

肠神经系统递质和Cajal间质细胞在大鼠慢传输型便秘中的作用

包云光¹,舒小莉²,李小兵¹,顾伟忠²,应爱娟¹,赵婵¹,欧弼悠²,江米足²

(1. 金华市中心医院,浙江 金华 321000; 2. 浙江大学医学院附属儿童医院、浙江省新生儿疾病诊治重点实验室,浙江 杭州 310003)

[摘要] 目的 探讨肠神经系统递质一氧化氮(NO)、P物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)和Cajal间质细胞(ICC)在慢传输型便秘中的作用。方法 32只健康Wistar大鼠随机分成便秘组 and 对照组,分别饲喂含复方苯乙哌啶的混悬液和普通水,每5 d记录1次大鼠大便粒数、大便干重及体重。饲养90 d后停药1周,测定肠道传输功能、结肠黏膜肠神经系统递质含量和ICC细胞的特异性标志物c-kit⁺细胞分布情况。结果 便秘组日均粪便粒数小于对照组,平均每粒粪便质量大于对照组,差异有非常显著性意义($P < 0.01$);便秘组首粒黑便排出时间为 430.2 ± 132.1 min,长于对照组的 337.2 ± 74.7 min,差异有显著性意义($P < 0.05$)。远端结肠黏膜NO含量、SP水平、VIP阳性细胞分布在两组间差异无显著性意义,而c-kit⁺细胞在便秘组的数目少于对照组,差异有显著性意义($P < 0.05$)。结论 远端结肠黏膜ICC数量减少可能是慢传输型便秘大鼠的主要病理生理机制。

[中国当代儿科杂志,2009,11(6):481-485]

[关键词] 慢传输型便秘;肠神经系统;神经递质;Cajal间质细胞;一氧化氮;大鼠

[中图分类号] R-33 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)06-0481-05

Roles of enteric nervous system neurotransmitters and interstitial cells of Cajal in the colon in slow transit constipation in rats

BAO Yun-Guang, SHU Xiao-Li, LI Xiao-Bing, GU Wei-Zhong, YING Ai-Juan, ZHAO Chan, OU Bi-You, JIANG Mi-Zu. Department of Pediatrics, Jinhua Central Hospital, Jinhua, Zhejiang 321000, China (Jiang M-Z, Email:mizu@zju.edu.cn)

Abstract: Objective To evaluate the roles of enteric nervous system neurotransmitters, nitric oxide (NO), substance P (SP) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP), and interstitial cells of Cajal (ICC) in the colon in slow transit constipation in rats. **Methods** Thirty-two healthy Wistar rats were randomly assigned to control and constipated groups. In the constipated group, the rats were daily administered with diphenoxylate (8 mg/kg) to develop slow transit constipation, while the control rats were fed with water. The number and the weight of fecal granule and the body weight of rats were recorded every 5 days for 90 days. Transit functions of intestinal movement were examined by an activated charcoal suspension pushing test one week after stopping the administration of diphenoxylate. The levels of NO and SP in the colonic mucosa were measured by nitrate reductase methods and ELISA respectively. The distribution of VIP and ICC positive cells confirmed with symbolic c-kit⁺ cells in the colonic wall were observed by immunohistochemical methods. **Results** The daily number of fecal granule in the constipated group was significantly less than that in the control group ($P < 0.01$). The mean weight of each fecal granule in the constipated group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$). The discharge time of the first granule of black faeces in the constipated group (430.2 ± 132.1 min) was significantly longer than that in the control group (337.2 ± 74.7 min; $P < 0.05$). There were no significant differences in NO and SP levels and the density of VIP positive cells in the distal colonic segment between the two groups. The number of c-kit⁺ cells in the distal colonic wall in the constipated group was significantly reduced compared with that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** The reduction of ICC number in the distal colon may be contributed to the pathogenesis of slow transit constipation in rats. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (6):481-485]

Key words: Slow transit constipation; Enteric nervous system; Neurotransmitter; Interstitial cell of Cajal; Nitric oxide; Rats

