

研究报告

利用假型反转录病毒对大部分胰腺切除后再生细胞的世界系追踪

张丽新, 鞠晓芳, 王法, 郭智伟, 朴善花, 滕春波

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040

摘要: 胰腺是一个重要的内外分泌混合腺, 胰腺发生损伤后能够再生。为了探讨胰腺活体细胞世界系追踪的方法和胰腺损伤后再生细胞的来源, 分别通过胰腺伤口涂抹并胰内注射、尾静脉注射及腹腔注射三种方法, 利用假型反转录病毒对成体小鼠大部分切除后胰腺的细胞进行世界系追踪。结果发现在活体条件下, 与尾静脉注射及腹腔注射法相比, 胰腺伤口涂抹并胰腺内注射反转录病毒的方法能够更有效的标记胰腺细胞; 而且, 通过对标记细胞的世界系追踪研究证明, 在胰腺损伤后, 胰腺腺泡细胞能够接受损伤信号刺激发生再生。为今后进一步利用反转录假病毒对活体胰腺进行细胞命运追踪研究奠定基础, 为利用反转录病毒载体进行胰腺疾病的基因治疗提供线索。

关键词: 反转录病毒, 胰腺大部切除, 细胞世界系追踪, 再生

Cell Lineage Tracing of Regenerating Cells after Partial Pancreatectomy Using Pseudo-type Retrovirus

Lixin Zhang, Xiaofang Ju, Fa Wang, Zhiwei Guo, Shanhua Piao, and Chunbo Teng

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Pancreas is an important mixed gland having both endocrine and exocrine functions, and has been proven regeneration after injury. To explore the cell lineage tracing methods in pancreas *in vivo* and the regenerate cells source, we used pseudo-type retrovirus to transfect adult mouse pancreas which had been partially pancreatectomized by rubbing the kerf using a cotton stick saturated with retrovirus suspension then injecting 100 μ L retrovirus suspension into pancreas, injecting 100 μ L retrovirus by caudal vein, or interperitoneally injecting retrovirus respectively. The results showed that the method of rubbing the kerf then injection of retrovirus suspension into pancreas could more effectively mark the pancreatic cells than the caudal vein injection and the intraperitoneal injection did *in vivo*. Furthermore, this study also found that some acinus cells could accept injury stimulus signals to regenerate through resuming mitosis after pancreatic injury. This study establishes a cell lineage tracing method in pancreas *in vivo* using retrovirus and offers a clue for gene therapy of pancreatic diseases using retrovirus vectors.

Keywords: retrovirus, partial pancreatectomy, cell lineage tracing, regeneration

Received: August 31, 2007; **Accepted:** November 15, 2007

Supported by: the Initiative Scientific Research Foundation for Postdoctor Back to Heilongjiang Province, and the National Natural Science Foundation of China (No. 30670304).

Corresponding author: Chunbo Teng. Tel: +86-45182191784; E-mail: chunboteng@yahoo.com

博士后落户黑龙江科研启动金, 国家自然科学基金面上项目(No. 30670304)资助。

胰腺是一个内外分泌混合腺, 胰腺的内分泌功能发生障碍会导致糖尿病。将实验动物的胰腺经特异药物处理或物理伤害后都会使胰腺发生损伤, 血糖升高。一些研究已经表明, 胰腺受到损伤后, 能够发生再生, 从而使胰腺功能得到部分或完全恢复^[1-5]。但再生的胰腺细胞是来源于干细胞还是胰腺细胞的自我分裂还有争议^[6,7]。

细胞世系追踪(Cell lineage tracing)是一种在动物发育早期对某些特定细胞进行标记, 经过一段时间后, 通过检测标记物来研究发育早期标记细胞发育命运的一种技术^[8]。细胞世系追踪通常包括 3 种方法: 第一种方法是利用标记物(如中性红、尼罗蓝等活体染料)注射到要追踪的细胞中, 或利用含染料的琼脂片贴到要标记的细胞上。这种方法适用于早期胚胎发育过程中细胞命运的追踪和分析, 但难于操作和不能标记某种特异的细胞类型; 第二种方法是用携带有报告基因(通常是绿色荧光蛋白 GFP 或 β -半乳糖苷酶基因 *lacZ*)的反转录病毒注射到组织或细胞中。这种方法的优点是易于操作, 但无法对细胞进行区分, 不能标记特定的细胞亚型; 第三种方法是利用遗传操作的方法对表达特异基因的细胞进行世系追踪, 此种方法能够标记特异表达某种基因的细胞及其亚群, 但需要对生物进行遗传操作, 制作转基因及基因敲入动物, 操作比较费时费力。

