

人和常用实验动物正常涎腺中肌上皮细胞定量组织学研究

马文波 何志秀 卢勇 刘吉余 蔡益新

摘要 目的: 了解人与不同实验动物涎腺中肌上皮细胞的差异。方法: 用HHF35对人和动物涎腺进行免疫组织化学染色, 用计算机图像分析系统测量肌上皮细胞的平均体积比并进行比较。结果: 人和动物涎腺中肌上皮细胞的平均体积比存在不同程度的差异。除啮齿类动物外, 人和其它动物粘液腺中肌上皮细胞的平均体积比高于浆液腺中者。结论: 涎腺肌上皮细胞的平均体积比与动物种类和涎腺分泌物性能有关。

关键词 实验动物 肌上皮细胞 免疫组织化学

肌上皮细胞(myoepithelial cells, MeCs)是动物多种外分泌腺(唾液腺、乳腺、泪腺、汗腺,等)的组织成分之一,它位于腺上皮和基底膜之间^{1,2}。肌上皮细胞的功能目前尚不完全清楚,但是许多研究发现其胞浆内含相当多的肌动蛋白,因此一般认为它具有收缩功能,与腺体细胞的分泌有关^{3,4}。光镜下,通过HE染色是不能区分肌上皮细胞的,需要利用酶组化、免疫组化等特殊染色方法来显示。HHF35是近几年开始使用的识别特异性肌动蛋白(muscle-actin-specific)的单克隆抗体,作者使用它来区别肌上皮细胞和腺泡,希望通过定量测定比较肌上皮细胞的平均体积比,以了解不同动物涎腺中肌上皮细胞的发育是否存在物种间的差异及与分泌功能的关系。

1 材料和方法

1.1 实验对象

实验所用动物均取自华西医科大学动物中心。选正常成年昆明小白鼠、SD大白鼠、金黄地鼠、中国白兔、山羊、家猪、土种狗、猕猴各5只,雌雄不限,分别以断颈、放血方法处死,解剖出腮腺、颌下腺、舌下腺。小鼠、大鼠、金黄地鼠的腺体全部用于实验,其它动物则随机切取部分组织。另取成人(20~35岁)正常腮腺、颌下腺、舌下腺各5例。

1.2 免疫组化染色

使用特异性肌动蛋白HHF35单克隆抗体(DAKO公司,美国)和SP试剂盒(ZYMED公司,美国),用常规方法进行免疫组织化学染色,抗体浓度为1:50。

1.3 形态计量方法

将所染切片在40倍物镜下用Mias-2000型图像分析系统(四川大学计算机系图像图形研究所开发)进行测试,每张切片随机选择10个视野,测量肌上皮细胞的平均体积比。所得结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 t 检验判断有无统计学差异。

2 结果

2.1 形态学观察

HHF35免疫组化显示阳性的肌上皮细胞为棕黄色,镜下所见,肌上皮细胞呈薄的、连续或不连续的环状包绕在腺泡和闰管。在啮齿类动物的腺体中,肌上皮细胞较稀疏、较细,阳性信号也较淡。在人的腮腺中,除了在腺泡和闰管周围,少数纹管周围也可见肌上皮细胞。在家兔腮腺和小鼠颌下腺未见到肌上皮细胞的阳性信号。

2.2 定量组织学研究

通过图像分析仪测得各种动物和人的涎腺组织中肌上皮细胞的平均体积比(表1)。在腮腺中,猴、狗的肌上皮细胞明显多于人,而其它动物与人差别不明显;颌下腺中,猪、狗的肌上皮细胞多于人,金黄地鼠、大白鼠和兔的肌上皮细胞少于羊和猴与人相差不明显;舌下腺中,猪、狗、猴的肌上皮细胞与人的无明显差异,其它动物少于羊。

