

· 老年人消化系统疾病专栏 ·

## 人体胃底腺组织学和壁细胞超微结构的增龄变化研究

郑松柏<sup>\*</sup>, 庄艳, 肖立, 项平, 季大年, 张伟, 殷于磊, 陈敏敏

(复旦大学附属华东医院老年医学科, 上海 200040)

**【摘要】目的** 研究人体胃底腺组织学及壁细胞超微结构的增龄变化。**方法** 选择拥有“相对正常胃”的50例受试者作为研究对象, 包括中青年组(20~59岁)19例和老年组( $\geq 60$ 岁)31例, 其中老年组含60~69岁组11例, 70~79岁组10例,  $\geq 80$ 岁组10例。在光学显微镜下测定各组固有膜厚度(从上皮到黏膜肌层以上, 不包括黏膜肌层)、胃底腺实质比和壁细胞比例, 对比研究各组胃底腺形态, 在电子显微镜下对比研究各组壁细胞超微结构。**结果** 光学显微镜下观察各组固有膜腺体的形态和细胞的分布无明显差异, 但是定量测定老年组固有膜的厚度( $892 \pm 172$ )  $\mu\text{m}$ 明显低于中青年组( $1014 \pm 203$ )  $\mu\text{m}$  ( $P < 0.05$ ); 老年组胃底腺实质比例( $83 \pm 10$ )%明显高于中青年组( $80 \pm 7$ )% ( $P < 0.05$ )。壁细胞细胞数目占胃底腺细胞总数比例在各组间差异没有统计学意义。电子显微镜下观察各组胃壁细胞及与泌酸功能相关的细胞器形态分布无明显差异, 定量测定线粒体面积分数, 中青年组和老年组分别为( $48 \pm 8$ )%和( $51 \pm 8$ )%, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 管泡系统面积分数, 中青年组和老年组分别为( $14 \pm 4$ )%和( $12 \pm 5$ )%, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 各年龄组增龄变化亦无统计学差异。**结论** 胃底腺和壁细胞在数量和形态上没有发生明显退化, 为阐明老年人仍有良好的泌酸功能提供了一定的科学依据。

**【关键词】** 组织学; 壁细胞, 胃; 超微结构; 衰老

**【中图分类号】** R592

**【文献标识码】** A

**【DOI】** 10.3724/SP.J.1264.2012.00082

## Age-associated histological changes of fundic gland and ultrastructure of gastric parietal cells

ZHENG Songbai<sup>\*</sup>, ZHUANG Yan, XIAO Li, XIANG Ping, JI Danian, ZHANG Wei, YIN Yulei, CHEN Minmin

(Department of Geriatrics, Huadong Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the age-associated histological changes of fundic gland and ultrastructure of gastric parietal cells. **Methods** Fifty subjects with a relative normal stomach were enrolled including 19 cases in younger group (aged 20-59) and 31 cases in elder group ( $\geq 60$  years). In the elder group, there were 11 cases aged from 60 to 69, 10 cases from 70 to 79 and 10 cases aged above 80. The histology and morphology of fundic gland was observed under a light microscope, including the lamina propria thickness (from the epithelium to the muscularis mucosa, without the muscularis mucosa) and the Np/Na ratio (Np means the number of gastric parietal cell, Na means the number of all cells in fundic gland), and the ultrastructure of gastric parietal cells was detected by electron microscope. **Results** No significant difference was showed in the histology and morphology of fundic gland. The average ratio of Np to Na did not differ between younger group and elder group. However, the thickness of lamina propria in elderly group ( $892 \pm 172$ )  $\mu\text{m}$  was significantly lower than that in younger group ( $1014 \pm 203$ )  $\mu\text{m}$  ( $P < 0.05$ ), while the average ratio Ap to Af (Ap means the area of parenchyma, Af means the area of high-power field) of elderly group ( $83 \pm 11$ )% was higher than that of younger group ( $80 \pm 7$ )% ( $P < 0.05$ ). Furthermore, no significant difference was showed in the morphology of gastric parietal cell and acid-secretion-associated organelles among all the groups. Both the average ratio of Am to Ac (Am means the area of mitochondria, Ac means the area of cytoplasm of gastric parietal cell) and At to Ac (At means the area of secretory canaliculi and tubulovesicular system) do not associated with aging as there was no statistically significant difference between two groups [( $48 \pm 8$ )% vs ( $51 \pm 8$ )%,  $P > 0.05$ ; ( $14 \pm 4$ )% vs ( $12 \pm 5$ )%,  $P > 0.05$ ]. **Conclusion** The histology and morphology of acid-secretion tissue have no significant degeneration in the elderly. The results provide a scientific basis to clarify the well acid secretory function in the elderly.

