

Cajal 间质细胞在中华鳖肠道的分布差异和超微特征

包慧君^{1,2} 王 帅¹ 刘 仪¹ 杨 平¹ 陈秋生¹

(1. 南京农业大学动物医学院, 南京 210095; 2. 扬州大学兽医学院, 扬州 225009)

THE DISTRIBUTIONAL DIFFERENCE AND ULTRASTRUCTURE OF INTERSTITIAL CELLS OF CAJAL IN THE INTESTINAL TRACT OF CHINESE SOFT-SHELLED TURTLE, *PELODISEUS SINENSIS*

BAO Hui-Jun^{1,2}, WANG Shuai¹, LIU Yi¹, YANG Ping¹, and CHEN Qiu-Sheng¹

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009 China)

关键词: 中华鳖; 肠道; Cajal 间质细胞; c-Kit; 免疫组化; 超微结构

Key words: Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiseus sinensis*); Intestine; Interstitial cells of Cajal; c-Kit; Immunocytochemistry; Ultrastructure

中图分类号: Q174 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2012)02-0368-07

Cajal 间质细胞 (interstitial cells of Cajal, ICC)是由西班牙著名神经解剖学家 Cajal, 运用甲基蓝和嗜银染色法, 在哺乳动物胃肠道观察到的一种特殊细胞, 它非神经元, 也不是平滑肌细胞, 而是一种与神经系统有特殊关系的间质细胞^[1]。由于 ICC 细胞在正常肠道蠕动中起着重要的作用, 能够调控肠道运动^[2], 可以作为胃肠道的起搏细胞, 产生和传递慢波^[3, 4], 还参与胃肠道神经信息的传递^[5], 受到越来越多的关注。

研究表明, c-Kit 抗体对 ICC 的鉴定具有较高的特异性^[6], 在肠道内仅标记肥大细胞和 ICC 细胞。目前许多学者运用免疫组化技术, 探讨动物消化道内 ICC 的分布特征, 哺乳动物资料丰富^[7-12], 禽类^[13]和鱼类^[14]也有一些报道。关于胃肠道 ICC 的超微结构研究, 集中于哺乳动物^[15-18], 禽类^[19]、两栖类^[20]资料逐渐增多。爬行动物仅见蜥蜴(*Podarcis hispanica*)^[21-23]消化道 ICC 超微结构的初步观察。到目前为止, 未见资料报道运用免疫组织化学方法研究爬行动物肠道 ICC 细胞的报道。本文以中华鳖为研究对象, 运用免疫组化和透射电镜方法, 研究其肠道内 ICC 的分布和超微结构特征, 为进一步探讨和研究其

肠道的运动及其与 ICC 相关的肠动力性紊乱性疾病的发病机制提供基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 取材

2009年10月, 10只健康成年鳖, 雌雄兼有, 购自江苏省南京市下关水产市场。5只鳖颈部放血, 迅速剖开腹甲, 暴露和采集小肠前段、中段、后段, 大肠前段和后段, PBS冲洗后, 立即固定于10%中性甲醛(4℃)。

1.2 试剂

一抗为 c-Kit 兔多克隆抗体, 即用型 SABC、DAB 均购自武汉博士德生物有限公司。

1.3 方法

组织切片的制作 将组织块从10%中性甲醛中取出, 自来水冲洗, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋^[24]。常规石蜡切片, 每一组织蜡块连续切片3张, 总共连续切片60张, 片厚7 μm, 依次编号为1、2、3。第一张切片 HE 染色, 第二张切片 c-Kit 免疫组化染色, 第三张切片甲苯胺蓝染色。

收稿日期: 2011-02-16; 修订日期: 2011-12-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30871833, 31172282)和南京农业大学 SRT 项目资助

作者简介: 包慧君(1981—), 女, 江苏扬州人; 博士; 主要从事动物组织学研究。E-mail: baohuijun2400@yahoo.com.cn

通讯作者: 陈秋生, E-mail: chenqsh305@yahoo.com.cn

免疫细胞化学反应 常规石蜡切片脱蜡至水, c-Kit 免疫组织化学 SABC 染色。应用 c-Kit 兔多克隆抗体为第一抗血清, 稀释度为 1:100。以 PBS 代替一抗为阴性对照, 其余步骤与免疫组织化学过程 SABC 法相同。

1.4 电镜观察

另外 5 只鳖, 取消化道上述各段的组织块, 每一段组织块包括黏膜、黏膜下层、肌层和浆膜层, 每段各层分别取 5 个样品。大小为 1 mm^3 , 2.5%戊二醛固定, 1%锇酸后固定, 梯度酒精脱水, 丙酮置换, Epon812 包埋。LKB 超薄切片机首先半薄切片, 定位后再行超薄切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, JEM2100CX II 型透射电镜观察并拍照。

