

巴马小型猪胰腺解剖学特点*

赵玉琼 戴鑫 陈华

(解放军总医院实验动物中心,北京 100853)

摘要: 胰腺是重要的消化器官。以往关于猪胰腺的解剖组织学研究,主要侧重于血管和导管的分布。本研究利用本课题和其他课题中的 24 头对照组动物,观察和测定巴马小型猪胰腺的组织形态学数据。结果表明:巴马小型猪的胰腺形态变异较大,大体结构可分为 3 个叶,即脾叶、十二指肠叶和连接叶;初步分为 3 种类型,即标准型、纤细型和粗壮型;24 头猪中,3 种类型分别占比 16/24、6/24 和 2/24。胰腺占比体质量的 0.09%~0.15%。巴马小型猪的胰岛普遍较小,以超小胰岛居多。胰岛占比胰腺的 1.52%~4.98%。胰岛 β 细胞占比体质量的 0.012‰~0.024‰。

关键词: 巴马小型猪;胰腺;解剖学

中图分类号: S852.13 文献标识码: A 文章编号: 1006-6179(2021)03-0066-04

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2021.03.012

猪与人类在解剖、代谢、生理和病理生理学方面十分相似,而且繁殖率高、伦理上可接受。在食品生理学、肥胖、代谢和心血管疾病的转化研究方面,其应用也明显增长。在开发新的治疗措施方面,猪成为从经典的啮齿类动物模型转化到人类的桥梁^[1-2]。应用猪测试药物(如他汀类药物)和设备(如血管支架)已经被认为对于此后转化到人类应用具有很高的预测价值^[3-4]。

胰腺是消化和代谢的重要器官,以往关于猪胰腺的解剖与结构的研究侧重于胰腺移植和胰岛移植方面的应用,为改善胰腺的迅速获取和以灌注为基础的体外保存技术,对于猪胰腺血管解剖和分布进行详细的描述。此外,为获得在胰岛分离前导入蛋白酶荷载的最佳胰腺膨胀程度,对胰腺分泌导管的解剖结构和分布进行详细的描述^[5-7]。对于代谢研究方面的解剖学数据,如胰岛的形态及其在胰腺中的占比等,还需要进一步补充和完善。本研究利用实验室科研工作中的对照组动物,描述巴马小型猪胰腺的解剖学特点和基础数据,为小型猪在消化和代谢领域的研究和应用提供基础资料。

1 材料和方法

雄性巴马小型猪 24 头,14~15 月龄,体质量

35.3~64.0 kg,实验动物使用许可证号:SYXK(军)2017-0017。所有动物研究(包括安乐死程序)均符合解放军总医院实验动物福利伦理委员会规定和指南,并根据 AAALAC 和 IACUC 指南进行。福利伦理审查批号:(ID:2018-D14-26)。动物麻醉后(以 25 mg/kg 盐酸塞拉嗪+0.25 mg/kg 咪达唑仑混合肌肉注射诱导麻醉,以 6 mg/kg 戊巴比妥钠静脉注射维持麻醉),股动脉放血致死。常规程序解剖检查及取材。

小心剥离胰腺,照相后称质量,计算胰腺系数(胰腺/体质量)。

将胰腺按照十二指肠叶、脾叶和连接叶切开,分别放入 4% 多聚甲醛溶液固定。复检时,在每个叶的中央部位取组织各 2 块(相距 1 cm),常规制作石蜡切片。分别进行 HE 染色和胰岛素免疫组化染色。免疫组化所用胰岛素抗体购自 Abcam(小鼠抗人胰岛素单克隆抗体,ab46707),DAB 显色系统。

胰腺中胰岛的占比计算方法:以 HE 染色的切片观察并计算胰岛的占比。每个叶计算 2 张切片(应用 Image-Pro Plus 4.5 软件),每只动物胰岛占比按照 6 张切片获得的平均值计算。

胰岛 β 细胞体质量系数:以胰岛素免疫组化染色阳性细胞为 β 细胞,观察并计算胰腺组织中阳性

收稿日期:2020-02-16

* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(No.31900379);军队实验动物专项科研课题(No.SYDW(2017)03号)

作者简介:赵玉琼(1983—),女,硕士,研究方向:小型猪动物模型的建立与应用.E-mail:zhaoyuqiong@163.com

通信作者:陈华(1964—),男,博士,研究方向:小型猪疾病模型的建立与应用.E-mail:chenhua@301hospital.com.cn

细胞的占比。每个叶计算 2 张切片,每只动物胰岛 β 细胞的占比按照 6 张切片获得的平均值计算。利用 β 细胞的占比值和胰腺质量推测胰岛 β 细胞的质量,并计算相对质量。