收稿日期: 2012-03-08; 修回日期: 2012-04-01

基金项目: 上海市科委生物医药—医学引导科技项目资助(08411960100)

通讯作者: 郑松柏, Tel: 021-62483180-63501, E-mail: fdhuadong@163.com

【Key words】 histology; parietal cell, gastric; ultrastructure; aging

This work was supported by Shanghai Biological Medicine Fund (08411960100)

组织器官的衰老或老化(或称增龄变化)规律对阐明老年病发病机制、指导老年病合理诊治具有重要意义。衰老一般表现为组织结构退化、器官功能减退,因此,过去一直认为胃酸的分泌也是随增龄而下降的,即老年人是缺少胃酸的。但自20世纪90年代初起,陆续有学者对健康老年人的胃酸进行了深入研究,发现并非如此,研究表明,健康老年人的胃酸分泌与中青年相当。本研究试图通过研究“相对正常胃”的胃底腺组织学和壁细胞超微结构增龄变化,进一步阐明老年人仍有良好的泌酸功能这一事实。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

2010年5月至2010年9月,因消化不良症状在复旦大学附属华东医院拟行胃镜检查的并符合下列条件的患者列为研究对象:(1)既往无胃十二指肠溃疡、胃十二指肠恶性肿瘤、胃泌素瘤以及胃十二指肠手术等病史;(2)胃镜检查前2周内未服用过质子泵抑制剂及H<sub>2</sub>受体拮抗剂、抗血小板药物(阿司匹林、氯吡格雷)、抗凝药(肝素、华法林等)、糖皮质激素和其他非甾体抗炎药物;(3)吸烟每天≤5支,每日饮酒折合酒精量≤25g;(4)胃镜检查前2周内未用人参、螺旋藻等保健品;(5)胃镜下无明显充血、水肿、糜烂及溃疡(包括活动期、愈合期和疤痕期)等病变且经常规活检病理证实无活动性炎症、肠化、癌前病变(异型增生);(6)胃镜下活检胃黏膜标本Giemsa染色、快速尿素酶试验及<sup>13</sup>C尿素呼气试验幽门螺杆菌检测结果均为阴性;(7)胃体黏膜组织学检查无明显炎症。符合上述条件者共有50例,按年龄分组,其中中青年组(20~59岁)19例,老年组(≥60岁)31例。老年组中包括60~69岁组11例,70~79岁组10例,≥80岁组10例。

### 1.2 方法

1.2.1 取材 胃镜检查前1天晚上20:00后禁食、禁饮,当日上午7:00至8:30行胃镜检查。经仔细观察符合前述内镜下入选条件后,在胃镜下活检胃体和胃窦黏膜各2块,胃窦2块取自距幽门2~

3cm处的大弯和小弯各1块,胃体2块取自距贲门8cm处的大弯(约胃体大弯中上部),大小约2mm×2mm,深达黏膜肌层。胃窦2块标本做常规病理检查,胃体1块标本做常规病理组织学检查,另1块胃体标本做电子显微镜检查。

1.2.2 光学显微镜标本制作及观察 活检标本置10%中性缓冲福尔马林固定8h,经梯度乙醇脱水,石蜡包埋后冷却,组织切片机切成4μm石蜡切片,HE染色,二甲苯脱蜡,树脂封片,将其在zeiss显微镜Scope.A1下观察。同时测定以下数值:(1)低倍视野(×100)下采集图像,用i-Solution<sup>TM</sup>软件系统,测定固有膜厚度,从上皮到黏膜肌层以上(不包括黏膜肌层),单位μm,每个标本取不同部位3个,计算平均值,同一软件系统测出固有膜内腺体实质占固有膜的面积百分比;(2)高倍视野(×400)下采集图像,随机观察5个胃底腺,计算每个胃底腺中含壁细胞个数和细胞总数的比例,然后取平均值。