慢性便秘是一种症状,在儿科较为常见,严重影响生活质量,甚至影响患儿生长发育。目前认为,便秘的发生与结肠动力功能障碍有关,慢传输型便秘是其中最常见的类型,但其机制尚不清楚^[1,2]。胃肠运动由交感、副交感神经系统、肠神经系统(ENS)和Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)组

[收稿日期]2009-02-19;[修回日期]2009-03-02
[基金项目]金华市与浙江大学科技合作专项资金(No. 2005-1-303);浙江省医药卫生优秀青年科技人才专项科研基金(No. 2005QN010)。
[作者简介]包云光,女,主任医师。主攻方向:小儿消化系统疾病。
[通讯作者]江米足,男,教授,主任医师,浙江大学医学院附属儿童医院,邮编310003。

成的肠神经细胞网络控制^[2~4]。ENS递质多达数十种,其中兴奋性递质主要包括乙酰胆碱(AchE)、P物质(SP)等;抑制性递质以非肾上腺素非胆碱能神经(NANC)递质为主,包括一氧化氮(NO)、血管活性肠肽(VIP)、生长抑素(SOM)、降钙素基因相关肽(CGRP)、三磷酸腺苷(ATP)等^[5]。随着ICC细胞的特异性标志物,即酪氨酸激酶受体c-kit的发现,ICC的胃肠功能调控受到广泛重视^[6,7]。本研究通过建立慢传输型便秘大鼠模型,测定结肠黏膜NO、SP含量,及VIP阳性细胞、c-kit⁺细胞的分布情况,以了解慢传输型便秘的神经病理机制。

1 对象与方法

1.1 研究对象

32只健康Wistar大鼠,雄性,6~8周龄,体重110~130g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,生产许可证号SCXK(沪)2007-0005,随机分为对照组和便秘组($n=16$)。

1.2 方法

1.2.1 慢传输型便秘大鼠模型建立 大鼠便秘模型的建立参照刘海峰的方法^[8]。大鼠分笼饲养,保持适宜的环境,饲以普通级颗粒饲料(由浙江省医学科学院提供)。饲养3d后开始建立模型,给便秘组Wistar大鼠饲喂含复方苯乙哌啶(由常州康普药业有限公司生产)的混悬液,给药剂量为每日8mg/kg,对照组饲喂自来水。每5d记录1次大鼠大便粒数、大便干重及大鼠体重。饲养时间为90d。

1.2.2 肠道传输功能测定 采用活性炭灌胃法测定首粒黑便排出时间。停药1周的大鼠禁食24h,经口灌入100g/L活性炭悬液2mL。从活性炭灌胃完毕开始计时,记录从灌胃到首粒黑便排出的时间。

1.2.3 结肠黏膜NO及SP测定 大鼠经2%戊巴比妥腹腔注射麻醉(用量为100mg/kg)后,固定四肢,通过腹部正中切口暴露腹腔,切取远段结肠(直、乙结肠段),纵向剪开,在预冷的生理盐水中清洗去除内容物。经液氮研磨制成10%(质量体积比)的匀浆,2500r/min低温离心5min,留取上清液,-70℃保存待测。NO测定采用硝酸还原酶法,NO检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。SP用双抗体夹心ELISA法检测,SP检测试剂盒购自Rapid Bio Lab。

1.2.4 苏木精-伊红染色 剪取大鼠结肠远段约1cm,纵行剖开,生理盐水漂洗后,固定于10%甲醛溶液,常规脱水、石蜡包埋,常规切片,分别进行苏木精-伊红染色和免疫组化染色。

(1)结肠黏膜组织石蜡包埋:标本在中性缓冲福尔马林(pH 7.2~7.4)固定2h后取材再固定6~8h,开始如下脱水:自来水洗30min,70%乙醇30min,95%乙醇1h×2次,100%乙醇1h×2次,二甲苯透明20min×2次;使用58~60℃石蜡浸蜡3h;使用60~62℃石蜡包埋组织。

