

实验体系：小鼠胃黏膜氢离子分泌率检测

郑丽飞*、朱进霞

首都医科大学基础医学院生理学与病理生理学系，100069

* 通讯作者 E-mail:13581582937@163.com

电话：13581582937

郑丽飞：博士、副教授、硕士生导师，撰稿；朱进霞：博士、教授、博士生导师，修订。

通讯地址：北京市丰台区右安门外西头条 10 号

一、实验目的

了解小鼠胃黏膜泌酸腺氢离子检测方法。

二、材料用具及仪器药品

检测样品：小鼠胃体黏膜

检测仪器：非损伤微测系统（科研平台）或非损伤微测系统（研发平台）

使用耗材：NMT 专用固体 H^+ 流速传感器

所需药品：141.8 mmol·L⁻¹ NaCl, 5.9 mmol·L⁻¹ KCl, 1.2 mmol·L⁻¹ MgCl₂, 10 mmol·L⁻¹ HEPES acid, 5.6 mmol·L⁻¹ Tris, 2.56 mmol·L⁻¹ CaCl₂, 2 g glucose, pH 7.4. 100 mmol·L⁻¹ 组胺, 300 mmol·L⁻¹ 西咪替丁。

用具：体视显微镜，硅胶板，培养皿，CO₂，移液枪，枪头若干。

三、原理

胃黏膜主要由分泌胃酸的壁细胞、分泌胃蛋白酶原的主细胞和分泌黏液的黏液细胞构成，这些细胞相互协调共同参与胃内的消化过程。胃酸（HCl）来源于壁细胞，是通过壁细胞顶端膜及基底膜的多种转运蛋白和离子通道协同作用产生。在刺激状态下，壁细胞顶膜侧的 H^+/K^+ -ATPase、Cl⁻ 分泌通路

和 K^+ 循环通路以及基侧膜的 Cl⁻ 吸收通路共同参与胃酸的分泌过程。组胺可刺激胃酸分泌，通过与壁细胞膜上的特异性受体结合，引起细胞内 cAMP 水平增高，使细胞膜上的离子通道和转运蛋白活化，从而增加 HCl 的分泌。

四、方法步骤

1、离体胃体黏膜组织制备：小鼠吸入二氧化碳进行安乐死。取出胃，保留胃体，沿胃大弯侧剪开胃体，清洗后在放置在硅胶板上固定、在体式显微镜下分离黏膜层。

2、将胃体黏膜放入盛有 5mL 测试液的培养皿中固定平衡 30min。

3、更换测试液后放入 NMT 系统中检测胃体黏膜腔面膜 H^+ 流速。

4、瞬时加入终浓度为 100mM 组胺，继续检测 H^+ 流速 10min。

5、再加入终浓度为 300mM 西咪替丁，并继续进行 H^+ 流速检测。

收稿日期：2022-12-22

五、实验报告

根据实验结果，解释加入组胺、西咪替丁后 H^+ 变化的生理现象及原理。

六、预期结果

胃体黏膜加入组胺处理之后， H^+ 分泌增强；进一步加入西咪替丁后， H^+ 分泌逐渐减小。

七、思考题

1. 为什么 NMT 能够快速检测到胃体黏膜 H^+ 流速？

答：NMT 是一种超高灵敏度，非接触方式、以流速为单位，检测材料外部离子分子浓度及梯度的技术，能够快速检测到样品分子离子的变化。

2. NMT 能否检测人工培养的壁细胞的氢离子流速，与急性分离的胃黏膜组织检测是否有区别？

答：可以检测人工培养的壁细胞。正常生长的胃黏膜壁细胞和人工培养的壁细胞在活性层面上会有所区别。正常生长的胃黏膜壁细胞所反应出来的数据将会更贴近真实活体的数据。

八、参考文献

[1]Zheng LF, Ji T, Guo ZH, Wang T, Xiu XL, Liu XY, Li SC, Sun L, Xue H, Zhang Y, Zhu JX(2020). $Na^+-K^+-2Cl^-$ cotransporter 2 located in the human and murine gastric mucosa is involved in secretagogue-induced gastric acid secretion and is downregulated in lipopolysaccharide-treated mice. *Eur J Pharmacol* 880,173162. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173162.

（责任编辑：李雪霏）