文章编号:1000-5404(2010)20-2185-04

论著

# 大鼠胼胝体中段和压部体积及有髓神经纤维老年改变的体视学研究

闵琦理,徐 瑢,卢 伟,姜 蓉,张 蕾,龚 霞,卢 芳,唐 勇 (400016 重庆,重庆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室,干细胞与组织工程研究室)

**【摘要】 目的** 研究大鼠胼胝体中段和压部体积及其内有髓神经纤维的老年改变。**方法** 运用新的体视学方法和透射电镜技术定量研究成年、中年和老年雌性 Long-Evans 大鼠胼胝体中段和压部的体积、有髓神经纤维的长度密度、总长度、有髓神经纤维的直径。**结果** 胼胝体中段体积在老年组比成年组和中年组分别显著降低 21.5% 和 18.1%,而胼胝体压部体积变化不明显。胼胝体中段和压部有髓神经纤维的长度密度、总长度、平均直径均没有明显的老年改变。老年组大鼠大脑胼胝体中段内直径为 0.7 ~ 0.8 μm 的有髓神经纤维总长度比成年组大鼠显著减少 3.45 km,直径为 1.5 ~ 1.6 μm 的有髓神经纤维的总长度比成年组显著增加 0.5 km。老年组大鼠大脑胼胝体压部内直径为 1.2 ~ 1.3 μm 和 1.4 ~ 1.5 μm 的有髓神经纤维总长度分别较成年组大鼠显著增加 0.123 km 和 0.108 km。**结论** 老年大脑胼胝体压部没有发生显著性萎缩。老年大脑胼胝体中段体积显著性下降,胼胝体中段内小直径的有髓神经纤维总长度显著性降低可能是老年胼胝体中段体积显著性下降的重要原因之一。

**【关键词】** 胼胝体;有髓神经纤维;老年改变;体视学
**【中图法分类号】** R322.81;R323.1;R339.34 **【文献标志码】** A

# Volumes and myelinated fibers of mid-region and splenium in rat corpus callosum: age-related changes by stereological study

Min Qicheng, Xu Qiang, Lu Wei, Jiang Rong, Zhang Lei, Gong Xia, Lu Fang, Tang Yong (Department of Histology and Embryology, Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

**【Abstract】** Objective To investigate the age-related changes in the volumes of the mid-region and splenium of corpus callosum and the myelinated fibers in these areas of corpus callosum. Methods The volume of the mid-region and splenium of corpus callosum, and the length density, total length and diameters of myelinated fibers in these area of adult, middle-aged and old-aged female Long-Evans rats were studied by the use of electron microscope technique and unbiased stereological techniques. Results When compared to adult rats and middle-aged rats, the volume of the mid-region in corpus callosum of old-aged rats was significantly decreased by 21.5% and 18.1% respectively. However, there was no significant change in the volume of the splenium in corpus callosum among adult, middle-aged and old-aged rats. There was no significant change in the length density, total length and mean diameter of the myelinated fibers in the mid-region and splenium in corpus callosum among adult, middle-aged and old-aged rats. In the mid-region of corpus callosum of old-aged rats, the total length of the myelinated fibers at a diameter of 0.7 to 0.8 μm was significantly decreased by 3.45 km, and the total length of the myelinated fibers at a diameter of 1.5 to 1.6 μm was significantly increased by 0.5 km, respectively, when compared to adult rats. In the splenium of corpus callosum of old-aged rat, the total lengths of the myelinated fibers at a diameter of 1.2 to 1.3 μm and 1.4 to 1.5 μm were significantly increased by 0.123 km and 0.108 km, respectively, when compared to young rats. Conclusion The splenium region of rat corpus callosum doesn't significantly shrinks with age. The mid-region of rat corpus callosum significantly shrunks with age, which might mainly be due to the significant decline of total length of myelinated fibers with smaller diameters in this region.