(2)结肠黏膜组织切片:厚3~4μm,连续切片,在预先APES(Sigma公司进口分装)处理的载玻片上捞片,60~62℃烘箱(GNP-9160,上海精宏实验设备有限公司)烤片4h后进行苏木精-伊红染色和免疫组化染色。

(3)苏木精-伊红染色:石蜡切片,二甲苯脱蜡10min×2次,无水乙醇3min×2次,95%乙醇2min,80%乙醇2min,70%乙醇2min至自然水化;Gill苏木素染色液10min,自然水洗,温水蓝化;显微镜下观察细胞核着色情况,适当时可省略下一步骤(0.5%盐酸乙醇分化数秒,流水冲洗、温水蓝化);95%乙醇1min,0.5%伊红乙醇染色液1~2min;80%乙醇适当分化,95%乙醇脱水3min×2次,100%乙醇脱水3min×2次;二甲苯透明5min×2次,中性树胶封片。

1.2.5 免疫组化染色 免疫组化检测试剂盒EnVisionTM Lot: 00125132为DAKO公司的产品。石蜡切片,二甲苯脱蜡、无水乙醇、95%、80%、70%乙醇至水化;蒸馏水洗,抗原修复:采用高温高压修复时间为1min40s;检测c-kit采用0.01M Tris/EDTA缓冲溶液,pH为9.0;VIP未采用抗原修复。蒸馏水洗,PBS 5min×3次,3% H₂O₂阻断内源性过氧化物酶10min,PBS洗5min×3次,滴加适当比例稀释的一抗,4℃过夜;VIP为中国武汉博士德生物技术有限公司的产品BA-0134,工作浓度为1:60;c-kit为美国Santa Cruz公司的sc-168(rabbit)多克隆抗体,工作浓度1:100,PBS代替一抗为空白对照;PBS冲洗,5min×3次,滴加山羊抗鼠(兔)IgG抗体-HRP多聚体,37℃孵育40min,PBS冲洗,5min×3次;DAB显色液(DAKO公司)显色1~3min,显微镜下控制反应,自来水冲洗终止反应;Harris苏木素液复染细胞核1min,95%、100%乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.2.6 VIP阳性细胞计分标准 VIP阳性细胞胞浆为黄色或黄棕色,细胞核呈蓝色。根据结肠肠壁各层内阳性染色细胞数占视野细胞总数的多少进行半定量分级:没有阳性染色细胞记为(-),阳性细胞百分数<25%为(+),50%为(++),>50%为(+++)。

1.2.7 c-kit⁺ 细胞的计分标准 c-kit 阳性细胞胞浆为黄色或黄棕色,细胞核呈蓝色。根据结肠肠壁各层内 c-kit⁺ 细胞的分布密度按以下标准进行半定量分级:(-):无阳性细胞存在;(±):偶尔可见阳性表达;(+):中等量的阳性表达,较正常减少;(+ +):较多量的 c-kit⁺ 细胞,且/或彼此间形成网络状结构。

1.3 统计学分析

计量资料结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以例数(百分比)来表示,采用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计学分析。两组间差异显著性检验采用 *t* 检验,等级资料采用秩和检验。以 *P* < 0.05 提示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 大鼠粪便粒数、每粒粪便质重及大鼠体重变化

便秘组大鼠日均粪便粒数小于对照组,平均每粒粪便质量大于对照组,差异有显著性意义(*P* < 0.01,表1),而日均粪便干重在两组间的差异无显著性意义。造模第5天两组间的平均体重和造模第90天两组间的平均体重差异均无显著性。便秘组大鼠肠道传输速度与对照组相比明显减慢,首粒黑便排出时间延长,分别为 430.2 ± 132.1 min 和 337.2 ± 74.7 min,差异有显著性意义(*t* 值为 -2.450, *P* < 0.05)。

2.2 大鼠结肠大体形态观察和病理组织学检查

图1所示,便秘组结肠较对照组粗大、迂曲,肠腔内有较大块的粪便存留。结肠黏膜苏木精-伊红

染色显示上皮细胞核呈蓝色,胞浆为淡红色(图2)。部分有少量炎症细胞浸润、淋巴细胞聚集等,偶有上皮细胞脱落,未见明显的溃疡,两组大鼠结肠黏膜光镜下病理组织学表现相类似。