1.2.3 电子显微镜标本制作及观察 胃镜活检标本置2.5%戊二醛电镜固定液4℃2h,0.1mol/L磷酸缓冲液漂洗15min×3次,用1%OsO<sub>4</sub>后固定1h,接着0.1mol/L磷酸缓冲液漂洗15min×3次,50%、70%、90%乙醇溶液,90%乙醇和90%丙酮混合液,90%丙酮溶液,100%丙酮室温下各脱水15min×3次。纯丙酮+618环氧树脂包埋剂(2:1)混合室温浸透3h,纯丙酮+618环氧树脂包埋剂(1:2)混合室温浸透过夜,618环氧树脂包埋剂37℃浸透2h。LKB-1型超薄切片机(瑞典Leica)切片,切片厚度50nm。枸橼酸铅和醋酸双氧铀双染色。CM120透射电子显微镜观察并拍照。每个标本随机选取3个壁细胞, SigmaScan Pro 5图像分析软件分别测定壁细胞细胞质面积、线粒体面积和管泡系统面积,计算出线粒体面积分数和管泡系统面积分数,取其平均值。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS16.0软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数±标准差表示。多组间比较采用单因素方差分析或Kruskal-Wallis秩和检验,两组间采用独立样本t检验或Kruskal-Wallis秩和检验。P值均为

双侧检验,且  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胃底腺组织学的增龄变化

共收集符合前述要求的标本 50 例, 常规病理检查结果显示胃窦部多为慢性非萎缩性胃炎, 少数为慢性萎缩性胃炎。光学显微镜下胃体黏膜可看到固有膜组织, 表面小凹长度约为固有膜的 1/4, 其下为排列紧密的胃底腺体。在胃底腺的底部主要由分泌胃蛋白酶原的主细胞组成, 主细胞呈立方状, 细胞核位于基底部, 可见一至多个小核仁, 胞质呈淡嗜碱性颗粒状。腺体的峡部主要含有略呈三角状、基部位于基底膜的壁细胞, 细胞核位于中央, 染色质均匀, 胞质嗜酸性

颗粒状。而在腺体的颈部是由主细胞、壁细胞和颈粘液细胞混合组成。在各年龄组, 固有膜腺体的形态和细胞的分布无明显差异。在固有膜之间是少量血管纤维间质, 散在少量淋巴细胞 (图 1)。

所测各年龄组的固有膜厚度、腺体实质比及壁细胞比例见表 1。各年龄组间固有膜平均厚度采用单因素方差分析,  $F = 2.639$ ,  $P = 0.061$ , 差异无统计学意义。各年龄组间胃底腺实质比例均值采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,  $Chi-square = 8.752$ ,  $P = 0.033$ , 认为各组在分布上不相同, 60~69 岁组和  $\geq 80$  岁组实质比较高。各年龄组间壁细胞细胞数目占胃底腺细胞总数比例均值采用单因素方差分析,  $F = 1.066$ ,  $P = 0.373$ , 差异无统计学意义。