表1 不同实验对象涎腺中肌上皮细胞平均体积比

实验对象	腮腺	颌下腺	舌下腺
金黄地鼠	1.86 ± 0.28	1.67 ± 0.32*	2.17 ± 0.38*
小白鼠	1.72 ± 0.21		2.04 ± 0.22*
大白鼠	1.58 ± 0.35	1.81 ± 0.25*	1.83 ± 0.31*
兔		1.97 ± 0.34*	2.42 ± 0.51*
羊	2.26 ± 0.19	3.13 ± 0.56	3.02 ± 0.39*
猪	1.98 ± 0.29	3.79 ± 0.56*	4.59 ± 0.66
狗	3.51 ± 0.47*	4.36 ± 0.37*	3.48 ± 0.52
猴	2.88 ± 0.59*	2.67 ± 0.35	4.23 ± 0.73
人	2.05 ± 0.46	2.94 ± 0.23	4.12 ± 0.55

* 与人相比有统计学差异 (P < 0.05)

3 讨 论

肌上皮细胞是一类兼有上皮和平滑肌特性的细胞^{5,6}。位于涎腺腺泡和小导管周围,与上皮细胞构成双层结构,它与腺泡细胞、闰管细胞一样源于干细胞。电镜下观察,它位于基底膜上,通过桥粒附着在腺泡和导管上,胞浆内含有肌动蛋白和肌凝蛋白构成的肌丝。肌动蛋白收缩可帮助腺体排出分泌物。对肌上皮细胞进行研究的一个难点是在光镜下HE切片不能区分它,需借助于特殊染色。曾有多种组织学、酶组化染色用于此,但效果不理想。在用免疫组化染色时,抗体的选择很重要。有人用CK14或者肌球蛋白识别肌上皮细胞,但CK14缺乏特异性,它除了作用于人涎腺的肌上皮细胞外,还作用于导管的外周细胞,而且对不同动物涎腺的反应也不一致;抗肌球蛋白抗体只能用于冰冻组织,应用受到限制。作者使用特异性肌动蛋白抗体HHF35对人和动物涎腺肌上皮细胞进行染色,取得了良好效果,证明它是一种较适合于肌上皮细胞免疫组化染色的一种抗体,在动物组织中也有较广泛的交叉反应。多数研究发现肌上皮细胞位于腺泡和闰管周围,在腺泡外其形状为星形。由胞体向四周伸出多个突起包绕腺泡;在闰管外它呈梭形,长轴平行于导管。此外Chaudhry发现人腮腺中的肌上皮细胞可伸展到纹管,本实验证实了这点,在少数纹管外可见肌上皮细胞。

各种实验动物涎腺肌上皮细胞的比较研究尚未见报道。本实验通过HHF35免疫组化研究,显示除家兔的腮腺和小鼠的颌下腺外,8种动物和人的涎腺腺泡和闰管外周均有HHF35阳性的肌上皮细

胞。Nagato⁷认为在大鼠腮腺腺泡周围没有肌上皮细胞这点与本文结果不一致,本实验观察到大鼠腮腺腺泡周围有清晰的肌上皮细胞。至于兔的腮腺、小白鼠的颌下腺检查未见到HHF35的阳性反应细胞,是由于它们的肌上皮细胞不与HHF35反应或者是它们本身就缺乏肌上皮,还有待于进一步研究。

由于肌上皮细胞主要附着在腺泡,因此它在腺体中的平均体积比不仅与它本身的大小、分布有关,还与腺泡的多少有关。在腮腺中,除狗和猴外,其它动物的肌上皮细胞平均体积比与人相似;在颌下腺中,猴和羊的肌上皮细胞平均体积比与人相似;在舌下腺,猴、猪和狗的肌上皮细胞平均体积比与人相似。

肌上皮细胞的发育与许多因素有关⁸,而各种动物涎腺中的腺泡类型、分泌物是不同的,那么,腺泡分泌物特性的不同是否影响肌上皮细胞的发育程度?Nagato认为,腺体分泌物的物理性能是其中影响因素之一,粘稠性分泌物的腺体中肌上皮细胞的发育要好于水样分泌物的腺体;同时他发现泪腺中肌上皮细胞的胞浆突起较窄,覆盖腺泡面积较少,而舌下腺中肌上皮细胞胞体大、突起宽、覆盖较大的细胞面积。本实验结果与此一致,粘液腺中肌上皮细胞的平均体积比普遍大于浆液腺和浆粘液腺,但是这种差别在啮齿类动物不明显,这说明肌上皮细胞的发育与物种有密切的关系。推测可能是由于同样类型的腺体在不同动物中其分泌物的性能仍存在着差异。