2 结果

2.1 胰腺大体形态

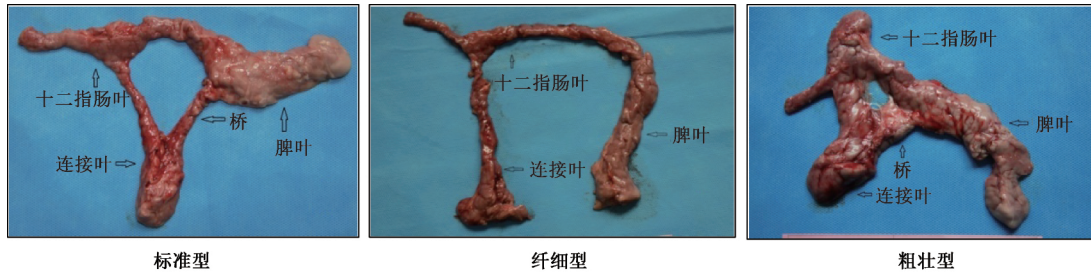


图 1 巴马小型猪胰腺大体解剖图片

Fig.1 Gross pictures of pancreas in Bama minipigs

胰腺的大体形态变异较大,总体上还能分出 3 个叶的结构。胰腺占比体质量的 0.09%~0.15%,对于本研究的 24 例胰腺,我们初步分为标准型、纤细型和粗壮型,在 24 头小型猪中,分别占比 16/24、6/24 和 2/24,个体变异较大(SD=0.023)。

2.2 胰腺的组织形态

胰腺表面的结缔组织伸入腺体内,将其分隔成许多小叶。胰小叶主要由腺泡和导管组成。胰腺的血管、淋巴管和神经均经结缔组织隔进出胰腺。胰腺是重要的消化器官,它由外分泌部和内分泌部组

巴马小型猪的胰腺呈粉红色、质软,表面呈结节状,被覆薄层的疏松结缔组织,边缘不规则。大体结构可分为 3 个叶,即脾叶、十二指肠叶和连接叶。脾叶(对应人类胰腺的胰体和胰尾)位于后侧,与脾脏和胃相连;十二指肠叶(对应人类胰腺的胰头)与十二指肠毗连,而连接叶(对应人类胰腺的钩突)是胰腺的延伸,与门静脉前面相连。通常在胰腺还有一个纤细的“桥”,用于连接脾叶和连接叶(图 1)。

成。外分泌部是由腺泡和导管构成的浆液性复管泡状腺,组成胰腺的大部分。内分泌部是由上皮细胞组成的许多细胞索或团,称为胰岛。

光学显微镜下,小型猪的胰岛在胰腺中散在分布,大小不一,普遍较小,以几个、十几个内分泌细胞组成的细胞丛样超小胰岛居多。HE 染色条件下,胰岛细胞相对淡染(图 2 “→”处),与外分泌腺分辨比较清晰,胰岛的边界规整。胰岛素免疫组化染色发现,胰岛中胰岛素阳性细胞(β 细胞,染色呈棕色)占绝大多数(图 2)。

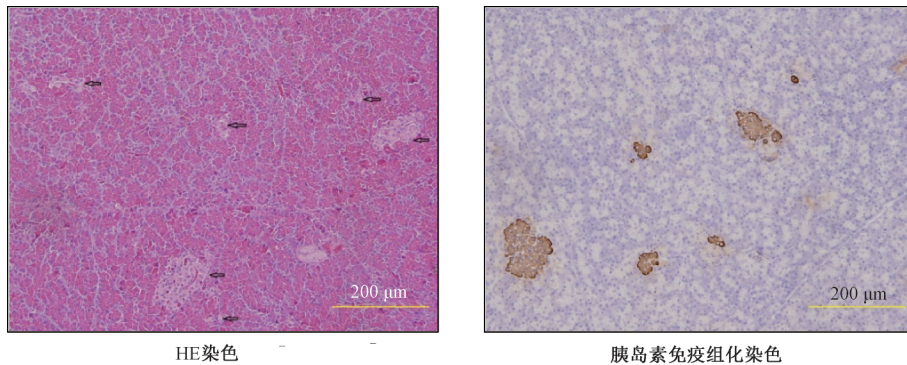


图 2 巴马小型猪胰腺组织学图片

Fig.2 Histological picture of pancreas in Bama minipig

2.3 胰岛/胰腺和胰岛 β 细胞体质量指数

在 HE 染色的切片,胰岛与外分泌腺能够明确区分。每个胰腺选择 6 个代表性切面,以这 6 个切面的平均值推测计算了胰腺中胰岛的占比。结果表

明,巴马小型猪胰岛占比胰腺的 1.52%~4.98% (3.15%±1.42%)。

在胰岛素免疫组化染色的切片,胰岛素阳性细胞呈棕色(DAB 显色),与蓝色衬染的其他细胞区分

明显,以胰岛素阳性细胞为 β 细胞,计算 β 细胞的占比,再以胰腺的质量计算 β 细胞质量,从而得出 β 细胞的质量指数。结果表明,巴马小型猪胰岛 β 细胞相对质量为 $0.548 \sim 1.023 \text{ g} (0.827 \pm 0.200 \text{ g})$, β 细胞占体质量的比例为 $0.012\% \sim 0.024\%$ ($0.020\% \pm 0.006\%$)。