**【Key words】** corpus callosum; myelinated nerve fibers; age-related changes; stereology

**【基金项目】** 国家自然科学基金(30973155);教育部博士培养基金(200806310007);重庆医科大学重点项目(XB2D200801);重庆市自然科学基金(CSTC2009BA5035)
**【通信作者】** 唐 勇,电话:(023)68485633,E-mail:ytang062@yahoo.com.cn

Supported by the National Natural Science Foundation of China(30973155), the Foundation of Doctoral Training Program From Ministry of Education of China (200806310007), the Key Projects of Chongqing Medical University (XB2D200801) and the Key Projects of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2009BA5035). Corresponding author: Tang Yong, Tel: 86-23-68485633, E-mail: ytang062@yahoo.com.cn

1863年,Huxley在《Man's Place in Nature》中提出胼胝体仅出现在哺乳动物[1],在当时引起许多科学家的关注。随着研究技术的发展,人们从解剖学、行为学、影像学等不同的方面对胼胝体进行研究,以期了解其特征。De Lacoste等[2]将大脑皮质损伤的解剖位置与胼胝体神经纤维变性的分布联系起来,发现胼胝体干部后部和压部接受来自颞-顶-枕的连接区域的纤维。胼胝体干的后部和压部的纤维终于枕叶和颞叶的背外侧面皮质以及颞叶的底面[3]。由于颞皮质与听力相关,所以如果胼胝体中段(包括anterior midbody, posterior midbody and isthmus)和压部(splenium)受损,将引起听力损伤。已有研究表明胼胝体前部和后部的大小会影响听力的不对称性[4],也有研究表明存在老年相关的听力下降[5]。胼胝体中段和压部的大小及其内的有髓神经纤维是否存在老年性改变?Takeda等[6]运用MRI技术对胼胝体进行研究后发现,胼胝体干部和压部的厚度随年龄增加而变薄,胼胝体的前后长度和最大高度随年龄增长而增加。这一研究提示,胼胝体的大体形态发生了老年改变。但是,胼胝体厚度和长度的老年改变不能清楚地反映胼胝体各区体积的老年性改变。另一项应用DTI技术对胼胝体后部神经纤维的研究显示,胼胝体后部,如压部的纤维完整性随年龄的增加而下降[7]。这表明随着年龄增加,胼胝体的神经纤维发生了损伤,但是,DTI技术无法清楚地在超微结构水平观察到有髓神经纤维。因此,本研究运用透射电子显微镜和体视学方法研究胼胝体中段和压部的体积及其内有髓神经纤维的老年性改变。

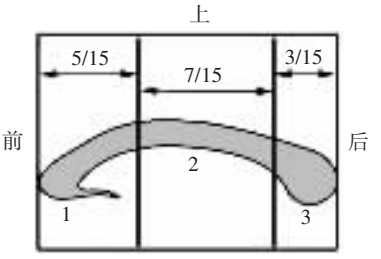
## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

成年组[7月龄,体质量(250±20)g]、中年组[18月龄,体质量(350±25)g]和老年组[27月龄,体质量(380±40)g]雌性Long-Evans大鼠各5只,由第三军医大学实验动物中心提供。

### 1.2 标本的固定与取材

用常规方法对大鼠进行腹腔麻醉、心脏灌流固定,并随机抽取一侧大脑半球[8]。为了比较胼胝体中后部不同区域的有髓神经纤维的差异,需对胼胝体进行分区,以Witelson[9]的工作为基础,将胼胝体分为三部分,前5/15为前部(包括Rostrum, Genu and Rostral Body),后3/15为后部(包括Splenium),中间剩下的部分为中段(包括Anterior Midbody, Posterior Midbody and Isthmus)。先测量胼胝体在其正中矢状面的最前点与最后点之间的长度,再基于该长度,在最前点、前5/15、后3/15和最后点处做垂线(图1),以冠状方向切取1 mm厚的连续脑组织切片,选取含有中段和压部组织的连续切片,然后随机抽取切片,于切片上随机叠放测点,在测点击中胼胝体的地方取组织块送电镜标本,每只动物中段和压部各抽取2块。