用反转录病毒进行细胞世系追踪通常使用改造后的载体, 删去了 *pol*、*env* 基因和 *gag* 基因的 3'端, 但保留了病毒颗粒所需的 ψ + 序列, 并且加入了报告基因, 因而称为假型反转录病毒载体, 此种载体不能自我复制, 提高了载体的安全性。但在制备反转录病毒载体时, 就必须有一个包装细胞系对其进行包装和制备。假病毒载体能特异侵染旺盛分裂的细胞, 转入宿主细胞后的载体就整合到宿主细胞基因组内, 因而适于标记那些正常分裂的细胞。本研究利用细胞系包装的假型反转录病毒通过胰腺伤口涂抹并胰内注射、尾静脉注射及腹腔注射 3 种手段探讨了胰腺细胞进行世系追踪的方法和胰腺损伤后再生细胞的来源。

1 材料方法

1.1 实验材料

ICR 品系小白鼠(25~30 g), 购自长春维通利华

实验动物中心; NIH3T3 和 293GP 细胞及反转录病毒载体 PMX-IRES-GFP 和包膜蛋白质粒(VSV-G)均为本实验室保存; BrdU(5-溴 2-脱氧尿嘧啶核苷)、抗淀粉酶抗体和 DAPI 均购自 Sigma 公司; 抗 BrdU 抗体、正常动物血清和荧光标记的二抗购自北京中杉金桥公司; DMEM 培养基和胎牛血清购自 GIBCO 公司。其余化学试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 反转录假病毒的包装

将 pMX-IRES-GFP 质粒 20 μ g 和 5 μ g VSVG 混匀, 沉淀, 干燥后重悬于无菌水; 向上述 DNA 溶液中加入 2 mol/L CaCl_2 , 轻弹混匀, 室温放置 5 min; 将此溶液逐滴加入 2 \times HBS 中, 混匀, 室温放置 10~15 min。然后, 将上述 1 mL 溶液逐滴、均匀的滴加到 293GP 细胞培养皿中; 转染 20 h 后给 293GP 细胞换液, 转染 48 h 后, 3000 r/min 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min; 收集 293GP 细胞培养液, 上清分装冻于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存使用。

1.2.2 反转录假病毒的滴度检测

用于检测病毒滴度的 NIH3T3 在感染前一天低密度传至培养皿中, 感染时, 将病毒上清和靶细胞培养基按一定比例混合, 加入聚季胺盐(polybrene), 使其终浓度为 8 μ g/mL。将上述混合液体加至靶细胞中, 感染 24 h 后, 更换靶细胞的培养基, 去除假病毒, 感染 36 h 后分析假病毒滴度。制备好的假病毒液体保存在 -80 $^{\circ}$ C 备用。

1.2.3 小鼠胰腺大部分切除手术

对 6~8 周 ICR 小鼠饥饿处理 12 h, 麻醉, 实施胰腺大部分切除手术。首先打开腹腔, 找到胰腺连接脾的部位, 将连脾的部分用棉签轻轻移除, 仅保留与肠系膜相连部分, 缝合腹腔。对照小鼠同样进行麻醉及打开腹腔, 但不切除胰腺。

1.2.4 反转录假病毒感染胰腺大部分切除小鼠

利用制备好的 pMX-IRES-GFP 分别按照如下 3 种方法处理小鼠: 1) 将小鼠腹腔打开, 切除胰腺尾部, 用棉签沾取病毒悬液轻轻涂抹伤口部位, 并将 0.1 mL 病毒悬液直接注射进入到剩余胰腺中, 然后将胰腺放回腹腔中, 缝合伤口; 2) 将小鼠胰腺大部分切除后缝合, 待小鼠苏醒再通过尾静脉注射病毒悬液, 剂量为 0.1 mL/只小鼠; 3) 将小鼠胰腺大部分切除后缝合, 待苏醒后再通过腹腔注射病毒悬液,