2 结果

2.1 肠道组织结构

中华鳖肠道管壁从内向外依次为黏膜、黏膜下层、肌层和浆膜(图版 I-1)。黏膜层包括黏膜上皮和固有膜。位于绒毛下面的疏松结缔组织为黏膜下层。肌层包括内环外纵两层平滑肌。小肠很长, 约占肠管总长的 $6/7$, 管腔内有一个贯穿全长的纵形皱襞(图版 I-2), 由黏膜上皮和固有膜共同组成。大肠很短, 只占肠管总长的 $1/7$ 。小肠和大肠固有膜和黏膜下层都未见腺体。

2.2 c-Kit⁺肥大细胞

c-Kit⁺肥大细胞呈圆形或椭圆形, 甲苯胺蓝染色, 这些细胞呈现异染性, 胞质为紫红色。他们主要分布于黏膜下层(图版 I-3), 在黏膜下层和环肌层之间、环肌层和纵肌层之间、环肌层内、浆膜内也有少量阳性细胞分布。阴性对照的组织, 无此类阳性细胞。

2.3 c-Kit⁺ICC 细胞

根据 c-Kit⁺ICC 细胞胞质突起的形态, 可分为两种类型: 第一种类型为双极 c-Kit⁺ICC 细胞, 有 2 个突起, 有的长, 有的短或不明显。它们分布于小肠和大肠的黏膜下层和环肌层之间、环肌层内、环肌和纵肌之间、浆膜, 以及大肠的黏膜下层。在黏膜下层和环肌层之间、环肌和纵肌之间双极 c-Kit⁺ICC 细胞的分布密度最高(图版 I-4、5)。第二种类型为星形 c-Kit⁺ICC 细胞, 具有多个长短不一的突起, 仅分布在大肠固有膜。c-Kit⁺ICC 细胞在中华鳖肠道各段的形态和分布位置(表 1)。阴性对照的切片中, 没有发现阳性细胞。

双极 c-Kit⁺ICC 细胞 黏膜下层, 双极 c-Kit⁺ICC 细胞仅分布于大肠, 细胞呈椭圆形, 突起较短, 呈线形散在分布或环绕血管周围(图版 I-6)。在黏膜下层和环肌之间, 环肌层内, 环肌和纵肌之间, 双极 c-Kit⁺ICC 细胞分布于小肠和大肠。黏膜下层和环肌之间, 大多数双极 c-Kit⁺ICC 细胞具有 1—2 个长突起, 其胞体和长突起成线形(图版 I-5), 在两层之间形成一不完整的界限。其胞体和突起相间隔排列: 一种阳性细胞胞体在中间, 突起在两

边, 可表示为“突起-胞体-突起”(图版 I-7); 另一种胞体在两侧, 突起在中间: 表示为“胞体-突起-胞体”(图版 I-8)。少数双极 c-Kit⁺ICC 细胞具有 1—2 个短而粗的突起或突起不明显, 它们的分布形式有三种: 一是散在分布或几个胞体聚集在一起呈簇分布(图版 I-9); 二是呈短粗线形分布; 三是围绕血管周围分布, 呈现波浪形(图版 I-10)。在环肌层内, c-Kit⁺ICC 细胞主要有两种分布形式, 第一种围绕在血管周围分布, 第二种与平滑肌细胞平行走向(图版 I-11)。环肌层和纵形肌之间, c-Kit⁺ICC 细胞的分布模式与黏膜下层与环肌层之间的阳性细胞相类似, 有的 c-Kit⁺ICC 胞体及其长突起呈线形分布(图版 I-12); 有的 c-Kit⁺ICC 细胞突起较短, 大多呈现短线形。浆膜层, c-Kit⁺ICC 细胞突起短, 一般单个散在分布, 除小肠中段之外的所有肠道都有此类阳性细胞分布。

星形 c-Kit⁺ICC 细胞 星形 c-Kit⁺ICC 细胞仅分布于大肠固有膜内, 细胞呈多角形, 突起大小不一, 数目不定, 形态不规则。其阳性细胞胞质突起有 1—2 个次级突起, 突起之间相互交织, 形成致密的网络状(图版 I-6)。有时, 星形 c-Kit⁺ICC 细胞和突起能够充满整个绒毛, 有的细胞突起甚至能一直延伸, 与邻近绒毛内的星形 c-Kit⁺ICC 细胞突起相连接。大肠前段和大肠后段的星形 c-Kit⁺ICC 细胞分布模式相同, 但大肠后段的细胞密度高于大肠前段。

