

Cajal间质细胞与胃肠动力关系的研究进展^Δ

肖开春^{1*}, 童荣生^{1,2#} (1.西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031; 2.四川省医学科学院/四川省人民医院, 成都 610072)

中图分类号 R95;F714 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)05-0470-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.05.32

摘要 目的:综述Cajal间质细胞(ICC)与胃肠动力学的关系。方法:就ICC的主要形态学、分布特点、生理功能及其与胃肠动力关系的研究进行综述。结果与结论:ICC有可能作为特异性治疗或药物的靶细胞。有关ICC的兴奋和抑制性神经反应是如何传到邻近平滑肌细胞、起搏机制等问题还需要进一步研究。在细胞水平研究中药对ICC功能、结构的作用,有可能为中医药治疗胃肠动力障碍性疾病提供量化、客观的指标。

关键词 Cajal间质细胞;胃肠动力;起搏细胞;神经传递;综述

1893年,西班牙神经解剖学家Cajal发现并描述了胃肠道存在的一种特殊间质细胞,后来被命名为Cajal间质细胞(Interstitial cells of Cajal, ICC)。ICC都要表达c-kit基因,c-kit是原癌基因,分别位于人的4号染色体和小鼠5号染色体W位点上。c-kit编码Kit受体,即酪氨酸激酶受体,Kit受体的天然配体是干细胞因子(Stem cell factor, SCF)^[1]。在胃肠道中仅有ICC和肥大细胞是c-kit阳性细胞,ICC用甲苯胺蓝染色后不呈现异染性,而肥大细胞被染色后呈红紫色,可以区别两者。研究表明,ICC是调节胃肠动力的重要细胞,与某些胃肠疾病有着一定联系。ICC是胃肠运动的起搏细胞,具有产生并传播慢波的功能,慢波(Slow wave, SW)亦称基本电节律,是在胃肠平滑肌记录到膜电位自发、缓慢的节律性去极化波。ICC自发产生慢波并传播至平滑肌细胞,调控胃肠平滑肌的收缩节律;同时ICC参与胃肠道的神经信号传递,还具有牵张传感器的功能。本文就ICC的主要形态学、分布特点、生理功能及其与胃肠动力关系的研究进行综述。

1 ICC的形态学特征、分类及分布

1.1 ICC的形态学特征

光镜下成熟期ICC的典型特征:细胞核大,呈卵圆形,核周细胞质较少;胞质向不同方向发出2~5个细长的细胞突起,长度≥100 μm,并形成二级、三级分支突起,使ICC呈纺锤形或

星形。电镜下ICC具有以下超微结构特点:①细胞质含有大量的线粒体、发达的粗面及滑面内质网;②有许多微管、中间丝、细肌丝,而无粗肌丝;③具有基底膜、膜内陷小凹(Caveolae);④ICC相互间及其与平滑肌细胞间可见缝隙连接(Gap junctions)^[2]。

1.2 ICC在消化道中的分类及分布

ICC分类方法很多,无统一分类。依据其存在的位置可归纳为以下几类^[3]:①黏膜下丛ICC(Submucosal ICC, ICC-SM),位于胃窦、结肠黏膜下结缔组织与环状肌层表面之间;②深肌丛ICC(Deep muscular plexus ICC, ICC-DMP),位于小肠环状肌层较薄的内层和较厚的外层之间;③肌内ICC(Intramuscular ICC, ICC-IM),存在于环状肌和纵行肌内,即环肌内ICC、纵肌内ICC(ICC-CM、ICC-LM)2类,分布在食管、胃和大肠;④肌间ICC(Myenteric ICC, ICC-MY),位于环状肌层和纵行肌层之间,遍及胃、小肠和大肠;⑤浆膜下ICC(Subserosal ICC, ICC-SS),存在于结肠浆膜下层,其功能不清楚。

2 ICC调控胃肠动力的功能

2.1 ICC是起搏细胞

研究证实,胃肠道无论是纵行肌还是环行肌细胞均不具有产生SW的能力^[4]。采用膜片钳技术研究离体培养的小肠ICC,发现ICC自发产生节律性电活动,其静息膜电位为-80~-70