剂量为 0.1 mL/只小鼠。各组对照小鼠分别用生理盐水代替病毒悬液处理。上述 3 组动物在反转录假病毒处理 5 d 后颈椎脱臼处死, 取出剩余部分胰腺, 快速冷冻于 -80°C 冰箱。

1.2.5 胰腺大部分切除后剩余胰腺增殖情况分析

分别在胰腺切除后 1、3、5 d 小鼠腹腔注射 BrdU(50 mg/kg), 注射 6 h 后颈椎脱臼处死, 取出剩余胰腺, 在液氮中快速冷冻, 保存在 -80°C 冰箱中。

1.2.6 免疫染色及荧光显微镜观察

不同处理小鼠胰腺冰冻材料用冰冻切片包埋剂 OCT 冷冻包埋, 冷冻切片机上切片, 切片厚度为 10 μm 。每个试验动物至少有 3 张不连续切片用于一个抗体的免疫染色反应或 GFP 荧光观察。对于 BrdU 抗体的组化染色, 切片在 4% 多聚甲醛固定 10~15 min; 2 mol/L HCl 室温处理 60 min 使 DNA 变性; 0.1 mol/L 硼酸钠中和 10 min; 37°C 10% 正常马血清或驴血清封闭 1 h, 一抗孵育 4°C 过夜; 第二天用适当比例稀释的同种动物来源的荧光标记二抗孵育, DAPI 复染细胞核, 封片观察。

2 实验结果

2.1 包装的反转录假病毒感染 NIH3T3 细胞及滴度测定

将包装好的反转录假病毒进行 50 \times 、500 \times 、5000 \times 、50 000 \times 、500 000 \times 梯度稀释后分别加入 6 孔板中的 NIH3T3 细胞, 假病毒接入 36 h 后在荧光显微镜下观察细胞的标记情况。结果发现, 在病毒稀释 50 \times 的处理组孔板中有大量的 GFP 阳性的细胞, 为已经被假病毒感染的细胞(图 1A); 而在假病毒被 500 \times 、5000 \times 、50 000 \times 稀释后接种的孔板中, GFP 阳性细胞密度逐渐降低; 当病毒被 500 000 \times 稀释后, 每个孔板中仅有少数细胞为 GFP 阳性(图 1B), 对 3 个孔内的 GFP 阳性细胞计数后计算可知, 包装的反转录假病毒滴度为 2×10^7 cfu/mL。

2.2 通过不同处理方法利用反转录假病毒活体标记胰腺损伤后的增殖细胞

将包装好的滴度为 2×10^7 cfu/mL 的反转录假病毒通过胰腺伤口涂抹并胰内注射、尾静脉内注射及腹腔注射 3 种方法研究了反转录假病毒对损伤后胰腺的标记情况。对病毒涂抹伤口并胰内注射组, 在处理 5 d 后取出剩余胰腺进行连续冰冻切片, 低倍荧光显微镜下直接观察发现: 在蓝光激发条件下,

切片中有明显的亮绿色区域, 为 GFP 阳性区, 这些 GFP 阳性区分散存在, 大小不等, 有的占据大半个胰腺小叶, 有的仅由少数几个细胞构成(图 2A, 2B); 以生理盐水代替病毒悬液的对照组中, 没有观察到任何 GFP 阳性区域的存在(图 2C)。

对 GFP 阳性区域在 20 倍荧光显微镜下直接观察发现, 胰腺中绝大多数的 GFP 阳性细胞为腺泡细胞(图 2D), 在少量胰岛中也存在小簇的 GFP 阳性细胞(图 2E), 而在所有切片中的导管上没有观察到 GFP 阳性细胞的存在。为了进一步验证 GFP 阳性细胞的类型, 我们利用兔抗淀粉酶抗体对切片进行了免疫荧光染色分析。结果发现, GFP 阳性细胞绝大部分都存在于淀粉酶阳性的腺泡细胞中间, 在胰岛中也有少量的阳性细胞, 在所有切片中都没有发现导管上存在 GFP 阳性细胞(图 2F~2I), 此结果与直接在荧光镜下观察的结果一致。