1:前部 2:中段 3:后部

**图1 胼胝体分区示意图**

### 1.3 电镜标本制备

电镜标本的制备过程同本课题组即往研究方法[10]。在放大14 400倍的透射电子显微镜下,随机选取视野进行拍照,每个组织块拍摄5~6张电镜照片,因此每只大鼠胼胝体中段和压部各得到10~12张电镜照片。

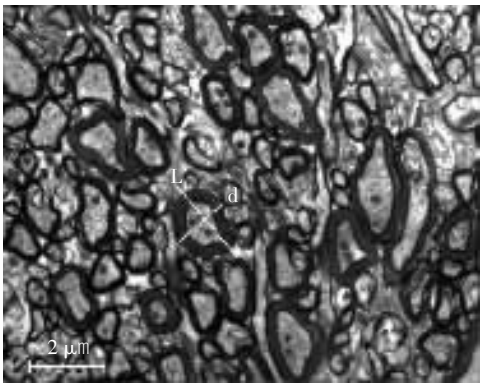
### 1.4 体视学定量分析

1.4.1 胼胝体中段和压部的体积 对胼胝体进行分区和制作连续脑组织切片后(厚度为1 mm),将计数测点放在胼胝体中段和压部的组织切片上,在解剖显微镜下计数击中胼胝体的测点数,应用卡瓦列里原理(Cavalieri's principle)分别计算胼胝体中段和压部的体积[10]。

1.4.2 胼胝体中段和压部有髓神经纤维的长度密度与总长度 有髓神经纤维以轴突为中轴,外围节段性包绕髓鞘,两节髓鞘之间的缩窄部分为郎飞结,此处无髓鞘。我们的研究对象仅包括有髓神经纤维上被髓鞘包裹的部分,不包括郎飞结。在电镜照片上随机叠加无偏计数框,计数落在计数框内、只与计数线(虚线)相交、不与禁线(实线)相交的有髓神经纤维断面[8]。每只动物胼胝体中段和压部各计数约150个纤维断面,然后应用体视学方法分别计算胼胝体中段和压部内有髓神经纤维的长度密度和总长度[10]。

1.4.3 胼胝体中段和压部有髓神经纤维的直径 测量所有被无偏计数框计数的有髓神经纤维的直径。首先确定有髓神经纤维断面的最长轴,与最长轴相垂直的有髓神经纤维的横径中最长的横径即是这一有髓神经纤维的直径[8](图2)。

将直径分为<0.1 μm,0.1~μm(包含0.1,不包含0.2,以下同),0.2~μm,0.3~μm……2.8~μm,2.9~μm,≥3.0 μm,共31个直径等级。每一直径等级内的纤维断面数除以该年龄组动物的总纤维断面数,得到每一直径等级的有髓神经纤维在该年龄组全部有髓神经纤维中所占的百分比,这一比例乘以有髓神经纤维总长度,得到每一直径等级的有髓神经纤维长度。




L：有髓神经纤维断面的最长轴；d：有髓神经纤维的直径

**图 2　有髓神经纤维直径的测量**

### 1.5　统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析。对数据进行正态分布检验和方差齐性检验后，应用单因素方差分析检验胼胝体中段、压部各参数的组间差异。应用 $t$ 检验比较胼胝体中段和压部的有髓神经纤维体积、长度密度、总长度、有髓神经纤维直径的区别。

## 2　结果

胼胝体中段和压部体积及其内有髓神经纤维老年改变的体视学研究结果见表 1。

### 2.1　胼胝体中段和压部体积的老年性改变

老年组大鼠的胼胝体中段体积较成年组下降 21.5%（$P<0.05$），老年组较中年组下降 18.1%（$P<0.01$）。压部体积未见明显老年性改变（$P>0.05$）。