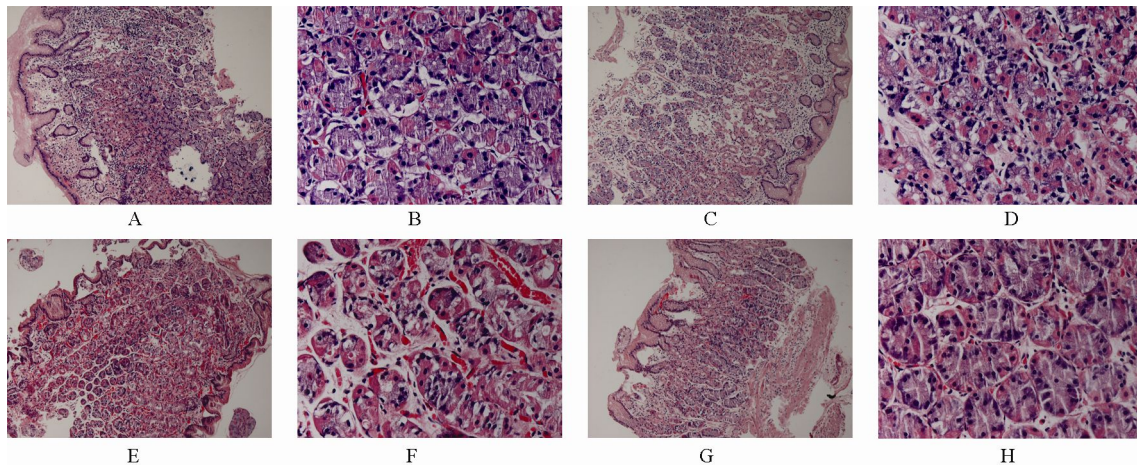


图1 各年龄组胃体黏膜显微图片

Figure 1 Microphotographs of gastric mucosal sections from gastric corpus

A: 中青年组 (HE  $\times 100$ ); B: 中青年组 (HE  $\times 400$ ); C: 60~69 岁组 (HE  $\times 100$ ); D: 60~69 岁组 (HE  $\times 400$ ); E: 70~79 岁组 (HE  $\times 100$ ); F: 70~79 岁组 (HE  $\times 400$ ); G:  $\geq 80$  岁组 (HE  $\times 100$ ); H:  $\geq 80$  岁组 (HE  $\times 400$ )

表 1 各年龄组的固有膜厚度、腺体实质比及壁细胞比例比较

Table 1 Comparison of the lamina propria thickness, average ratio of Np to Na and Ap to Af among four groups ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别           | n  | 固有膜厚度( $\mu\text{m}$ ) | 实质比(%)*     | 壁细胞比例(%)    |
|--------------|----|------------------------|-------------|-------------|
| 20~59岁组      | 19 | 1014 $\pm$ 203         | 80 $\pm$ 7  | 55 $\pm$ 14 |
| 60~69岁组      | 11 | 944 $\pm$ 191          | 86 $\pm$ 4  | 57 $\pm$ 15 |
| 70~79岁组      | 10 | 910 $\pm$ 181          | 78 $\pm$ 12 | 51 $\pm$ 14 |
| $\geq 80$ 岁组 | 10 | 816 $\pm$ 125          | 83 $\pm$ 13 | 63 $\pm$ 18 |

注: 在不同年龄组间两两比较, \* $P < 0.05$

中青年组和老年组固有膜平均厚度为(1014  $\pm$  203) $\mu\text{m}$  和(892  $\pm$  172) $\mu\text{m}$ , 两组间采用独立  $t$  检验,  $t = 2.262$ ,  $P = 0.022$ , 提示中青年组固有膜较老年组增厚。中青年组胃底腺实质比例均值为(80  $\pm$  7)%, 老年组为(83  $\pm$  10)%, 两组间采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,  $z = -1.969$ ,  $P = 0.049$ , 老年组略高于中青年组。中青年组壁细胞细胞数目占胃底腺细胞总数比例均值为(55  $\pm$  14)%, 老年组为(57  $\pm$  16)%, 两组间采用独立  $t$  检验,  $t = -0.425$ ,  $P = 0.673$ , 差异无统计学意义。

### 2.2 电子显微镜下壁细胞超微结构的增龄变化

电子显微镜制片成功的有 35 例, 其中青年组 (20~59 岁组) 11 例, 老年组 ( $\geq 60$  岁) 24 例。老年组中包括 60~69 岁组 8 例, 70~79 岁组 8 例,  $\geq 80$  岁组 8 例。透射电子显微镜下可以观察到胃壁细胞体积大, 核圆位于中央。细胞质内含丰富的短杆状线粒体, 嵴细密, 基质中等电子密度, 有较多小泡散在分布, 核周可见分泌管。可见静止期和分泌期两种细胞。静止期细胞分泌小管表面光滑、少微绒毛, 微管泡系

统发达;而分泌期则微绒毛密集管腔相对狭窄,微管泡系统的管泡数下降。各组壁细胞的超微形态未见明显差异,但中青年组的壁细胞中可见到髓样体(图2A),而在老年组中较少见髓样体,可见到大量的空泡(图2B,C,D),尤其在 $\geq 80$ 岁组中,8例中有6例可以看到多个面积巨大的空泡,最大直径为 $3.5\mu\text{m}$ 。