2.3 结肠远段黏膜神经递质含量及 c-kit⁺ 细胞分布变化

远端结肠黏膜 NO 含量和 SP 水平在两组间差异无显著性(*P* > 0.05,表2)。远端结肠黏膜 VIP 阳性细胞分布在两组间的差异也无显著性意义(*P* > 0.05),见表3,图3。远端结肠黏膜 c-kit⁺ 细胞的计分结果显示便秘组细胞数目低于对照组,差异有显著性意义(*P* < 0.05),见表4,图4。

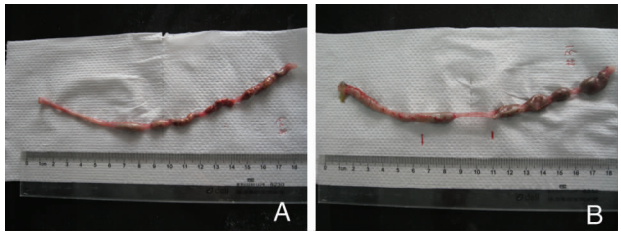


图1 正常与便秘模型大鼠结肠大体观 A:正常大鼠结肠,肠腔内存留的粪便颗粒较小;B:便秘模型大鼠结肠,肠腔内有较大块的粪便存留。

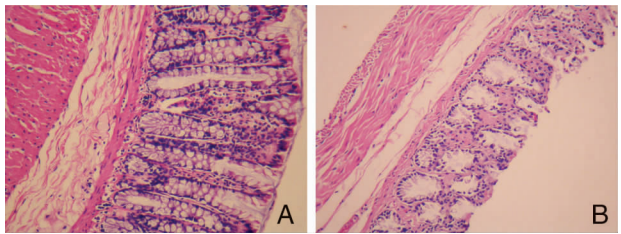


图2 两组大鼠结肠黏膜病理组织图(苏木精-伊红染色 ×100) A:正常大鼠结肠黏膜;B:便秘大鼠结肠黏膜,较为菲薄。

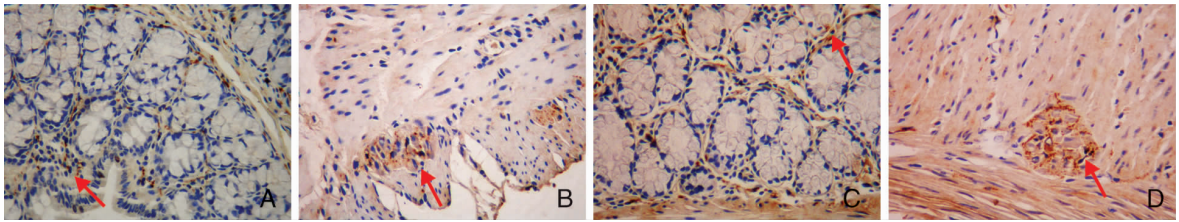


图3 两组大鼠结肠黏膜 VIP 阳性细胞表达(免疫组化 ×200)。胞浆有黄色或棕黄色颗粒即为阳性细胞。A:正常大鼠黏膜层阳性细胞表达;B:正常大鼠肌间神经丛阳性细胞表达;C:便秘大鼠黏膜层阳性细胞表达;D:便秘大鼠肌间神经丛阳性细胞表达。