### 2.2　胼胝体中段和压部有髓神经纤维长度密度和总长度的老年性改变

老年组胼胝体中段有髓神经纤维总长度较成年组和中年组分别降低 28.8% 和 27.7%，但差异没有统计学意义（$P>0.05$）。胼胝体压部有髓神经纤维总长度也未见明显老年性改变（$P>0.05$）。

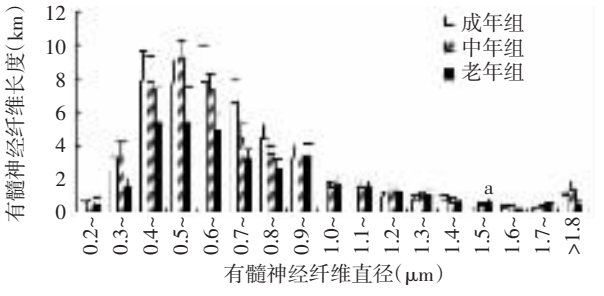
### 2.3　胼胝体中段和压部有髓神经纤维直径的老年改变

3 个年龄组之间，胼胝体中段和压部内的有髓神经纤维平均直径均不存在显著差异。

### 2.4　有髓神经纤维的总长度的分布及各直径段纤维总长度的老年性改变

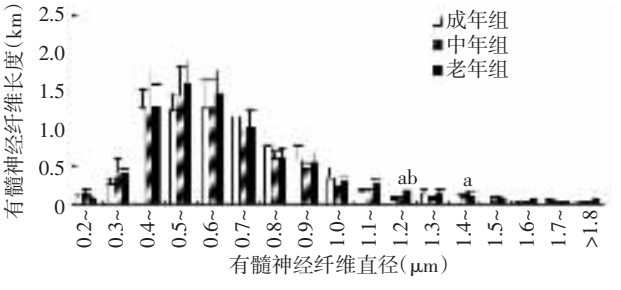
经 One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test 检验后显示 3 个年龄组的有髓神经纤维不服从正态分布，从图 3 和图 4 也可观察到其呈明显的偏态分布。胼胝体中段内有髓神经纤维直径分布范围为 0.2～2.9 μm，其中约 90% 的纤维直径为 0.3～1.4 μm；60%～70% 为 0.4～0.9 μm；小于 5‰的纤维直径大于 3.0 μm。胼胝体压部的有髓神经纤维直径分布范围为 0.2～2.7 μm，其中约 90% 为 0.3～1.2 μm，约 60%～70% 为 0.4～0.8 μm，小于 5‰的纤维直径大于 3.0 μm。

在胼胝体中段，直径为 0.3～0.9 μm 的有髓神经纤维的总长度在老年组比成年组和中年组有所降低，其中直径为 0.7～0.8 μm 的有髓神经纤维的总长度在老年组（3.152 km）比成年组（6.602 km）降低 52.3%（$P<0.05$），其他直径段有髓神经纤维长度的变化没有统计学意义；直径为 1.5～1.6 μm 的有髓神经纤维的总长度在老年组（0.614 km）比成年组（0.114 km）增加 4.55 倍（$P<0.05$）（图 3）。在胼胝体压部，直径为 0.4～0.7 μm 的有髓神经纤维总长度在老年组比成年组和中年组有所增加，但差异没有统计学意义；直径为 1.2～1.3 μm 的有髓神经纤维总长度在老年组（0.189 km）比成年组（0.066 km）和中年组（0.074 km）分别增加 1.86 倍（$P<0.05$）和 1.55 倍（$P<0.05$）；直径为 1.4～1.5 μm 的有髓神经纤维的总长度在老年组（0.113 km）比成年组（0.005 km）增加 21.6 倍（$P<0.05$）（图 4）。