种流动相分别测定替硝唑和螺内酯的含量,结果替硝唑、螺内酯的保留时间分别为6.9、10.6 min,替硝唑峰的对称性较好,而螺内酯峰的对称性不佳,且2种流动相均含有缓冲液,易导致组分保留值变化,造成色谱系统不稳定。而选用0.05 mol/L磷酸二氢钾(用磷酸调pH至3.5)-乙腈(50:50)、乙腈-水(50:50)为流动相进行比较,所得的峰形基本相同,替硝唑峰、螺内酯峰与其他峰均能较好分离。最终选择乙腈-水(50:50)为流动相及溶剂,替硝唑峰、螺内酯峰与其他峰分离度>3.0,且不拖尾,保留时间恒定,既减少了系统干扰,又降低了对色谱柱的损害。

本方法分别测定2种成分的含量较文献^[7]中的方法更简便、快速,测定结果准确、可靠,适用于该制剂的质量控制。

参考文献

Δ 基金项目:四川省科技支撑计划资助项目(No.2011F20068)
* 硕士研究生。研究方向:中药药理。E-mail: xkcde@126.com
通信作者:主任药师,教授,硕士研究生导师,博士。研究方向:临床药学、医院药学。电话:028-87393485。E-mail: tongrs@126.com

[1] 赵辨.中国临床皮肤病学[M].1版.南京:江苏科学技术出版社,2009:1 165.
[2] 彭贤东,唐志立,龙凤,等.替硝唑螺内酯乳膏治疗寻常痤疮62例[J].中国药业,2010,19(17):77.
[3] 邓水德.高效液相色谱法测定复方替硝唑凝胶中两组分的含量[J].中国医院药学杂志,2004,24(10):652.
[4] 刘晋华,李建新,李冬梅,等.高效液相色谱法测定复方替硝唑搽剂中替硝唑和水杨酸的含量[J].药物分析杂志,2000,20(5):329.
[5] 王菊荣,王月军,叶勇,等.HPLC法测定复方药物微乳膏中螺内酯的含量[J].药物分析杂志,2006,26(12):1 883.
[6] 李超,张勉.HPLC法测定螺内酯片的含量[J].中国药房,2010,21(17):1 610.
[7] 彭贤东,唐志立,龙凤,等.替硝唑螺内酯乳膏的制备及质量控制[J].中国药业,2010,19(5):34.

(收稿日期:2012-03-28 修回日期:2012-04-24)

mV,比平滑肌细胞更容易被兴奋。且自发的电压振荡不被超级化和L-型钙通道阻滞药阻断;而平滑肌细胞只产生电压敏感性动作电位,可被超级化和L-型钙通道阻滞药阻断^[6]。应用全细胞膜片钳技术还记录到体外培养的胃、小肠ICC自发产生节律规则的SW,并且与整体组织记录到的SW一致^[6]。单一的ICC也能产生有节奏的内向电流,这种对L-型钙通道阻滞药不敏感的电流对平滑肌细胞SW的产生是至关重要的^[7]。亚甲蓝色、光照选择性地损伤ICC后,组织中选择性的SW活动消失^[8]。在组织培养液中加入c-kit抗体(ACK2)导致肌肉组织中ICC消失,则平滑肌细胞处于电静息,电刺激、乙酰胆碱均不能诱发SW活动^[9]。以上研究证实SW由ICC产生并传导。

c-kit基因突变(W/Wv)小鼠,其小肠ICC-MY网络很不发达,缺乏SW活动。后来的一些研究也说明ICC-MY对SW活动的产生是至关重要的^[10]。另有报道,大鼠结肠ICC-SM也被认为是起搏细胞,参与循环慢波和小振幅收缩,与ICC-MY一起调节大鼠结肠周期性活动^[11]。但是,SW的产生不只是与ICC-MY有关。豚鼠胃体没有ICC-MY,而是由ICC-IM产生主要的SW活动^[12]。此外,ICC-IM有助于放大ICC-MY产生的起搏信号,再产生去极化电流^[13]。