因而, 通过将反转录病毒涂抹大部切除胰腺伤口并注入到剩余部分后, 携带有标记基因 GFP 的反转录病毒进入了受到损伤刺激后正在增殖的某些胰腺细胞中, 并插入其基因组内。这些被标记的增殖细胞通过连续分裂形成了成片的阳性区。但在某些大片 GFP 阳性区域内也有点状分布的无荧光区(图 2B), 为 GFP 阴性细胞, 表明此大片的 GFP 阳性区并不是单个细胞克隆来源的区域, 而是多个细胞被反转录病毒标记后增殖再生形成的区域。

我们又通过腹腔注射和尾静脉注射的方法研究假型反转录病毒对小鼠胰腺的标记情况。在腹腔注射后 5 d, 取出小鼠剩余胰腺进行连续切片, 荧光镜下观察: 在所有切片上均未检查到有 GFP 阳性胰腺细胞的存在(图 3A), 仅在血管上皮上观察到较强的自发荧光(图 3B), 而这种血管上皮上的自发荧光在对照组和胰腺伤口涂抹后胰内注射组也同样存在。对所有尾静脉内注射反转录病毒的小鼠在注射后 5 d 进行连续切片观察, 也未发现任何 GFP 阳性胰腺细胞的存在, 说明通过腹腔注射或尾静脉注射反转录假病毒的方法均不能很好的标记胰腺细胞, 仅反转录假病毒涂抹并胰腺内注射法对胰腺细胞产生了较好的标记效果。

2.3 胰腺大部分切除后不同时间胰腺细胞增殖情况分析

为了探讨腺泡细胞中反转录病毒标记效率较高的原因, 我们分别对胰腺大部分切除后 1 d、3 d 和

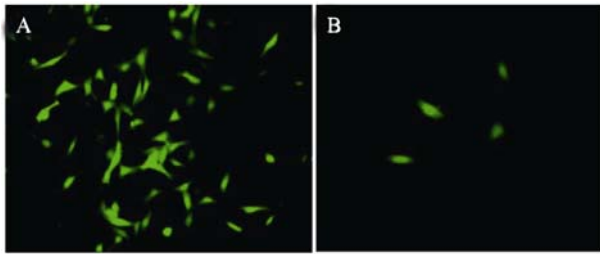


图1 利用 NIH3T3 细胞对包装好的假病毒进行滴度测定
Fig. 1 Titer determination of packaged pseudo-type retrovirus using NIH3T3 cells

A: the representative result of transfecting NIH3T3 cells by pseudo-type retrovirus supernatant after 50×dilution; B: the representative result of transfecting NIH3T3 cells by pseudo-type retrovirus supernatant after 500 000×dilution (200×)

5 d 的 6~8 周小鼠进行腹腔注射 BrdU, 通过免疫荧光染色分析胰腺手术后不同时间腺泡、导管和胰岛细胞的增殖情况。对 BrdU 阳性细胞比率分析发现, 在胰腺切除后 1 d, BrdU 阳性细胞在腺泡中比率较高, 为 2.70%; 而胰岛和导管中的 BrdU 阳性细胞极低, 分别为 0.58% 和 0; 胰腺切除 3 d 后, 剩余胰腺中胰岛和导管中 BrdU 阳性细胞急剧增加, 比率分别为 4.80% 和 3.66%, 腺泡中的 BrdU 阳性细胞也略有增加, 为 3.12%。而胰腺切除 5 d 时, 腺泡和导管中的 BrdU 阳性细胞略有下降, 胰岛中仍维持有较高的 BrdU 阳性细胞率(图 4)。