a：$P<0.05$，与成年组比较

**图 3　3 组大鼠胼胝体中段有髓神经纤维总长度的绝对分布**




a：$P<0.05$，与成年组比较；b：$P<0.05$，与中年相比较

**图 4　3 组大鼠胼胝体压部有髓神经纤维总长度的绝对分布**

**表 1　大鼠胼胝体中段和压部体积及有髓神经纤维老年改变的体视学研究结果（$\bar{x}\pm s$）**

| 组别 | $n$ | 中段 | | | | 压部 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 体积（$mm^3$） | 有髓神经纤维长度密度（$km/mm^3$） | 有髓神经纤维总长度（km） | 有髓神经纤维直径（μm） | 体积（$mm^3$） | 有髓神经纤维长度密度（$km/mm^3$） | 有髓神经纤维总长度（km） | 有髓神经纤维直径（μm） |
| 成年组 | 5 | 40.6±1.97 | 1.19±0.22 | 48.4±9.04 | 0.77±0.04 | 5.46±1.02 | 1.39±0.25 | 7.47±1.92 | 0.71±0.01 |
| 中年组 | 5 | 38.8±1.17 | 1.23±0.10 | 47.6±3.82 | 0.81±0.06 | 5.46±0.85 | 1.32±0.18 | 7.23±1.62 | 0.80±0.10 |
| 老年组 | 5 | 31.8±1.22$^{ab}$ | 1.06±0.21 | 34.4±7.31 | 0.84±0.06 | 6.55±0.63 | 1.27±0.17 | 8.27±1.34 | 0.81±0.08 |

a：$P<0.05$，与成年组比较；b：$P<0.01$，与中年组比较

2.5 胼胝体中段和压部的比较

胼胝体中段体积大于压部($P<0.05$),中段有髓神经纤维总长度大于压部($P<0.05$),有髓神经纤维的长度密度和有髓神经纤维直径在中段和压部没有显著性差别($P>0.05$)。

## 3 讨论

胼胝体是连接两侧大脑半球最大的联合纤维束。目前,测定胼胝体的大小已经成为研究精神分裂症[11]、孤独症[12]、Down综合征[13]、早产的青少年神经心理行为异常[14]等疾病的重要手段。对于胼胝体大小的测定多数是通过测量其正中矢状面的面积、长度或者胼胝体的厚度获得。由于胼胝体的纤维在经过正中矢状面后会继续投向各个脑回,形成分散的辐射,其形态特殊,所以通过测量正中矢状面的参数不足以全面反映胼胝体的大小。胼胝体的体积能较好的反映胼胝体的大小。因此,本实验运用体视学方法测定胼胝体中段和压部体积的老年改变,结果表明胼胝体中段体积,在老年组分别比成年组和中年组显著降低了21.5%和18.1%,而胼胝体压部体积没有明显老年性改变。

为了了解胼胝体中段体积降低的原因,本实验进一步研究了胼胝体中段内有髓神经纤维的老年改变。结果显示有髓神经纤维的总长度在老年组比成年组减少13.9 km,比中年组减少13.2 km,均不具有统计学意义。我们继续比较了不同直径有髓神经纤维长度的改变,结果表明,直径为0.3~0.9 μm的有髓神经纤维的长度,在老年组比成年组的减少量(14.1 km)甚至多于所有直径等级有髓神经纤维的减少总量(13.9 km),其中,直径为0.7~0.8 μm的有髓神经纤维长度显著性减少了3.45 km;老年组比中年组的减少量(12.8 km)占所有直径等级有髓神经纤维减少总量(13.2 km)的96.8%。在胼胝体中段,99.5%以上的有髓神经纤维直径位于0.2~2.9 μm,在此范围内,直径为0.3~0.9 μm的纤维属于小直径的纤维。以上分析表明,老年大脑内胼胝体中段的小直径有髓神经纤维减少了,这可能是胼胝体中段体积降低的原因之一。除了小直径纤维长度发生了老年改变,较大直径的纤维长度也发生了改变(图3),其中直径为1.5~1.6 μm的纤维长度在老年组比成年组增加了0.5 km,但增加的长度远远少于神经纤维丢失的长度。综上,老年大脑胼胝体中段小直径有髓神经纤维发生了丢失,伴随相对较大直径有髓神经纤维增加,但小直径纤维的丢失起了主导作用,最终导致胼胝体中段体积变小。