本实验发现了在不同动物中肌上皮细胞的发育存在差异,这种差别与腺体分泌物的性能有一定关系。但是,肌上皮细胞发育的差别是否由细胞大小或数目的不同引起还需要进一步研究。

4 参考文献

- 1 Riva A, Serra GP, Proto E, et al The myoepithelial and basal cells of ducts of human major salivary glands: SEM study. Arch Histol Cytol, 1992, 55(suppl): 115~ 124
- 2 Riva A, Valentino L, Lanini MS, et al 3D-structure of cells of human salivary glands as seen by SEM. Microsc Res Tech, 1993, 26(1): 5~ 20
- 3 Lee SK, Hwang JO, Chi JG Prenatal development of myoepithelial cell of human submandibular gland observed by immunohistochemistry of smooth muscle actin and rhodami

- nephalliodin fluorescence Pathol Res Pract, 1993, 189 (3): 332~ 341
- 4 Redman RS. Myoepithelium of Salivary glands Microsc Res Tech, 1994, 27(1): 25~ 45
- 5 Norberg L, Dardick I, Leung R, et al. Immunogold localization of actin and cytokeratin filaments in myoepithelium of human parotid salivary gland. Ultrastruct Pathol, 1992, 16(5): 555~ 568
- 6 Zarbo RJ, Bacchi CE, Gowen AM. Muscle-specific protein expression in salivary glands and pleomorphic adenomas: an immunocytochemical study with biochemical confirmation. Mod Pathol, 1991, 4(5): 621~ 626
- 7 Nagato T, Yoshida H, Yoshida A, et al. A scanning electron microscope study of myoepithelial cells in exocrine glands. Cell Tissue Res, 1980, 209: 1~ 10
- 8 Lopez JM, Alvarez-Uria M. A morphometric and fine structural study of the myoepithelial cells in the hamster Harderian gland. J Submicrosc Cytol Pathol, 1993, 25 (2): 223~ 232
- (1998-09-07 收稿)

An Immunohistochemical and Morphometric Study of Myoepithelial Cells in Salivary Glands of Human and Experimental Animals

Ma Wenbo, He Zhixiu, Lu Yong, et al

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

Objective: To investigate whether differences exist between myoepithelial cells of human beings and experimental animals. **Methods:** Myoepithelial cells (MECs) of 8 kinds of experimental animals were studied immunohistochemically using muscle-actin-specific monoclonal antibody HHF35 and morphometrically using image-analysis. **Results:** There were differences in mean proportional volumes of MECs between human beings and experimental animals. The mean proportional volumes of mucous acini were more than those of serous acini except salivary glands of rodents. **Conclusion:** The mean proportional volume of MECs in salivary glands associates with animal species and secretion of salivary glands.

Key words: experimental animal myoepithelial cell immunohistochemistry

(上接第 104 页)

The Influence of Millard-lip-repair on Maxillary Growth: An Experiment Study in Rabbits

Shi Bin, Long Jie, Wang Qing

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

Objective: To study the effects of the cheiloplasty (Millard rotation-advancement lip-repair) on the maxillary growth. **Methods:** Thirty Japanese white rabbits were randomly divided into three groups, Group I (unoperated control group), Group II (unrepaired control group) and Group III (repaired with Millard-lip-repair). All the animals were sacrificed and measured on the clean skulls directly at 26 weeks postoperatively (30 weeks old). **Results:** It was found that Group III (Millard repair group) had the anteroposterior growth disturbance of maxilla than Group I and Group II, while the height of maxilla and width of posterior dental arch were larger than that of the two control groups for compensation, and the nasal septum of Group III deviated to the cleft side. **Conclusion:** Millard-rotation-advancement lip-repair operation has inhibitory effects on maxillary growth.

Key words: cleft lip Millard-lip-repair maxillary growth