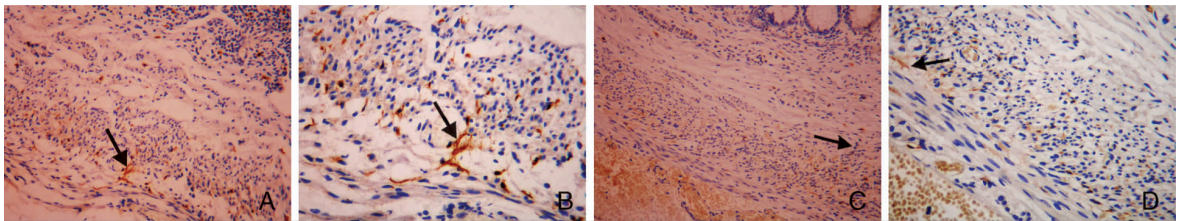


图4 两组大鼠结肠黏膜 c-kit 阳性细胞表达(免疫组化)。胞浆有黄色或棕黄色颗粒即为阳性细胞。A:正常大鼠黏膜阳性细胞表达(×100);B:正常大鼠黏膜阳性细胞表达(×200);C:便秘大鼠黏膜阳性细胞表达(×100);D:便秘大鼠黏膜阳性细胞表达(×200)。

表 1 两组大鼠粪便粒数、粪便质重及体重变化 (x±s)

组别	例数	粪便粒数(粒/d)	粪便质量(mg/粒)	日均粪便干重(g/100 g 体重)	第 5 天体重(g)	第 90 天体重(g)
对照组	16	47.6±2.0	153.4±12.4	12.7±1.8	237.1±14.5	356.3±34.8
便秘组	16	41.4±2.6	175.3±11.8	11.8±1.6	244.8±17.1	369.9±20.6
t 值		-7.677	5.111	-1.483	1.374	1.349
P 值		<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05

表 2 两组大鼠远段结肠黏膜 NO 及 SP 的变化 (x±s)

组别	例数	NO(μmol/g protein)	SP(pg/mL)
对照组	16	20.2±11.8	578.9±317.8
便秘组	16	12.8±10.6	627.9±206.8
t 值		1.868	-0.517
P 值		>0.05	>0.05

表 3 两组大鼠远段结肠黏膜 VIP 阳性细胞计分结果
例数(%)

VIP 细胞计分			
	+	+ ~ ++	++
对照组	8(50.0)	4(25.0)	4(25.0)
便秘组	10(62.5)	3(18.75)	3(18.75)

表 4 两组大鼠远段结肠黏膜 c-kit⁺ 细胞计分结果
例数(%)

c-kit ⁺ 细胞计分			
	+	+ ~ ++	++
对照组	2(12.5)	3(18.8)	11(68.7)
便秘组	7(43.7)	5(31.3)	4(25.0)

$\chi^2=6.544, P<0.05$

3 讨论

慢传输型便秘是因结肠传输功能减慢使肠内容物滞留于结肠而引起的顽固性便秘。我们参照刘海峰的方法^[8],通过给大鼠每日饲喂复方苯乙哌啶 8 mg/kg,90 d 后首粒黑便排出时间、日均排便粒数和平均每粒粪便质量的测定结果表明慢传输型便秘模型的复制是成功的。复方苯乙哌啶是非特异性止泻药,直接作用于肠平滑肌,通过抑制肠黏膜感受器,降低局部黏膜的蠕动反射,从而减弱肠蠕动,并使肠内容物通过延迟,从而促进肠的水分吸收,造成因肠蠕动抑制而致的便秘^[8]。由于这种便秘模型与临床上慢传输型便秘的病理生理过程相类似,近来常用于慢传输型便秘的发病机制研究。

本研究便秘大鼠肠道传输功能显示肠道传输时间是延长的,表明便秘大鼠存在着胃肠动力功能障碍。胃肠动力功能障碍可能与 ENS 及其递质的异

常变化有关^[4,5,9]。ENS 由胃肠道、胆胰系统中所含的神经节间的网络组成,包括黏膜下丛、深肌丛及肌间神经丛,含有大量的感觉、整合和运动神经元,对胃肠运动的兴奋、调节和抑制起重要作用。因此,ENS 又被称为“肠道的微型大脑”。ENS 具有复杂多样的神经递质,其含量或种类的多少均会引起结肠正常的运动功能发生改变。ENS 通过对其兴奋性递质和抑制性递质的调控而达到调节功能的目的。现已证实,NO 是胃肠道主要的抑制性 NANC 递质^[10,11]。NO 是以 L-精氨酸为底物,在还原性辅酶 II 等因子辅助下,由 NO 合成酶(NOS)催化生成。当 NANC 能神经受到刺激时,即释放 NO,并迅速弥散至平滑肌,使其第二信使环磷酸鸟苷(cGMP)含量增多,使胞浆 Ca²⁺ 外流并抑制 Ca²⁺ 内流,致使胞浆游离 Ca²⁺ 浓度降低,从而抑制肌动蛋白与肌球蛋白的结合,导致平滑肌舒张,胃肠运动减弱。有报道成人功能性便秘患者结肠黏膜下神经丛和肌间神经丛 NOS 阳性神经元数量和密度均较正常组明显增多、增强,黏膜内 NO 生成量增加^[12,13]。本研究显示便秘大鼠远端结肠黏膜 NO 含量与对照组比较的差异无显著性意义,与文献报道并不一致^[14]。