Peters等[15]研究发现老年大脑有髓神经纤维的轴突保持完整,而髓鞘发生了变性。因此我们推测小直径的有髓神经纤维脱髓鞘改变可能是老年胼胝体中段小直径有髓神经纤维总长度降低的重要原因之一,这还需要进一步的研究。

本研究运用透射电子显微镜和体视学方法定量研究了胼胝体中段和压部的体积及其内有髓神经纤维的老年改变,得到了3个年龄组的基本数值,同时本研究发现,老年胼胝体中段体积存在显著性萎缩,老年胼胝体中段同时存在小直径的有髓神经纤维总长度显著降低和相对较大直径的有髓神经纤维总长度显著增加;而老年胼胝体压部仅存在较大直径的有髓神经纤维总长度的显著增加。这些研究结果为以后的研究提供了重要的参考资料。

## 参考文献:


[1] Huxley T H. Man's Place in Nature[M]. England: Williams and Norgate, 1863: 113.

[2] de-Lacoste M C, Kirkpatrick J B, Ross E D. Topography of the human corpus callosum[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1985, 44(6): 578-591.

[3] 蒋文华. 神经解剖学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2002: 349.

[4] Gootjes L, Bouma A, Van-Strien J W, *et al*. Corpus callosum size correlates with asymmetric performance on a dichotic listening task in healthy aging but not in Alzheimer's Disease[J]. Neuropsychologia, 2006, 44(2): 208-217.

[5] Howarth A, Shone G R. Ageing and the auditory system[J]. Postgrad Med J, 2006, 82(965): 166-171.

[6] Takeda S, Hirashima Y, Ikeda H, *et al*. Determination of indices of the corpus callosum associated with normal aging in Japanese individuals[J]. Neuroradiology, 2003, 45(8): 513-518.

[7] Voineskos A N, Rajji T K, Lobaugh N J, *et al*. Age-related decline in white matter tract integrity and cognitive performance: A DTI tractography and structural equation modeling study[J/OL]. Neurobiology Aging, 2010. [2010-05-11]. http://www.sciencedirect.com/science?

[8] 李琛, 杨姝, 张伟, 等. 大脑白质有髓神经纤维髓鞘超微结构定量研究的体视学方法[J]. 解剖学杂志, 2009, 32(5): 588-594.

[9] Witelson S F. Hand and sex differences in the isthmus and genu of the human corpus callosum. A postmortem morphological study[J]. Brain, 1989, 112(Pt 3): 799-835.

[10] 徐璋, 李琛, 杨姝, 等. 运用新的体视学方法研究大鼠胼胝体及胼胝体额区有髓神经纤维[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(1): 56-59.

[11] Highley J R, Esiri M M, McDonald B, *et al*. The size and fibre composition of the corpus callosum with respect to gender and schizophrenia: a post-mortem study[J]. Brain, 1999, 122(Pt 1): 99-110.

[12] Hardan A Y, Minshew N J, Keshavan M S. Corpus callosum size in autism[J]. Neurology, 2000, 55(7): 1033-1036.

[13] Teipel S J, Schapiro M B, Alexander G E, *et al*. Relation of corpus callosum and hippocampal size to age in nondemented adults with Down's syndrome[J]. Am J Psychiatry, 2003, 160(10): 1870-1878.

[14] Caldu X, Narberhaus A, Junque C, *et al*. Corpus callosum size and neuropsychologic impairment in adolescents who were born preterm[J]. J Child Neurol, 2006, 21(5): 406-410.

[15] Peters A. The effects of normal aging on myelinated nerve fibers in monkey central nervous system[J]. Front Neuroanat, 2009, 3: 11.


(收稿:2010-06-11 修回:2010-07-06)

(编辑 吴培红)