间神经丛的全层铺片技术. *首都医科大学学报* 2009; 30: 256-258 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2009.02.031]
- 33 张国权, 孙海梅, 夏白娟, 李小双, 康倩, 江涛. 全层铺片技术研究消化道神经丛和Cajal间质细胞. *解剖学研* 2013; 35: 76-78 [DOI: 10.3969/j.issn.167-0770.2013.01.022]
- 34 周德山. 电镜技术在医学生物学领域应用体会及历史回顾. *中国解剖学会. 解剖学杂志-中国解剖学会2002年年会文摘汇编. 中国解剖学会* 2002; 2
- 35 Mitchison HM, Shoemark A. Motile cilia defects in diseases other than primary ciliary dyskinesia: The contemporary diagnostic and research role for transmission electron microscopy. *Ultrastruct Pathol* 2017; 41: 415-427 [PMID: 28925789 DOI: 10.1080/01913123.2017.1370050]
- 36 王萌, 李婷, 董红燕. 透射电镜制样过程中漂洗时间对神经组织超微结构的影响. *神经解剖学杂志* 2018; 34: 515-518 [DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2018.04.017]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能写成Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), *ρ*(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), *φ*(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), *T*_{max}, *C*_{max}, *V*_d, *T*_{1/2} *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<https://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