各年龄组所测线粒体面积分数和管泡系统面积分数比较见表2,增龄变化趋势见图3。各年龄组间线粒体面积分数均值采用单因素方差分析,  $F = 2.307$ ,  $P = 0.096$ , 差异无统计学意义。各年龄组间管泡系统面积分数均值采用单因素方差分析,  $F = 0.622$ ,  $P = 0.606$ , 差异无统计学意义。

中青年组线粒体面积分数均值为 $(48 \pm 8)\%$ ,老年组为 $(51 \pm 8)\%$ ,两组间采用独立  $t$  检验,  $t = -0.775$ ,  $P = 0.444$ , 差异无统计学意义。中青年组管泡系统面积分数均值为 $(14 \pm 4)\%$ ,老年组为 $(12 \pm 5)\%$ ,两组间采用独立  $t$  检验,  $t = 0.984$ ,  $P = 0.332$ , 差异无统计学意义。

### 3 讨论

人在衰老过程中不可避免的要受到环境因素的影响,所以,为控制环境因素的影响,既往关于老化的研究均以实验动物为载体,但是动物不能完全代表人体的情况,故本研究在收集研究对象时,尽量排除了对泌酸功能可能产生影响的各因素(如幽门螺杆菌感染,服用抑酸剂,既往有胃十二指肠病史等),试图以“正常胃”为研究对象,研究人体胃泌酸结构的增龄性改变。按国内的60岁以上为老年人的定义分为老年组和中青年组。同时,因为老化是个渐进的过程,为了更好地研究随龄变化,又分成了20~59岁组,60~69岁组,70~79岁组, $\geq 80$ 岁组。

经过近20年的国内外研究发现,衰老对泌酸功能的影响并不明显,80%~90%的老年人泌酸能力与中青年人相当,具有良好的酸化胃内容物的能力,10%~20%的老年人存在低胃酸,主要是由严重的