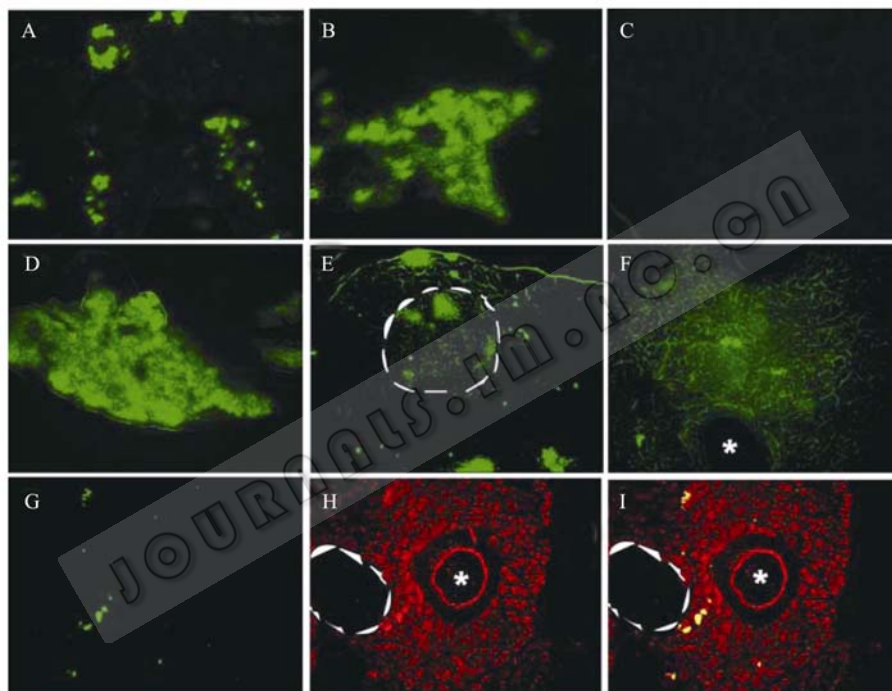


图2 通过胰腺伤口涂抹并胰内注射法导入反转录假病毒对胰腺细胞标记情况的分析
Fig. 2 Analysis of GFP expression in pancreas after rubbing the kerf then injection of retrovirus suspension into pancreas for 5 days

A~F: the results of observation directly under the fluorescence microscope (A~C: 100×, D~F: 200×). A: some dispersed small GFP positive zone marked by retrovirus; B: A big GFP positive zone marked by retrovirus; C: no GFP positive cells were found in the control group pancreas; D: most of GFP positive cells in pancreatic anismus cells; E: a little GFP positive cells in pancreatic islets, the area surrounded by the dashed line is an islet; F: No GFP positive cells in pancreatic duct, *mark a pancreatic duct. G~I: identification of GFP positive cell types by immunofluorescence methods. G: the GFP positive cells observed under microscope; H: the result of immunofluorescence staining using the antibody against amylinase; I: the merged result of G and H (G~I: 200×). *mark pancreatic duct, the area inner the dashed line is islet

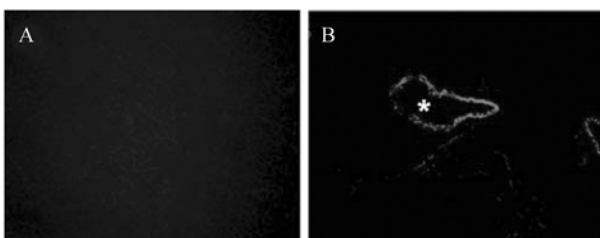


图3 通过腹腔注射法导入反转录假病毒对胰腺标记情况分析
Fig. 3 Analysis of the mark situation after interperitoneally injecting retrovirus for 5 days

A: no GFP positive cells on the pancreatic section; B: the autofluorescence could be observed on the blood vessel, *mark blood vessel (200×)

在反转录病毒处理动物的实验中, 为了增加动物存活率, 避免二次开腹手术, 病毒涂抹并胰腺内注射法导入病毒与胰腺切除操作同时进行。在胰腺切除后 1 d 内腺泡细胞增殖率较高, 导管和胰岛细胞增殖率都极低, 而反转录病毒只能进入正在分裂的细胞中并整合到 DNA 上, 这可能就是本实验中反转录假病毒对于腺泡细胞有较高标记率的原因。虽然在胰腺切除后 3 d 和 5 d 时导管和胰岛中的细胞受到刺激都有较高的增殖率, 但此时反转录病毒

已经失活, 所以胰岛和导管中极少细胞被反转录病毒标记。

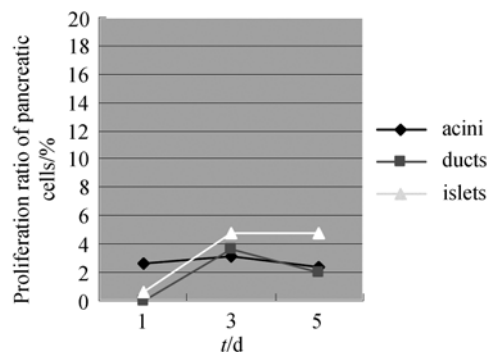


图4 胰腺大部分切除后不同时间胰腺细胞的增殖率分析
Fig. 4 Analysis of the proliferation ratio of pancreatic cells at different time points after partial pancreatectomy