2.4 c-Kit 阳性细胞

这类细胞呈椭圆形(图版 I-13), 没有突起, 散在分布于小肠中段和小肠后段黏膜上皮基底部, 甲苯胺蓝染色, 未出现特异性反应。

2.5 ICC 的超微结构

大多数的双极 ICC 细胞分布在黏膜下层和环肌层之间、环肌层内、环肌和纵肌之间。它们具有一个椭圆形的细胞核, 胞质内含有粗面内质网、线粒体、膜内陷空泡和一些细长的突起(图版 II-1), 突起与周围平滑肌细胞伴随存在, 可见缝隙连接。一些双极 ICC 细胞围绕在血管周围, 它们的突起与邻近血管基膜紧密接触(图版 II-2)。还有一些双极 ICC 细胞分布在黏膜下层和环肌之间、环肌和纵肌之间的神经丛周围。细胞与神经丛平行走向, 胞质突起围绕在神经丛周围(图版 II-1), 有时还可见邻近的 ICC 细胞之间胞质突起形成缝隙连接。

星形 ICC 细胞位于大肠固有膜内, 具有不规则的细胞核和突起, 突起相互交织在一起(图版 II-3)。其他的超微结构特征和双极细胞相类似, 胞质内也含有线粒体和粗面内质网。

3 讨论

3.1 c-Kit 阳性细胞

本实验运用兔抗多克隆抗体, 描述了 Kit 蛋白在鳖肠道中的表达和分布情况。目前, 此种多克隆抗体也用来

表 1 c-Kit⁺ICC 细胞在中华鳖肠道的形态和分布位置

Tab. 1 Morphology and localization of c-kit immunoreactive ICCs in the *pelodiscus sinensis* intestine

c-Kit 阳性 Cajal 间质细胞 c-Kit ⁺ ICC	小肠前段 Proximal small intestine	小肠中段 Middle small intestine	小肠后段 Distal small intestine	大肠前段 Proximal large intestine	大肠后段 Distal large intestine
固有膜 Lamina propria				星形细胞, 血管周围 Stellate cells, surround the blood vessel	星形细胞, 血管周围, 呈网络状 Stellate cells, surround the blood vessel, formed a dense meshwork
黏膜下层 Submucosa				双极细胞, 血管周围, 散在分布 Bipolar cell surround the blood vessel scatter	双极细胞, 血管周围, 散在分布 Bipolar cell surround the blood vessel scatter
黏膜下层与环肌之间 Interspace between the submucosa and circular muscle layer	双极细胞, 呈线形, 血管周围, 波浪形, 聚集成簇, 短线型 Bipolar cell linear surround the blood vessel, cluster, short line	双极细胞, 呈线形, 血管周围 Bipolar cell linear surround the blood vessel	双极细胞, 呈线形, 血管周围 Bipolar cell linear surround the blood vessel	双极细胞, 呈线形, 血管周围 Bipolar cell linear surround the blood vessel	双极细胞, 呈线形, 血管周围, 短线形 Bipolar cell linear surround the blood vessel short line
环肌层内 Circular muscle layer	双极细胞, 血管周围, 与平滑肌平行 Bipolar cell surround the blood vessel parallel to the circular muscle layer	双极细胞, 血管周围, 与平滑 肌平行 Bipolar cell surround the blood vessel parallel to the circular muscle layer	双极细胞, 血管周围, 与平滑肌平行 Bipolar cell surround the blood vessel parallel to the circular muscle layer	双极细胞, 血管周围, 与平滑肌平行 Bipolar cell surround the blood vessel parallel to the circular muscle layer	
环肌和纵肌之间 Between the circular and longitudinal layers	双极细胞, 呈线形, 短线形 Bipolar cell linear, short line	双极细胞, 呈线形, 短线形 Bipolar cell linear, short line	双极细胞, 呈线形, 短线形 Bipolar cell linear, short line	双极细胞, 呈线形, 短线形 Bipolar cell linear, short line	双极细胞, 呈线形, 短线形 Bipolar cell linear, short line
浆膜 Serosa	双极细胞, 散在分布 Bipolar cell scatter		双极细胞, 散在分布 Bipolar cell scatter	双极细胞, 散在分布 Bipolar cell scatter	双极细胞, 散在分布 Bipolar cell scatter

检测人^[25]、鼠^[26]、马^[27]、驴子^[28]、牛^[29]、狗^[12]、猫^[12]胃肠道的 ICC 细胞。在本实验中, c-Kit⁺ICC 细胞在中华鳖肠道中的分布位置和形态, 与哺乳动物的研究结果相类似^[30]。以上结果说明, 应用多克隆 c-Kit 抗体检测中华鳖肠道内的 ICC 是可行的。