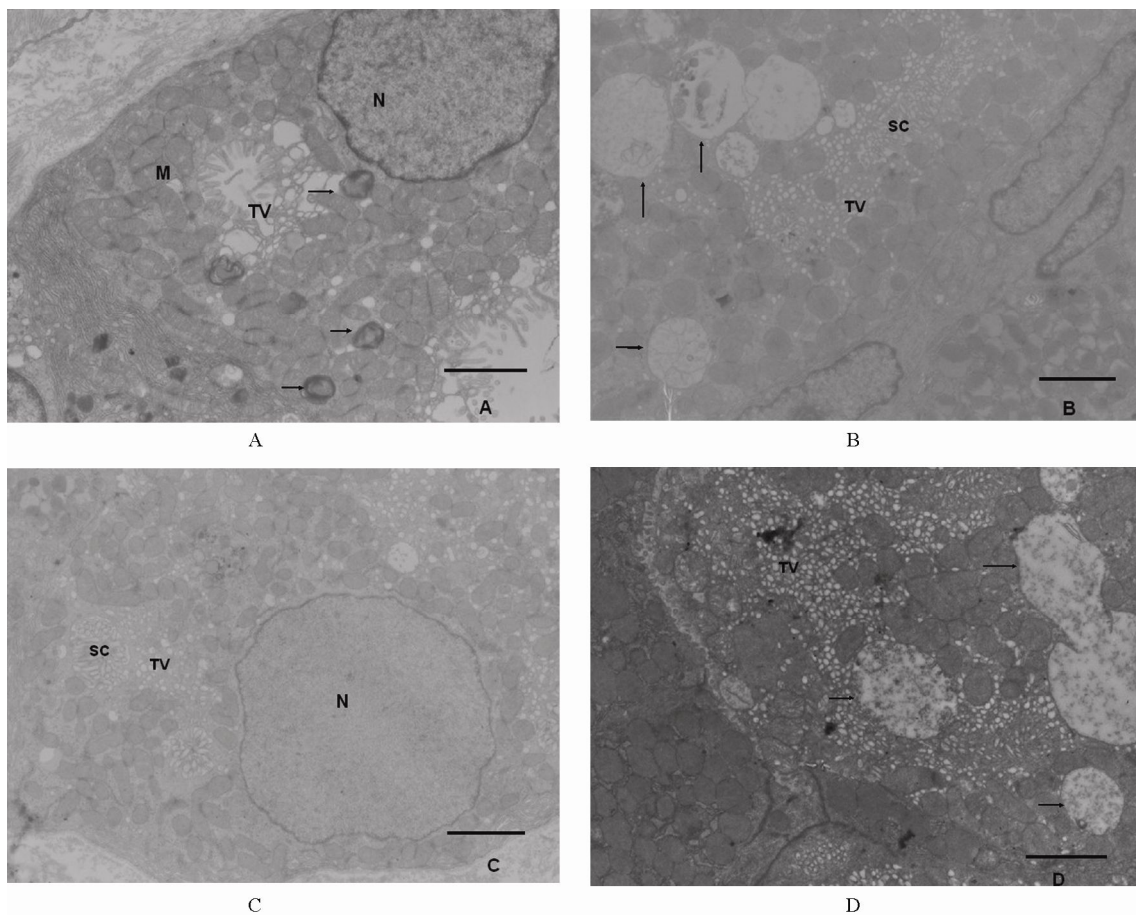


图2 各年龄组胃体黏膜显微图片

Figure 2 Transmission electron microphotographs of gastric parietal cell

A: 电镜下1位46岁男性的胃壁细胞分泌期的超微结构,可见到多个髓样体(箭头指向处); B: 电镜下1位66岁男性的胃壁细胞静止期的超微结构,可见到多个巨大的空泡(箭头指向处); C: 电镜下1位75岁男性胃壁细胞静止期的超微结构; D: 电镜下1位86岁男性的胃壁细胞静止期的超微结构,可见到多个巨大的空泡(箭头指向处); N: 细胞核; M: 线粒体; SC: 分泌小管; TV: 微管泡系统. 标尺 =  $2\mu\text{m}$

表2 各年龄组的线粒体面积分数和管泡系统面积分数比较  
Table 2 Comparison of the average ratio of Am to Ac and At to Ac among four groups (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | n  | 线粒体面积分数 | 管泡系统面积分数 |
|---------|----|---------|----------|
| 20~59岁组 | 11 | 48 ± 8  | 14 ± 4   |
| 60~69岁组 | 8  | 51 ± 7  | 12 ± 5   |
| 70~79岁组 | 8  | 46 ± 7  | 13 ± 5   |
| ≥80岁组   | 8  | 55 ± 7  | 11 ± 4   |

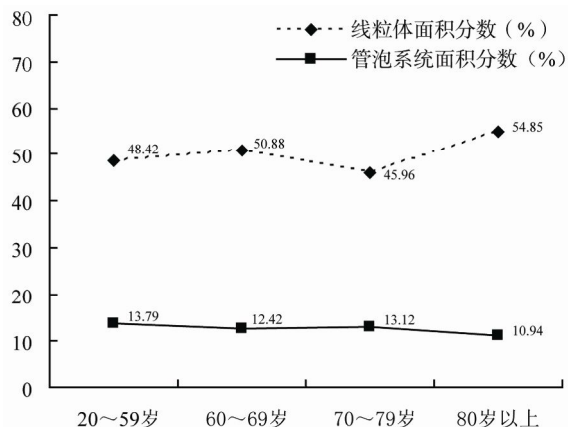


图3 各年龄组的线粒体面积分数和管泡系统面积分数的增龄变化趋势

Figure 3 Tendency of the average ratio of Am to Ac and At to Ac according to age

萎缩性胃体胃炎或幽门螺杆菌感染所致<sup>[1-3]</sup>。结构是功能的基础,胃泌酸功能的载体主要是胃底腺,主要分布于胃体和胃底,腺体内含有具有分泌 HCl 功能的壁细胞。壁细胞有逆 250 万倍梯度分泌 H<sup>+</sup> 的能力,其泌酸功能与数量、形态学改变相关<sup>[4,5]</sup>。