2.2 ICC是胃肠神经信号的传递者

研究发现,ICC与平滑肌及神经间距仅为20 nm左右,远小于神经和肌肉之间的距离,ICC与神经轴突接触非常紧密,通过突触前后膜的特殊连接,形成神经元与ICC的密切关系^[14]。ICC对一些神经递质均有反应性,包括乙酰胆碱(Ach)、一氧化氮(NO)、血管活性肠肽(VIP)、P物质(SP)等^[15]。ICC上还存在NO受体,毒蕈碱M2、M3受体,神经激肽NK1受体等,例如ICC表达NO受体,能合成NO,对氮能神经递质的作用起放大效应^[16]。基因突变小鼠胃ICC-IM缺乏,导致对NO依赖的连接后效应减少^[17],同时胆碱能兴奋性反应消失^[14]。胃动素(Motilin, MOT)明显增加胃体起搏区和胃窦慢波的收缩频率和振幅,快波增加;而促胰液素(Secretin, SEC)起抑制作用,但是胃环形肌ICC损伤后完全阻断MOT和SEC对胃肌电的兴奋、抑制作用。提示MOT和SEC通过ICC对胃肌电进行调节^[18]。无论是形态学还是功能作用都表明了,ICC-IM是肠神经信号的中介。小鼠小肠ICC-DMP也具有类似ICC-IM的功能^[19]。胃肠神经释放出的递质首先单独作用于ICC-IM,再经ICC-IM作用于平滑肌细胞,而有关神经冲动是如何从ICC-IM传到平滑肌细胞的报道很少,缝隙连接可能参与其中,但是有研究得出缝隙连接对起搏或神经信号传递到环状肌不是所必需的^[20]。

2.3 ICC具有牵张传感器的功能

由于ICC与平滑肌细胞间存在的特殊结构:楔-槽连接,它代表了最易受牵张力而变形的那部分肌肉细胞,所以推测ICC起牵张传感器的作用。一个楔-槽连接包括一个0.5至几微米长的楔,它从一个平滑肌细胞伸入一个邻近的平滑肌细胞或ICC质膜的一个狭窄的袋或内凹中;同时,紧密并置在一起的两层膜之间的结缔组织成分被清除出去。这种方向固定的形态结构表明ICC可以作为机械性牵张传感器,调节平滑肌与ICC间的结合以及内部肌层对牵张力的敏感性^[21]。牵张应变对胃肠壁的刺激可能作用于ICC并改变其电生理特性,从而调节胃肠平滑肌运动的基础张力和频率^[22]。细胞内电活动和肌肉等长收缩力的生理学试验也证实了ICC起牵张传感器的作用,当增加长度会引起膜去极化和慢波频率增加,而缺乏ICC-IM的c-kit基因突变(W/Wv)小鼠胃窦肌肉无此反应。说明这些反应是由ICC-IM调节的,其作用机制与环氧合酶II有关^[23]。

3 ICC调控胃肠动力的机制

胃肠道运动功能的正常取决于内在起搏机制和神经体液因素的调节。ICC自发产生节律性的慢波,作为胃肠道运动的起搏器,介导神经对平滑肌的调节,调控胃肠动力。但有关ICC节律性电活动产生的机制却未完全清楚。根据ICC上存在的离子通道,目前有关ICC产生起搏电流机制主要存在2个学说:(1)钙激活氯通道学说:认为Ca²⁺从三磷酸肌醇(IP3)调节性钙库的释放直接激活浆膜钙、激活氯通道^[24]。并且高电导氯通道和内向整流性氯通道参与了ICC的起搏活动^[25-26]。(2)非选择性阳离子通道学说:认为此通道周期性激活频率与起搏电流频率相同,这种电导可能有助于起搏电流和电慢波的产生^[27]。对于起搏电流机制的2个学说,都没有明确一个具有自律性离子通道作为始发触发机制。超极化激活环核苷酸门控的超极化阳离子通道(HCN)对消化系统作用的研究中发现,HCN可能是胃肠道慢波节律的起搏离子通道。尤其是HCN1在ICC上特异性分布以及在大鼠胃肠道开始产生节律性蠕动的关键时期表达量明显升高,HCN1介导的非特异性阳离子电流,可引发细胞自身去极化,形成自身自发节律并且其表达与胃肠节律蠕动产生时期吻合。因此,ICC上HCN1的自发性电流可能是引发ICC节律性电流产生的起始者^[28]。

