

分數_____

考生編號_____

二〇〇三年國際生物奧林匹亞國手選拔營實作試題

(第 B 試場 理 3009)

實驗題目 內毒素引發的老鼠小腸組織病理變化：杯狀細胞黏液分泌作用(goblet cell mucus secretion)

研究背景

以高劑量(15 mg/kg)內毒素(endotoxin, lipopolysaccharide)予大鼠股靜脈注射，進入週邊血液循環，內毒素會刺激免疫細胞，使之釋放引起發炎的細胞介素(inflammatory cytokines)，在 0.5-2.0 h 之後，會引發腸道發生廣泛的發炎反應，這是由於許多小靜脈發生血漿滲漏(plasma leakage)而造成，我們用印地安墨汁(India ink)標識滲漏小靜脈(leaky venules)，然後做好腸道的整裝標本(whole mount)，以形態計量學方法，算出滲漏小靜脈的面積密度，藉以評估血漿滲漏程度，為正常者的 2.5-5.0 倍(見圖 C、圖 D)。

消化道發炎，常引起黏液分泌(mucus secretion)，小腸黏膜表面的上皮組織(epithelial tissue)有很多儲存黏液的杯狀細胞(mucus-storing goblet cell)(見圖 A、圖 B)。在內毒素引起發炎之時，引發黏液之分泌作用之程度，要以病理組織切片，做顯微研究分析。

研究目的

研究內毒素引起的小腸杯狀細胞之黏液分泌作用

材料與方法

一、老師已做成的部分：

(1)動物實驗：大白鼠在以戊巴比妥(50mg/kg 體重)行腹膜腔內注射麻醉之後，予其股靜脈注射一劑印地安墨汁(1ml/kg 體重)，接者又從靜脈注射一劑內毒素(15mg/kg)，待 1 小時之後，切開胸腔由左心室灌注含甲醛、戊二醛的 0.05 M phosphate buffer, pH7.4，進入血液循環為時數分鐘之久，此舉為了固定器官系統的組織細胞，以便取下器官，做病理組織學研究。以上為注射內毒素的實驗組，內毒素的溶劑為生

理食鹽水(saline)，對照組動物予以靜脈注射 saline(1 ml/kg)，也是待 1 小時之後灌流固定，取下小腸研究之。

(2)小腸切片之製備：實驗組與對照組各取一段約 0.5cm 常的小腸組織，依次以 70%、80%、90%、100%丙酮各脫水 1 小時，殘後用塑膠包埋劑 glycol methacrylate 滲透、包埋，然後用裝在切片機的玻璃刀，切製厚度為 3 μ m 的塑膠切片，以 Alcian blue 染色，接著用 periodic acid 處理，最後用 Schiff reagent 染色，這種組織化學染色法，可以展現杯狀細胞。

(3)小腸整裝標本之製備：取 3cm 常的實驗組與對照組老鼠的小腸管，予以縱向剪開，夾在兩個載玻片之間，用 99.5%酒精脫水數天，使之展平，再進一步用 100%酒精脫水數天及用油性溶劑滲透使之透明後，封膠做成整裝標本，此舉為了展現滲漏小靜脈。

(4)顯微相片之製備(見圖 A、B、C 與 D)。

二、同學要自己做的病理組織學研究的部分

(1)提供給每位同學 2 張橫切面小腸切片，一片為對照組(注射完 saline 1 h 之後)，另一片為實驗組(注射完 endotoxin 1 h 之後)厚度為 3 μ m，已用 Alcian blue 及 periodic acid - Schiff reagent 染色過。

(2)提供給每位同學 1 張彩色顯微相片，圖 A、圖 B 為小腸切片 200 倍的顯微圖片，展現絨毛的組織結構及細胞種類，杯狀細胞儲存黏液(糖蛋白)，Alcian blue 及 periodic acid - Schiff reagent 將之染成紅色或藍色。圖 C、圖 D 為小腸整裝標本的 40 倍的顯微圖片(註：沒有提供此整裝標本)。

(3)提供給每位同學 1 台光學顯微鏡，在顯微鏡下研究小腸杯狀分泌活動，區別釋放黏液杯狀細胞、未釋放黏液杯狀細胞，釋放黏液杯狀細胞將黏液排放至絨毛之間空隙(space between villi 如圖 A、圖 B)，其細胞質突出深入絨毛空隙，有的細胞已將細胞質裡的黏液排空。未釋放黏液杯狀細胞，則是細胞質裡充滿黏液，沒有突入絨毛間隙的現象。

每一玻片選一切片，各舉出三個絨毛間隙的下列數據：
每一絨毛間隙的釋放黏液杯狀細胞數目
每一絨毛間隙的未釋放黏液杯狀細胞數目
每一絨毛間隙的杯狀細胞總數(包括以上兩者)
釋放黏液杯狀細胞數目的百分比%
未釋放黏液杯狀細胞數目的百分比%
在三個絨毛間隙的杯狀細胞以上數據的平均值

實驗結果

實驗結果之紀錄、圖解、討論與結論