除了 NO 外,对胃肠道神经肽研究得较多的就是 VIP。VIP 在胃肠运动调节中主要起抑制效应,可通过直接作用于胃肠平滑肌上的 VIP 受体发挥作用,能引起人结肠平滑肌的舒张^[4,5]。VIP 作为一种抑制性神经递质,主要支配结肠下行性抑制反射,与结肠的节段非推进性运动有关,它的减少会导致结肠节段非推进性运动的增多,使结肠出现过度的节段性蠕动,这些肠段的紧缩甚至痉挛使有效的推进性运动减弱。我们利用免疫组化技术发现,VIP 阳性神经纤维在慢传输型便秘大鼠结肠黏膜的分布与对照组无明显差异,这与文献资料关于 VIP 能神经在便秘患者结肠壁内减少似有不符合之处^[13,15]。

SP 是兴奋性运动神经元递质,主要存在于肌间神经丛,能抑制胃肠道黏膜分泌,刺激肠道运动,同时存在于感觉神经元内。便秘患儿腹腔镜结肠活检,免疫荧光染色法测定,发现 SP 较正常儿童减少甚至缺乏^[16]。研究发现 STC 患者结肠肌间神经丛

SP 含量明显降低^[5]。本研究显示远端结肠黏膜 SP 含量在便秘组与对照组间的差异无显著性意义,与上述文献报道并不一致。而何俊堂等^[15]研究认为慢传输型便秘大鼠结肠壁内存在明显的神经病理学改变,结肠传输功能障碍可能与结肠肌间神经丛 VIP 和 SP 能神经病理改变和功能障碍有关。

除了 ENS,ICC 是胃肠道慢波的起博者,呈网络状结构分布于整个胃肠道,并参与 NANC 神经信息传递,有潜在的控制胃肠道动力的作用^[6, 17]。c-kit 为一种原癌基因,位于 5 号染色体 w 位点上,其表达的原癌基因产物-酪氨酸激酶受体 c-kit 是 ICC 的特异性标记。因此,利用 c-kit 作免疫组化研究可以检测肠道中 ICC^[7, 18]。研究表明,许多胃肠动力障碍性疾病,如 STC、先天性贲门失弛症、先天性巨结肠、慢性假性肠梗阻等,存在 ICC 数目减少和网络异常,但机制不清^[17, 18]。慢传输型便秘患者结肠组织中 ICC 呈不规则分布,数量减少且体积明显缩小,导致异常的不规则慢波,使胃肠平滑肌收缩运动减慢,结肠转运缓慢,因此 ICC 异常可能是慢传输型便秘的病因之一^[18~21]。本研究利用 c-kit 抗体标记 ICC 后对比两组大鼠远端结肠阳性细胞数量,便秘组大鼠 ICC 数量减少,与对照组的差异有显著性意义。表明慢传输型便秘大鼠结肠黏膜 ICC 数量减少是主要的病理生理机制。

研究表明,慢传输型便秘大鼠存在 ICC 数量减少,可能影响到肠神经系统内其他神经细胞的发育及其功能的正常发挥,从而出现结肠动力减弱。本研究未能证实 NO、SP 和 VIP 在便秘模型大鼠中的调节作用,由于结肠黏膜内的各种神经和神经递质的复杂性,有关便秘的病理机制尚待进一步研究。

[参 考 文 献]

[1] Youssef NN, Sanders L, Di Lorenzo C. Adolescent constipation: evaluation and management [J]. *Adolesc Med Clin*, 2004, 15 (1):37-52.