在本实验中, 发现有一种 c-Kit 阳性细胞散在分布于肠道黏膜上皮基底部, 这些阳性细胞呈椭圆形, 没有突起, 甲苯胺蓝染色无特异性反应。到目前为止, 未见相关资料报道 c-Kit 阳性细胞分布于肠道黏膜上皮。有研究显示, c-Kit 是一种原癌基因, 能够编码 14.5 kD 的络氨酸激酶受体。它作为生长因子受体, 可以表达于多种细胞, 如: 造血干细胞、肥大细胞、上皮内淋巴细胞、生殖细胞、黑素细胞和 ICC^[31]。因此, 推测在本试验中, 分布于黏膜上皮的 c-Kit 阳性细胞可能为上皮内淋巴细胞。但要确定他们是不是淋巴细胞或究竟是哪种淋巴细胞(T 或 B 淋巴细胞), 则需要更加深入的研究。

3.2 ICC 的分布和形态

资料显示, 在哺乳动物^[8, 10, 16, 29, 32]、鸟类^[13, 19]、两栖类^[20]和爬行动物^[21-23]消化道中, ICC 有两种形态: 一是双极细胞, 二是星形或多角形细胞。ICC 分布于哺乳动物肠道的黏膜下层和环肌之间、环肌层内、纵肌层内、环肌和纵肌之间、浆膜^[33, 34]。禽类, ICC 细胞主要位于环肌和纵肌之间^[19], 两栖动物在环肌和纵肌之间、环肌和纵肌层内有 ICC 细胞出现^[20]。有学者研究发现, 爬行动物当中的蜥蜴(*Podarcis hispanica*)的 ICC 位于胃肠道的环肌和纵肌之间、环肌层内、黏膜下层和环肌之间、固有膜^[22]。在本实验中, c-Kit⁺ICC 细胞也存在两种形态: 一是双极细胞, 二是星形细胞。它们的分布位置与资料报道蜥蜴(*Podarcis hispanica*)^[21-23]的 ICC 分布情况基本相同, 除此以外, 中华鳖肠道黏膜下层和浆膜中也发现少量 ICC。以上试验结果提示 ICC 形态在不同动物种类基本相同。ICC 的分布位置, 不同动物种类之间有差异, 本实验所观察的 ICC 在中华鳖的分布情况与爬行动物基本相类似。

3.3 ICC 的功能

胃肠蠕动主要是 ICC 产生慢波所控制, ICC 称为胃肠道的起搏点^[4]。有资料报道, 这些 ICC 主要存在于小肠和胃的环肌和纵肌之间、大肠的黏膜下层和环肌层之间^[35]。在本实验中, ICC 分布于整个肠道的环肌和纵肌之间、黏膜下层和环肌层之间。因此, 推测中华鳖肠道内的 ICC 慢波来源主要存在于两个区域, 一个区域来自环肌和纵肌之间, 而另一个区域则是黏膜下层和环肌之间。

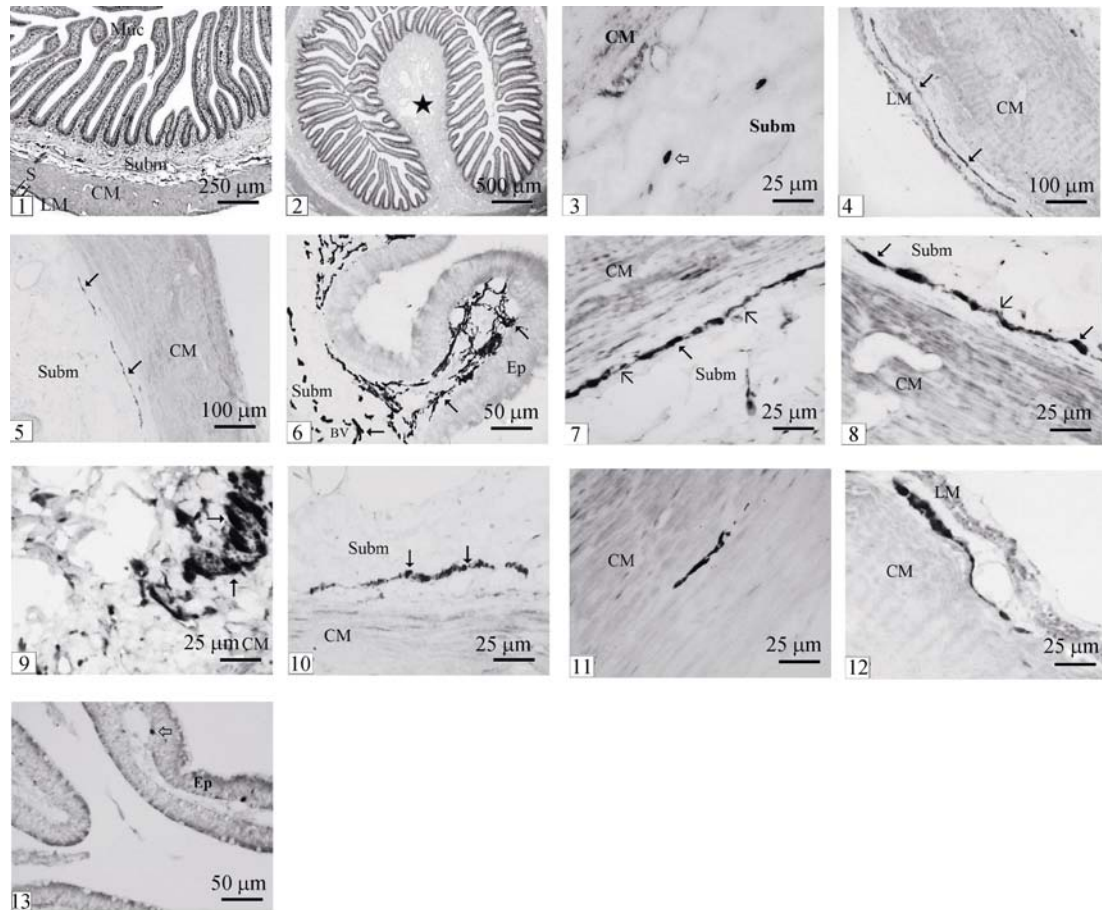
ICC 的超微结构与调节肠道蠕动功能相适应。ICC 含有丰富的线粒体, 说明其功能活跃, 适应其作为肠道起搏细胞的需要; ICC 细胞与 ICC 细胞之间、ICC 细胞与神经纤维之间、ICC 细胞与平滑肌细胞之间形成缝隙连接, 说明其作为神经系统控制肠道平滑肌运动的功能; 胞质内细胞器如粗面内质网等比较丰富, 说明其具有活跃的