3 讨论

随着社会经济的发展和人们生活水平的提高,肥胖、脂肪肝、糖尿病、代谢综合征、动脉粥样硬化等代谢相关性疾病快速增长。动物模型是探讨疾病发病机制、测试新药的功效和安全性的的重要手段。目前,代谢相关性疾病的实验研究仍然主要应用啮齿类动物模型,这是由于它们具备维持费用低廉、标准化的饲养环境、伦理上的易于接受、快速繁殖的生物学特性、高效和成熟的遗传修饰技术、大规模的标准化表型分析计划,以及方便应用的大规模的参考信息数据库^[8]。利用这些动物模型,获得了关于啮齿类动物代谢相关的丰富知识,包括从基因调控到维持动物整体代谢稳态。然而,由于啮齿类动物在代谢方面与人类的差异较大,很多研究成果,包括新药和治疗手段,向临床的转化效力低下^[9-10]。

近年来,小型猪在肥胖、糖尿病和动脉粥样硬化等代谢相关疾病研究领域受到广泛重视,相关研究也快速增加^[11-12]。胰腺由于在消化和代谢中的重要性,对于小型猪胰腺解剖学基础数据的建立十分必要。在人类、小鼠和非人灵长类动物,胰腺呈L型,包括胰头、胰体(十二指肠部)和胰尾(脾部),而猪的胰腺是环形的,包括脾叶、十二指肠叶和连接叶。猪胰腺的脾叶是最大的部分,占比胰腺质量的约50%。猪胰腺在大小、位置和质量上与人类相似^[13-14]。总的胰岛 β 细胞质量,作为胰岛素分泌能力和胰岛素分泌储存池,不同种类动物之间变异很大。研究显示,在成年人类和猪/小型猪,总的胰岛 β 细胞质量估计分别为 $0.5 \sim 1.5 \text{ g}^{[15-16]}$ 和 $0.5 \sim 1.9 \text{ g}^{[13,17]}$ 。我们的研究结果也与之相似。临床研究发现,2型糖尿病的发展过程是一个持续的 β 细胞功能减退的过程,大多数患者,不管胖瘦与否,均表现为胰岛 β 细胞数量的纯粹减少。通过对2型糖尿病患者的尸检发现,普遍存在胰腺胰岛 β 细胞的显著减少和淀粉样蛋白的沉积^[18-20]。由于动物和人类的胰岛 β 细胞数量是有储备的,到底减少到

什么程度才能达到血糖的失调,形成持续性的高血糖,胰岛 β 细胞数量的基础数据成为重要参照指标。我们的研究发现,胰岛 β 细胞数量比对照组平均减少64.7%~71.4%时,巴马小型猪完全能够进行正常的血糖调控,保持血糖的稳定。此时,小型猪的血清胰岛素水平和糖耐量完全正常。当胰岛 β 细胞平均减少幅度达到83.1%~87.3%时,则形成了显著的高血糖,此时的血清胰岛素水平显著降低、糖耐量受损。Dufrane等^[21]应用150 mg/kg链尿佐菌素(STZ)可造成猪97%的胰岛 β 被破坏,4周后胰岛 β 细胞减少92.8%,导致永久性的糖尿病。因此,我们实验室建立的小型猪胰岛解剖学基础数据,为小型猪在代谢相关疾病研究中的应用提供了重要基础。

参考文献

- [1] Bähr A, Wolf E. Domestic animal models for biomedical research [J]. *Reprod Domest Anim*, 2012, **47** Suppl 4: 59-71.
- [2] Renner S, Dobenecker B, Blütke A, et al. Comparative aspects of rodent and nonrodent animal models for mechanistic and translational diabetes research [J]. *Theriogenology*, 2016, **86**(1): 406-421.
- [3] Hasler-Rapacz J, Kempen H J, Princen H M, et al. Effects of simvastatin on plasma lipids and apolipoproteins in familial hypercholesterolemic swine [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**: 137-143.
- [4] Johnson G J, Griggs T R, Badimon L. The utility of animal models in the preclinical study of interventions to prevent human coronary artery restenosis: Analysis and recommendations. On behalf of the Subcommittee on Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis [J]. *Thromb Haemost*, 1999, **81**: 835-843.
- [5] Jensen S L, Kühl C, Nielsen O V, et al. Isolation and perfusion of the porcine pancreas [J]. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 1976, **37**: 57-61.
- [6] Skjennald A. Anatomy of the liver and pancreas in the domestic swine, with special reference to vascular structures [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1982, **17**: 16-31.
- [7] Ferrer J, Scott W E 3rd, Weegman B P, et al. Pig pancreas anatomy: implications for pancreas procurement, preservation, and islet isolation [J]. *Transplantation*, 2008, **86**(11): 1503-1510.
- [8] Hrabe de Angelis M H, Nicholson G, Selloum M, et al. Analysis of mammalian gene function through broad-based phenotypic screens across a consortium of mouse clinics [J]. *Nat Genet*,