一般认为,正常的泌酸功能有赖于正常形态、数量的胃底腺和壁细胞。Majumdar 等<sup>[6]</sup>报道 24 月龄的大鼠较 4 月龄鼠的胃黏膜厚度高,但腺体高度降低 32%。Farinati 等<sup>[7]</sup>等研究正常人的胃黏膜活检标本,发现随着年龄增加,胃体壁细胞数量增加。本研究从光学显微镜下定性观察,见不同年龄组胃底腺的形态和细胞的分布均无明显差异,定量测定发现老年组固有膜厚度低于中青年组 ( $P = 0.022$ ),但老年组胃底腺实质比例较中青年组略增多 ( $P = 0.049$ ),壁细胞比例在各年龄组之间没有显著差异 ( $P = 0.373$ )。固有膜主要是黏膜中的上皮和固有层,完全包含了胃底腺,可以认为老年组的胃底腺厚度下降,同时由于老年组胃底腺实质比例增高,壁细胞数目并未减少,与以往报道相仿,所以从组织形态结构上可支持正常老年人仍有良好的泌酸功能这一现象。

在超微结构中,壁细胞的管泡系统是承载泌酸功能的主要细胞器,是由两种特征性的质膜系统构成,一种由壁细胞的腔面质膜向细胞内凹陷、折叠而形成特殊网管结构,称为分泌小管,常见于分泌期。另一种是由滑面内质网和囊泡状膜性结构组成的管状和

泡状的管泡结构,常见于静止期。Ogata 等<sup>[8]</sup>对静止状态和四肽胃泌素刺激状态下的大鼠胃壁细胞质膜系统进行研究,在扫描电镜下清晰地观察到管泡膜与小管膜之间的连结,证实了两种膜系统之间的联系。泌酸功能的实现,能量供给必不可少,线粒体是细胞能量工厂,是细胞内氧化磷酸化和形成 ATP 的主要场所,其数量与代谢活动相关。在本研究中发现这两种细胞器在形态和数量上未见随龄变化 ( $P > 0.05$ ),从壁细胞超微结构上支持正常老年人具有良好的泌酸功能。此外,在壁细胞超微结构的观察中发现老年组尤其是 ≥80 岁组中有大量空泡,空泡可能是初级溶酶体与多个吞饮小泡融合而成,常在细胞受损时出现,体现了老年人的壁细胞容易受损的特点,有文献报道<sup>[9]</sup>老化的胃黏膜对损伤的修复能力下降,使得损伤时间延长,可能是空泡增多的原因,也可能是壁细胞老化的标志之一,有待进一步证实。

总之,通过对“正常胃”胃底腺组织学和壁细胞超微结构的增龄变化的初步研究表明,胃底腺和壁细胞在数量和形态上没有发生明显退化,为阐明老年人仍有良好的泌酸功能提供了一定的科学依据。

【参考文献】

- [1] Hurwitz A, Brady DA, Schaal SE, et al. Gastric acidity in older adults[J]. JAMA, 1997, 278(8): 659-662.
- [2] Nakamura K, Ogoshi K, Makuuchi H. Influence of aging, gastric mucosal atrophy and dietary habits on gastric secretion[J]. Hepatogastroenterology, 2006, 53(70): 624-628.
- [3] 郑松柏, 项平, 徐富星, 等. 空腹胃液量及胃内酸度的增龄变化[J]. 中华老年医学杂志, 2008, 27(4): 283-284.
- [4] 徐远溪, 王志荣, 陈锡美. 胃黏膜壁细胞研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(6): 1397-1401.
- [5] Joseph IM, Zavros Y, Merchant JL, et al. A model for integrative study of human gastric acid secretion[J]. J Appl Physiol, 2003, 94(4): 1602-1618.
- [6] Majumdar AP, Jasti S, Hatfield JS, et al. Morphological and biochemical changes in gastric mucosa of aged rats[J]. Dig Dis Sci, 1990, 35(11): 1364-1370.
- [7] Farinati F, Formentini S, Della Libera G, et al. Changes in parietal and mucous cell mass in the gastric mucosa of normal subjects with age: a morphometric study[J]. Gerontology, 1993, 39(3): 146-151.
- [8] Ogata T, Yamasaki Y. Morphological studies on the translocation of tubulovesicular system toward the intracellular canaliculus during stimulation of the gastric parietal cell[J]. Microsc Res Tech, 2000, 48(5): 282-292.
- [9] Majumdar AP. Regulation of gastrointestinal mucosal growth during aging[J]. J Physiol Pharmacol, 2003, 54 (Suppl 4): 143-154.

(编辑: 周宇红)