合成功能。

参考文献:

- [1] Cajal S R. Texture of the Nervous System of Man and the Vertebrates [M]. Volume 3. Springer-Verlag, Edited by Pasik, Pand Pasik. T. Vienna. 2002, 42
- [2] Wang B, Kunze W A, Zhu Y, *et al.* In situ recording from gut pacemaker cells [J]. *Pflügers Archiv: European journal of physiology*, 2008, **457**(1): 243—251
- [3] Garcia-Lopez P, Garcia-Marin V, Martínez-Murillo R, *et al.* Updating old ideas and recent advances regarding the interstitial cells of Cajal [J]. *Medicinal Research Reviews*, 2009, **61**(2): 154—169
- [4] Hwang S J, Blair P J, Britton F C, *et al.* Expression of anoc-tamin 1/Tmem16a by interstitial cells of cajal is fundamental for slow wave activity in gastrointestinal muscles [J]. *The Journal of Physiology*, 2009, **587**(20): 4887—4904
- [5] Ward S M, Sanders K M. Involvement of intramuscular interstitial cells of Cajal in neuroeffector transmission in the gastrointestinal tract [J]. *The Journal of Physiology*, 2006, **576**(3): 675—682
- [6] Iino S, Horiguchi S, Horiguchi K, *et al.* Interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal musculature of W mutant mice [J]. *Archives of Histology and Cytology*, 2007, **70**(3): 163—173
- [7] Min K W, Sook Seo I. Interstitial cells of Cajal in the human small intestine: immunochemical and ultrastructural study [J]. *Ultrastructural Pathology*, 2003, **27**(2): 67—78
- [8] Lee S E, Wi J S, Min Y I, *et al.* Distribution and three-dimensional appearance of the interstitial cells of Cajal in the rat stomach and duodenum [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2009, **72**(12): 951—956
- [9] Aranishi H, Kunisawa Y, Komuro T. Characterization of interstitial cells of Cajal in the subserosal layer of the guinea-pig colon [J]. *Cell and Tissue Research*, 2009, **335**(2): 323—329
- [10] Junquera C, Martínez-Ciriano C, Castiella T, *et al.* Immuno-histochemical and ultrastructural characteristics of interstitial cells of Cajal in the rabbit duodenum. Presence of a single cilium [J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2007, **11**(4): 776—787
- [11] Fintl C, Pearson G T, Mayhew I G, *et al.* Comparative analysis of c-Kit gene expression and c-Kit immunoreactivity in horses with and without obstructive intestinal disease [J]. *The Veterinary Journal*, 2010, **186**(1): 64—69
- [12] Morini M, Bettini G, Preziosi R, *et al.* c-Kit gene product (CD117) immunoreactivity in canine and feline paraffin sections [J]. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 2004, **52**(5): 705—708
- [13] Lecoin L, Gabella G, Le Douarin N. Origin of the