3 讨论

细胞世系追踪是发育生物学研究中常用的研究细胞发育命运的方法。与其它细胞世系追踪方法相比, 反转录假病毒系统具有不需要遗传操作, 简单、快速和方便的优点。利用这种方法已经成功进行了神经嵴细胞在体内的迁移和发育命运研究^[9], 胚胎小脑皮质中祖细胞的细胞世系追踪等^[10]。Fishman等在离体条件下利用低浓度反转录病毒对培养的外植体进行孵育, 对胰腺早期发育过程中的细胞命运进行了研究, 结果发现, 胰腺所有细胞类型起源于共同的祖细胞^[11]。

利用反转录假病毒对活体胰腺进行细胞命运追踪的研究目前还未见报道。本研究通过不同处理方法, 利用反转录病毒对成体小鼠损伤后胰腺的细胞命运进行了追踪研究。结果发现, 在实验所采用的3种方法中, 通过胰腺涂抹并胰内注射方法能够较好地标记胰腺内的增殖细胞; 而通过尾静脉注射和腹腔注射的方法在胰腺内均未发现有胰腺细胞被反转录病毒标记。Gournay等(2002)在通过反转录假病毒对肝细胞进行标记, 研究化学诱导肝癌过程中细胞来源时, 也采用对部分肝切除后1d的肝脏静脉内注射反转录病毒来标记肝细胞^[12]。他们的研究发现, 通过静脉注射的方法能够很好的标记正在分裂的肝实质细胞, 其原因可能是由于肝脏具有特殊的功能, 肝中血管丰富, 全身的血液都要从此经过, 并且还有特殊的门静脉系统。而胰腺不具备这样的条件,

通过尾静脉注射的反转录假病毒无法感染胰腺细胞。

胰腺受到损伤后, 接受损伤信号刺激发生增殖的细胞被导入的反转录假病毒标记为GFP阳性细胞, 这些细胞继续增殖形成聚集的GFP阳性细胞群落。我们的研究发现, 在胰腺切除5d后, 绝大多数被标记的细胞为腺泡细胞。对胰腺切除后不同时间细胞增殖情况分析表明, 胰腺切除后1d时, 腺泡细胞有较高的增殖率, 但增殖的腺泡呈分散存在(图片未显示), 表明GFP阳性细胞集落为单个或少数具有分裂能力的腺泡细胞分裂而来, 暗示一些胰腺腺泡细胞在受到损伤刺激后具有较强的增殖能力。一些研究表明, 在受到损伤刺激后, 胰腺的增殖和再生不是个别现象。对于青年期成体大鼠胰腺进行90%切除后, 内分泌和外分泌组织都发生了相当程度的再生(Bonner-Weir等, 1993)^[13]。并且推测, 胰腺再生可能有两途径: 一条是成熟胰腺细胞分裂增生; 另一条可能是胰腺干细胞在起作用, 其增殖和分化过程可能重演了胚胎胰腺的发生过程。在本研究中, GFP阳性细胞集落均为单一细胞类型, 没有发现腺泡细胞和胰岛/导管混杂的GFP阳性细胞集落, 表明在胰腺损伤后的恢复过程中前一种再生途径的存在。并且这一再生途径最近也被利用cre-loxp小鼠进行细胞世系追踪的实验所证实^[14]。

另外有研究已经发现, 在胰腺切除后的剩余胰腺中出现了由许多密集的小导管样结构组成的快速增殖的局部区域, 这些区域是瞬时存在的, 在几天内就可以快速分化为包括胰岛和腺泡的新的胰腺小叶。类似的新生区在胰导管结扎模型(Wang等, 1995)^[15], 及糖灌注的大鼠胰岛再生模型(Lipsett等, 2002)^[2]中都被观察到, 这些结果为后一条再生途径提供了证据。但是我们没有发现可能来源于干细胞的包括胰岛、腺泡和导管均为GFP阳性的连续胰腺区域, 其可能原因有三种: (1)胰腺中的干细胞数量很少, 因而目前的反转录病毒浓度不能对其进行有效标记; (2)由于在正常成体中, 组织干细胞呈静息状态(G_0 期), 胰腺刚刚受到损伤时, 胰腺干细胞还没有被刺激进入活跃状态, 因而, 反转录病毒不能有效标记胰腺干细胞; (3)胰腺中没有多能干细胞。具体原因还需要进一步实验研究证明。