[2] Wong SW, Lubowski DZ. Slow-transit constipation:evaluation and treatment[J]. *ANZ J Surg*, 2007, 77(5):320-328.

[3] Andromanakos N, Skandalakis P, Troupis T, Filippou D. Constipation of anorectal outlet obstruction: pathophysiology, evaluation and management [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(4): 638-646.

[4] Hansen MB. The enteric nervous system II: gastrointestinal functions[J]. *Pharmacol Toxicol*, 2003, 92(6):249-257.

[5] 陈兰,刘诗. 肠神经系统与慢传输型便秘[J]. *国际消化病杂志*, 2007, 27(3):178-179.

[6] Streutker CJ, Huizinga JD, Driman DK, Riddell RH. Interstitial cells of Cajal in health and disease. Part I: normal ICC structure and function with associated motility disorders[J]. *Histopathology*, 2007, 50(2):176-189.

[7] 陈洁,卜平. Cajal 间质细胞与慢传输型便秘研究的现状与趋势[J]. *国际消化病杂志*, 2008, 28(5):383-384, 412.

[8] 刘海峰,何俊堂,汪兴伟,姜利国. 大鼠慢传输型便秘模型的建立及其结肠机电变化检测[J]. *武警医学*, 2004, 15(12): 887-891.

[9] Tomita R, Igarashi S, Fujisaki S, Tanjoh K. The effects of neurotensin in the colon of patients with slow transit constipation[J]. *Hepatogastroenterology*, 2007, 54(78):1662-1666.

[10] Bornstein JC, Costa M, Grider JR. Enteric motor and interneuronal circuits controlling motility [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2004, 16(Suppl 1):34-38.

[11] Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. Nitric oxide in gastrointestinal health and disease[J]. *Gastroenterology*, 2004, 126(3): 903-913.

[12] Tomita R, Fujisaki S, Ikeda T, Fukuzawa M. Role of nitric oxide in the colon of patients with slow-transit constipation[J]. *Dis Colon Rectum*, 2002, 45(5):593-600.

[13] 易宏辉,李富军,邹益友. 特发性便秘患者乙状结肠黏膜 VIP、NOS 阳性神经的变化[J]. *现代生物医学进展*, 2008, 8(4):679-682.

[14] 赵士彭,桂林,卞红磊,张燕,赵发,王莹. 便秘大鼠肠壁内一氧化氮合酶表达和肠嗜铬细胞改变的可复性研究[J]. *结直肠肛门外科*, 2008, 14(1):21-24.

[15] 何俊堂,刘海峰,房殿春,龙庆林,王国安. 慢传输型便秘大鼠结肠肌间神经丛内 VIP 能神经、SP 能神经的免疫组化研究[J]. *消化外科*, 2004, 3(2):122-124.

[16] Granot E, Wengrower D, Lysy J, Waldbaum C, Karmeli F, Goldin E. Substance P in rectal mucosa of children with chronic constipation[J]. *Acta Gastroenterol Latinoam*, 2001, 31(1):41-45.

[17] Farrugia G. Interstitial cells of Cajal in health and disease[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2008, 20(Suppl 1):54-63.

[18] Wang LM, McNally M, Hyland J, Sheahan K. Assessing interstitial cells of Cajal in slow transit constipation using CD117 is a useful diagnostic test[J]. *Am J Surg Pathol*, 2008, 32(7):980-985.

[19] Jain D, Moussa K, Tandon M, Culpepper-Morgan J, Proctor DD. Role of interstitial cells of Cajal in motility disorders of the bowel [J]. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(3):618-624.

[20] Lee JJ, Park H, Kamm MA, Talbot IC. 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):1292-1298.

[21] 孙金山,王宝西. Cajal 间质细胞与胃肠动力疾病[J]. *中国当代儿科杂志*, 2006, 8(2):164-168.

(本文编辑:吉耕中)