- 2015 **47**: 969-978.
- [9] Chandrasekera P C , Pippin J J. Of Rodents and Men: Species-Specific Glucose Regulation and Type 2 Diabetes Research [J]. *ALTEX* 2014 , **31**(2) : 157-176.
- [10] Ali Z , Chandrasekera P C , Pippin J J. Animal research for type 2 diabetes mellitus , its limited translation for clinical benefit , and the way forward [J]. *Altern Lab Anim* , 2018 , **46**(1) : 13-22.
- [11] Bellinger D A , Merricks E P , Nichols T C. Swine models of type 2 diabetes mellitus: insulin resistance , glucose tolerance , and cardiovascular complications [J]. *ILAR J* , 2006 , **47** (3) : 243-258.
- [12] Koopmans S J , Schuurman T. Considerations on pig models for appetite , metabolic syndrome and obese type 2 diabetes: From food intake to metabolic disease [J]. *European Journal of Pharmacology* , 2015 , **759**: 231-239.
- [13] Renner S , Fehlings C , Herbach N , *et al.* Glucose intolerance and reduced proliferation of pancreatic beta-cells in transgenic pigs with impaired glucose-dependent insulinotropic polypeptide function [J]. *Diabetes* , 2010 , **59**: 1228-1238.
- [14] Innes J T , Carey L C. Normal pancreatic dimensions in the adult human [J]. *Am J Surg* , 1994 , **167**: 261-263.
- [15] Saisho Y , Butler A E , Manesso E , *et al.* Beta-cell mass and turnover in humans: effects of obesity and aging [J]. *Diabetes Care* , 2013 , **36**: 111-117.
- [16] Rahier J , Guiot Y , Goebbels R M , *et al.* Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Obes Metab* . 2008 , **10**(Suppl 4) : 32-42.
- [17] Larsen M O , Juhl C B , Porksen N , *et al.* Beta-cell function and islet morphology in normal , obese , and obese beta-cell mass-reduced Gottingen minipigs [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab* , 2005 , **288**: E412-421.
- [18] Butler A E , Janson J , Bonner-Weir S , *et al.* Cell deficit and increased cell apoptosis in humans with type 2 diabetes [J]. *Diabetes* , 2003 , **52**: 102-110.
- [19] Sakuraba H , Mizukami H , Yagihashi N , *et al.* Reduced beta-cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islet of Japanese type II diabetic patients [J]. *Diabetologia* , **45**: 85-96.
- [20] Yoon K H , Ko S H , Cho J H , *et al.* Selective beta-cell loss and alpha-cell expansion in patients with type 2 diabetes mellitus in Korea [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 , **88**: 2300-2308.
- [21] Dufrene D , van Steenberghe M , Guiot Y , *et al.* Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and beta-cell plasticity [J]. *Transplantation* , 2006 , **81**(1) : 36-45.

Anatomical Characteristics of Pancreas in Bama Minipigs

ZHAO Yuqiong , DAI Xin , CHEN Hua

(Laboratory Animal Center of PLA General Hospital , Beijing 100853 , China)

Abstract: The pancreas is an important digestive organ. Previous anatomical and histological studies on porcine pancreas mainly focused on the distribution of blood vessels and ducts. In this research , 24 control animals in another experiment were used to observe and measure the histo-morphological data of the pancreas of Bama minipigs. The result showed that the pancreas morphology of Bama minipigs is quite different. As a whole , the gross structure can be divided into 3 lobes , namely , spleen lobe , duodenal lobe and connecting lobe. According to the size , it can be divided into 3 types: the standard type , the thin type and the thick type (among the 24 pigs , 3 types account for 16/24 , 6/24 and 2/24 , respectively) . The relative weight of pancreas accounts for 0.09% to 0.15% of body weight. The islets of Bama minipigs are generally small , and most of them are ultra-small type which compose of endocrine cell clusters. The relative weight of islets account for 1.52% to 4.98% of the pancreas and β cells account for 0.012% to 0.024% of body mass.

Key words: Bama minipigs; pancreas; anatomy