4 ICC与胃肠动力障碍性疾病

研究发现一些胃肠动力障碍性疾病伴有ICC数量、结构功能的变化,现简要介绍以下几种:(1)食管反流病:患者食管下段括约肌伴有ICC数量明显减少或缺失,ICC内线粒体、滑面内质网数目也减少,与神经末梢突触的接触消失^[29]。(2)胃轻瘫:原发性胃轻瘫患者ICC-MY、ICC-IM数量减少,可能能够解释胃底顺应性异常和胃窦运动减弱的原因^[30]。原发性、糖尿病性胃轻瘫患者ICC缺失与胃电慢异常、症状加重以及胃电治疗效果不佳有关^[31]。(3)慢性假性肠梗阻:患者小肠ICC的数量明显减少或缺失,ICC可能在疾病病因方面起重要作用^[32]。(4)慢传输型便秘:患者乙状结肠标本各层组织中ICC数量较正常显著减少,患者间无差异^[33]。结肠组织内ICC的减少可能与c-kit/SCF信号通路有关^[34]。ICC减少与某些疾病的胃肠动力紊乱有关,但是还需要明确ICC减少是运动功能障碍的起因还是结果。

5 展望

自从ICC被发现后,借助免疫组织化学、电镜技术及基因突变动物模型等对ICC的研究,使得更好地理解它们的生理作用和病理意义。根据ICC在胃肠道正常或病理中所起的作用,ICC有可能作为特异性治疗或药物的靶细胞。而有关ICC的兴奋和抑制性神经反应是如何传到邻近平滑肌细胞、起搏机制等问题还需要进一步研究。根据中医药理论,现代医学的胃肠运动功能障碍与中医临床的胃脘痛、腹痛、反酸、痞满、胃痞等症相类似,属“痞证”范畴。在细胞水平研究中药对ICC功能、结构的作用,有可能为中医药治疗胃肠动力障碍性疾病提供量化、客观的指标。

参考文献

- [1] Ali S, Ali S. Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST) [J]. *Gene*, 2007, 401(1/2):38.
- [2] Faussone-Pellegrini MS, Thunberg L. Guide to the identification of interstitial cells of Cajal [J]. *Microsc Res Tech*, 1999, 47(4):248.
- [3] Komuro T. Structure and organization of interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal tract [J]. *J Physiol*, 2006,