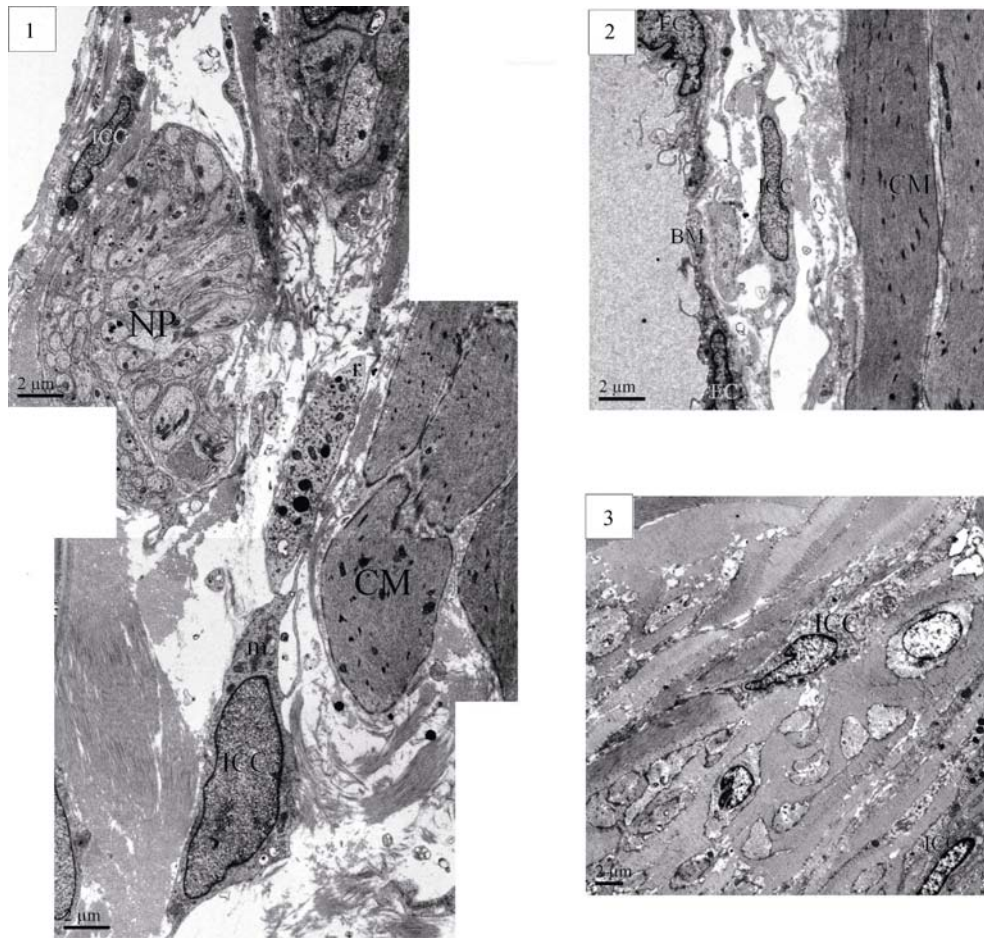
- c-Kit-positive interstitial cells in the avian bowel [J]. *Development*, 1996, **122**(3): 725—733
- [14] Rich A, Leddon S A, Hess S L, *et al.* Kit-like immunoreactivity in the zebrafish gastrointestinal tract reveals putative ICC [J]. *Developmental Dynamics: an Official Publication of the American Association of Anatomists*, 2007, **236**(3): 903—911
- [15] Li W D, Chen Y, Lian Z C. The ultrastructure of interstitial cells of Cajal of mini-pigs gastrointestinal tract [J]. *Anatomy Research*, 2006, **28**(1): 55—57 [李卫东, 陈云, 连至诚. 小型猪胃肠道 Cajal 间质细胞超微结构的研究. 解剖学研究, 2006, **28**(1): 55—57]
- [16] Rumessen J J, Vanderwinden J M, Rasmussen H, *et al.* Ultrastructure of interstitial cells of Cajal in myenteric plexus of human colon [J]. *Cell and Tissue Research*, 2009, **337**(2): 197—212
- [17] Lou Z, Li J S. The networks and ultrastructure of interstitial cells of Cajal in rats's small intestine [J]. *Parenteral & Enteral Nutrition*, 2008, **15**(1): 4—6 [楼征, 黎介寿. 大鼠小肠 cajal 细胞网络结构及超微结构分析. 肠外与肠内营养, 2008, **15**(1): 4—6]
- [18] Komuro T. Comparative morphology of interstitial cells of Cajal: ultrastructural characterization [J]. *Microscopy Research and Technique*, 1999, **47**(4): 267—285
- [19] Reynhout J K, Duke G E. Identification of interstitial cells of Cajal in the digestive tract of turkeys (*Meleagris gallopavo*) [J]. *The Journal of Experimental Zoology*, 1999, **283**(4-5): 426—440
- [20] Miyamoto-Kikuta S, Komuro T. Ultrastructural observations of the tunica muscularis in the small intestine of *Xenopus laevis*, with special reference to the interstitial cells of Cajal [J]. *Cell and Tissue Research*, 2007, **328**(2): 271—279
- [21] Junquera C, Martínez-Ciriano C, Castiella T, *et al.* Intrinsic innervation of a reptilian esophagus (*Podarcis hispanica*) [J]. *Neurochemical Research*, 1998, **23**(4): 493—504
- [22] Martínez-Ciriano C, Junquera C, Castiella T, *et al.* Intrinsic innervation in the intestine of the lizard *Podarcis hispanica* [J]. *Histology and Histopathology*, 2000, **15**(4): 1093—1105
- [23] Junquera C, Martínez-Ciriano C, Castiella T, *et al.* Enteric plexus and interstitial cells of Cajal: interrelationship in the stomach of *Podarcis hispanica* (Reptilia). An ultrastructural study [J]. *Histology and Histopathology*, 2001, **16**(3): 869—881