本研究通过胰腺伤口涂抹并胰内注射、尾静脉

注射及腹腔注射 3 种方法探讨了利用反转录假病毒对胰腺细胞进行世系追踪的方法, 发现胰腺伤口涂抹并胰腺内注射的方法能有效的在活体条件下标记胰腺细胞。并通过对标记细胞的世系追踪研究证明, 在胰腺损伤后, 胰腺腺泡细胞能够接受损伤信号刺激发生再生。

REFERENCES

[1] Rosenberg L. *In vivo* cell transformation: neogenesis of beta cells from pancreatic ductal cells. *Cell Transplant*, 1995, **4**: 371-383.

[2] Lipsett M, Finegood DT. Beta-cell neogenesis during prolonged hyperglycemia in rats. *Diabetes*, 2002, **51**: 1834-1841.

[3] Kodama S, Kuhlreiber W, Fujimura S, *et al.* Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice. *Science*, 2003, **302**: 1223-1227.

[4] Hayashi KY, Tamaki H, Handa K, *et al.* Differentiation and proliferation of endocrine cells in the regenerating rat pancreas after 90% pancreatectomy. *Arch Histol Cytol*, 2003, **66**: 163-174.

[5] Guz Y, Nasir I, Teitelman G. Regeneration of pancreatic beta cells from intra-islet precursor cells in an experimental model of diabetes. *Endocrinology*, 2001, **142**: 4956-4968.

[6] Dor Y, Brown J, Martinez OI, *et al.* Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*, 2004, **429**(6987): 41-46.

[7] Bonner-Weir S, Sharma A. Are there pancreatic progenitor cells from which new islets form after birth? *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2006, **2**(5): 240-241.

[8] Stern C, Fraser S. Tracing the lineage of tracing cell lineages. *Nature Cell Biology*, 2001, **3**: 216-218.

[9] Frank E, Sanes JR. Lineage of neurons and glia in chick dorsal root ganglia: analysis *in vivo* with a recombinant retrovirus. *Development*, 1991, **111**(4): 895-908.

[10] Price J, Thurlow L. Cell lineage in the rat cerebral cortex: a study using retroviral-mediated gene transfer. *Development*, 1988, **104**(3): 473-482.

[11] Fishman MP, Melton DA. Pancreatic lineage analysis using a retroviral vector in embryonic mice demonstrates a common progenitor for endocrine and exocrine cells. *Int J Dev Biol*, 2002, **46**(2): 201-207.

[12] Gournay J, Auvigne I, Pichard V, *et al.* *In vivo* cell lineage analysis during chemical hepatocarcinogenesis in rats using retroviral-mediated gene transfer: evidence for dedifferentiation of mature hepatocytes. *Lab Invest*, 2002, **82**(6): 781-788.

[13] Bonner-weir S, Baxter LA, Schuppin GT, *et al.* A second pathway for regeneration of adult exocrine and endocrine pancreas. A possible recapitulation of embryonic development. *Diabetes*, 1993, **42**: 1715-1720.

[14] Desai BM, Oliver-Krasinski J, De Leon DD, *et al.* Preexisting pancreatic acinar cells contribute to acinar cell, but not islet beta cell, regeneration. *J Clin Invest*, 2007, **117**(4): 971-977.

[15] Wang RN, Kloppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*, 1995, **38**(12): 1405-1411.



本期广告索引

企业	版位	企业	版位
默克化工技术(上海)有限公司	封底	生物谷网站	内页
Roche 诊断产品有限公司	封二	上海国强生化工程装备有限公司	内页
富士胶片(中国)投资有限公司	封三, 内页	大连亚博会展有限公司	内页
美国 Promega 公司	内页	镇江东方生物工程公司	内页
杭州博日科技有限公司	内页	赛默飞世尔科技有限公司	内页