- 576(3):653.
- [4] Huizinga JD, Robinson TL, Thomsen L. The search for the origin of rhythmicity in intestinal contraction; from tissue to single cells[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2000, 12(1): 3.
- [5] Lee JC, Thuneberg L, Berezin I, *et al.* Generation of slow waves in membrane potential is an intrinsic property of interstitial cells of Cajal[J]. *Am J Physiol*, 1999, 227(2 Pt 1): 409.
- [6] Koh SD, Sanders KM, Ward SM. Spontaneous electrical rhythmicity in cultured interstitial cells of Cajal from the murine small intestine[J]. *J Physiol*, 1998, 513(1): 203.
- [7] Thomsen L, Robinson TL, Lee JC, *et al.* Interstitial cells of Cajal generate a rhythmic pacemaker current[J]. *Nat Med*, 1998, 4(7): 848.
- [8] Liu LW, Thuneberg L, Huizinga JD. Selective lesioning of interstitial cells of Cajal by methylene blue and light leads to loss of slow waves[J]. *Am J Physiol*, 1994, 266(3 Pt 1): 485.
- [9] Ördög T, Ward SM, Sanders KM. Interstitial cells of cajal generate electrical slow waves in the murine stomach[J]. *J Physiol*, 1999, 518(1): 257.
- [10] Huizinga JD, Thuneberg L, Klüppel M, *et al.* W/kit gene required for interstitial cells of Cajal and for intestinal pacemaker activity[J]. *Nature*, 1995, 373(6 512): 347.
- [11] Plujà L, Albertí E, Fernández E, *et al.* Evidence supporting presence of two pacemakers in rat colon[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 281(1): 255.
- [12] Hashitani H, Garcia-Londono AP, Hirst GD, *et al.* Atypical slow waves generated in gastric corpus provide dominant pacemaker activity in guinea pig stomach[J]. *J Physiol*, 2005, 569(2): 459.
- [13] Dickens EJ, Edwards FR, Hirst GD. Selective knockout of intramuscular interstitial cells reveals their role in the generation of slow waves in mouse stomach[J]. *J Physiol*, 2001, 531(3): 827.
- [14] Ward SM, Beckett EA, Wang X, *et al.* Interstitial cells of Cajal mediate cholinergic neurotransmission from enteric motor neurons[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(4): 1 393.
- [15] Faussone-Pellegrini MS. Relationships between neurokinin receptor-expressing interstitial cells of Cajal and tachykinergic nerves in the gut[J]. *J Cell Mol Med*, 2006, 10(1): 20.
- [16] Koh SD, Kim TW, Jun JY, *et al.* Regulation of pacemaker currents in interstitial cells of Cajal from murine small intestine by cyclic nucleotides[J]. *J Physiol*, 2000, 527(1): 149.
- [17] Burns AJ, Lomax AE, Torihashi S, *et al.* Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(21): 12 008.
- [18] 周吕,袁勃,王礼建,等.Cajal细胞介导胃动素和促胰液素对胃起搏区电活动的作用[C]//中国生理学会.第21届全国代表大会暨学术会议论文摘要汇编.南平:中国生理学会,2002:183.
- [19] Ward SM, McLaren GJ, Sanders KM. Interstitial cells of Cajal in the deep muscular plexus mediate enteric motor neurotransmission in the mouse small intestine[J]. *J Physiol*, 2006, 573(1): 147.
- [20] Daniel EE, Yazbi AE, Mannarino M, *et al.* Do gap junctions play a role in nerve transmissions as well as pacing in mouse intestine?[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292(3): 734.
- [21] Thuneberg L, Peters S. Toward a concept of stretch-coupling in smooth muscle. I. Anatomy of intestinal segmentation and sleeve contractions[J]. *Anat Rec*, 2001, 262(1): 110.
- [22] 韩燕飞,赵鹏,黄旭,等.牵张应变对小肠Cajal间质细胞起搏电流的作用[J]. *医用生物力学*, 2008, 23(2): 158.
- [23] Won KJ, Sanders KM, Ward SM. Interstitial cells of Cajal mediate mechanosensitive responses in the stomach[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(41): 14 913.
- [24] Hirst GD, Bramich NJ, Teramoto N, *et al.* Regenerative component of slow waves in the guinea-pig gastric antrum involves a delayed increase in [Ca²⁺]_i and Cl⁻ channels[J]. *J Physiol*, 2002, 540(3): 907.
- [25] Huizinga JD, Zhu Y, Ye J, *et al.* High-conductance chloride channels generate pacemaker currents in interstitial cells of Cajal[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(5): 1 627.
- [26] Zhu Y, Mucci A, Huizinga JD. Inwardly rectifying chloride channel activity in intestinal pacemaker cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005, 288(4): 809.
- [27] Koh SD, Jun JY, Kim TW, *et al.* A Ca²⁺-inhibited non-selective cation conductance contributes to pacemaker currents in mouse interstitial cell of Cajal[J]. *J Physiol*, 2002, 540(3): 803.
- [28] 王胜智.HCN1在胃肠道动力起搏中作用机制研究[D].西安:第四军医大学,2009.
- [29] Shafik A, Ahmed I, EI Sibai O, *et al.* Interstitial cells of Cajal in reflux esophagitis: role in the pathogenesis of the disease[J]. *Med Sci Monit*, 2005, 11(12): BR452.
- [30] Zárate N, Mearin F, Wang XY, *et al.* Severe idiopathic gastroparesis due to neuronal and interstitial cells of Cajal degeneration: pathological findings and management[J]. *Gut*, 2003, 52(7): 966.
- [31] Forster J, Damjanov I, Lin Z, *et al.* Absence of the interstitial cells of Cajal in patients with gastroparesis and correlation with clinical findings[J]. *J Gastrointest Surg*, 2005, 9(1): 102.
- [32] Jain D, Moussa K, Tandon M, *et al.* Role of interstitial cells of Cajal in motility disorders of the bowel[J]. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(3): 618.
- [33] Lee JI, Park H, Kamm MA, *et al.* Decreased density of interstitial cells of Cajal and neuronal cells in patients with slow-transit constipation and acquired megacolon[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(8): 1 292.
- [34] Tong WD, Liu BH, Zhang LY, *et al.* Expression of c-kit messenger ribonucleic acid and c-kit protein in sigmoid colon of patients with slow transit constipation[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2005, 20(8): 363.

(收稿日期:2012-11-05 修回日期:2012-12-10)