- [24] Hei N N, Liu H L, Bao H J, *et al.* Histomorphological characteristics of oogenesis and vitellogenesis in *Pelodiscus Sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(3): 656—662 [黑乃楠, 刘海丽, 包慧君, 等. 中华鳖卵子发生与卵黄形成特征. 水生生物学报, 2010, **34**(3): 656—662]
- [25] Rømer P, Mikkelsen H B. c-Kit immunoreactive interstitial cells of Cajal in the human small and large intestine [J]. *Histochemistry and Cell Biology*, 1998, **109**(3): 195—202
- [26] Mitsui R, Komuro T. Distribution and ultrastructure of interstitial cells of Cajal in the gastric antrum of wild-type and Ws/Ws rats [J]. *Anatomy and Embryology*, 2003, **206**(6): 453—460
- [27] Milne E M, Fintl C, Hudson N P, *et al.* Observations on the interstitial cells of Cajal and neurons in a recovered case of equine dysautonomia (grass sickness) [J]. *Journal of Comparative Pathology*, 2005, **133**(1): 33—40
- [28] Fintl C, Hudson N P, Pearson G T, *et al.* A study of the interstitial cells of Cajal in aged donkeys with and without intestinal disease [J]. *Journal of Comparative Pathology*, 2010, **142**(2-3): 242—247
- [29] Márquez S G, Galotta J M, Portiansky E L, *et al.* Characterization of interstitial cells of Cajal in bowel of cattle (*Bos taurus*) [J]. *Veterinary Research Communications*, 2006, **30**(3): 221—229
- [30] Hudson N P, Pearson G T, Kitamura N, *et al.* An immunohistochemical study of interstitial cells of Cajal (ICC) in the equine gastrointestinal tract [J]. *Research in Veterinary Science*, 1999, **66**(3): 265—271
- [31] Gibson P C, Cooper K. CD117 (KIT): a diverse protein with selective applications in surgical pathology [J]. *Advances in Anatomic Pathology*, 2002, **9**(1): 65—69
- [32] Iino S, Horiguchi K, Nojyo Y. W(sh)/W(sh) c-Kit mutant mice possess interstitial cells of Cajal in the deep muscular plexus layer of the small intestine [J]. *Neuroscience Letters*, 2009, **459**(3): 123—126
- [33] Hanani M, Farrugia G, Komuro T. Intercellular coupling of interstitial cells of cajal in the digestive tract [J]. *International Review of Cytology*, 2005, **242**: 249—282
- [34] Rumessen J J, Vanderwinden J M. Interstitial cells in the musculature of the gastrointestinal tract: Cajal and beyond [J]. *International Review of Cytology*, 2003, **229**: 115—208
- [35] Hanani M, Freund H R. Interstitial cells of Cajal-their role in pacing and signal transmission in the digestive system [J]. *Acta Physiologica Scandinavica*, 2000, **170**(3): 177—190



图版 I Plate I

1—2. HE 染色显示小肠组织结构。1. 小肠由黏膜(Muc), 黏膜下层(Subm), 肌层和浆膜(S)四部分组成。肌层包括环肌(CM)和纵肌(LM)。Bar=250 μm 。2. HE 染色显示小肠纵行的皱襞(★)。Bar=500 μm 。3—13. c-Kit 在肠道中的免疫组织化学反应。3. c-Kit⁺肥大细胞(⇐)分布在小肠黏膜下层(Subm)。Bar=25 μm 。4. 低倍镜下, 双极 c-Kit⁺ICC(→)位于环肌(CM)和纵肌(LM)之间。Bar=100 μm 。5. 双极 c-Kit⁺ICC(→)呈线形分布于黏膜下层(Subm)和环肌(CM)之间。Bar=100 μm 。6. c-Kit⁺ICC (→)分布于大肠黏膜下层围绕血管分布, 在固有膜内, 它们的突起不规则相互联系在一起。黏膜上皮(Ep), Bar=50 μm 。7. 双极 c-Kit⁺ICC 分布在黏膜下层(Subm)和环肌(CM)之间, 第一种分布类型: 突起(→)-胞体(→)-突起(→)。Bar=25 μm 。8. 双极 c-Kit⁺ICC 分布在黏膜下层(Subm)和环肌(CM)之间, 第二种分布类型: 胞体(→)-突起(→)-胞体(→)。Bar=25 μm 。9. 双极 c-Kit⁺ICC(→)位于黏膜下层(Subm)和环肌(CM)之间, 聚集成簇分布。Bar=25 μm 。10. 双极 c-Kit⁺ICC(→)位于黏膜下层(Subm)和环肌(CM)之间, 呈现波浪形。Bar=25 μm 。11. 双极 c-Kit⁺ICC 在环肌(CM)内, 与平滑肌平行。Bar=25 μm 。12. 双极 c-Kit⁺ICC 位于环肌(CM)和纵肌(LM)之间。Bar=25 μm 。13. c-Kit⁺阳性细胞(⇐)分布在小肠黏膜上皮(Ep)基底部。Bar=50 μm 。

1—2. HE staining showed the architecture of small intestine. 1. The small intestine is made up of the mucosa (Muc), submucosa (Subm), muscularis externa and serosa (S). Muscular layer contained circular muscle layer (CM) and longitudinal muscle layer (LM). Bar=250 μm . 2. HE staining showed the longitudinal fold (★) in the small intestine. Bar=500 μm . 3—13. Immunohistochemistry reaction of c-Kit in the intestine. 3. C-Kit positive mast cells (⇐) in the small intestine Subm. Bar=25 μm . 4. Bipolar c-Kit positive ICCs (→) are found between the CM and LM. Bar=100 μm . 5. C-Kit positive ICCs (→) with long processes in the interspace between the Subm and CM forming a continuous layer. Bar=100 μm . 6. c-Kit positive ICCs (→) around blood vessels (BV) of large intestinal Subm. In the lamina propria, their irregular processes connected each other. mucosal epithelium (Ep). Bar=50 μm . 7. Bipolar c-Kit positive ICCs with the first distribution pattern: process (→)-cell body (→)-process (→) located in the interspace between the Subm and CM. Bar=25 μm . 8. Bipolar c-Kit positive ICCs with the second distribution pattern: cell body (→)-process (→)-cell body (→) located in the interspace between the Subm and CM. Bar=25 μm . 9. Bipolar c-Kit immunopositive ICCs (→) are concentrated as cluster in the interspace between the Subm and CM. Bar=25 μm . 10. Bipolar c-Kit immunopositive ICCs (→) with the undulated-shape in the interspace between the Subm and CM. Bar=25 μm . 11. Bipolar c-Kit immunopositive ICCs are parallel to smooth muscles in the CM. Bar=25 μm . 12. Bipolar c-Kit immunopositive ICCs located between the CM and LM. Bar=25 μm . 13. c-Kit positive cells (⇐) in the basal parts of small intestine epithelium (Ep). Bar=50 μm 。



图版 II Plate II

1—3. 透射电镜显示 Cajal 间质细胞。1. 双极 ICC 细胞在环肌(CM)和纵肌之间的神经丛(NP)周围, 胞质内含有线粒体(m), 粗面内质网(r)。Bar=2 μm 。2. 双极 ICC 细胞具有 3 个突起, 围绕着环肌层(CM)和纵肌之间的血管分布。血管内皮细胞(EC), 血管基膜(BM)。Bar=2 μm 。3. 大肠固有膜内的星形 ICC 细胞, 具有不规则的突起。Bar=2 μm

1—3. TEM showed ICC. 1. Bipolar ICCs are observed around the nervous plexus (NP) between the circular (CM) and longitudinal muscle layers. There are some mitochondria (m) and rough endoplasmic reticulum (r) in the ICC cytoplasm. Bar=2 μm . 2. Bipolar ICCs with three processes are surrounding the blood vessel between the circular (CM) and longitudinal muscle layers. Endothelial cell (EC) of blood vessel, basement membrane of blood vessel (BM). Bar=2 μm . 3. Stellate ICCs with irregular processes are found in the large intestine lamina propria. Bar=2 μm