维普资讯 http://www.cqvip.com

人胚胎脑提取液的运动神经营养活性研究

韩 曙* 关华忠* 应 荣* 崔 静* 甘子明* 石东文**

【摘 要】 **目的** 从人胚胎脑中提取对运动神经元具有生物活性的神经营养因子。**方法** 用人胚胎脑组织制备提取液，以成年 Wistar 大鼠脑提取液及生理盐水为对照，在切断坐骨神经的乳鼠动物模型上，检测运动神经营养活性。**结果** 在损伤侧局部注射提取液，术后 30 天损伤侧腰髓运动神经元存活率：第 2 月人胚脑提取液组为 81.4%；第 4～5 月胎儿脑提取液组为 80.7%；成年大鼠脑提取液为 50.7%；生理盐水空白对照组为 25%。**结论** 人胚胎脑提取液与两对照组相比具有明显的运动神经营养活性。

【关键词】 胚脑提取液 运动神经营养活性

Study on motoneuron neurotrophic activity of the extract of embryo brain

Hanshu, Guan Huazhong, Yingron, et al. Department of Anatomy, Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054

【Abstract】 **Objective** To extract the neurotrophic factors with motoneuron neurotrophic activity from the brains of embryo. **Methods** The extract was prepared from the brains of embryo. The extract of adult rat and physiological saline were treated as control groups. The motoneuron neurotrophic activities of those extract were detected in sciatic nerve injured models of neonatal Wistar rats of 3 day age. **Results** Thirty days following resection of sciatic nerve, by multiple injection of the second months embryo's brain extracts at the site of axotomy, 81.4% of the corresponding motoneurons were protected from cell death. The motoneurons survival rate was 80.7% when treated with 4～5 months foetus' brain extracts and 50.7% of adult rats' brain extracts. In blank control (injecting physiological saline), there are only 25% of the corresponding motoneuron can survive. **Conclusion** The result indicated that the brain extract of the second months embryo and 4～5 months foetus all showed remarkable motoneuron neurotrophic activities compared with two controls.

【Key words】 The extract of embryo's brain Motoneuron neurotrophic activity

运动神经营养因子是目前神经生物学研究的热点之一。用运动神经营养因子的标准来检验已鉴定的神经营养因子，是寻找运动神经营养因子的一条重要途径。已有研究证实：神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)、神经营养因子—3(NT-3)、睫状节神经细胞诱导因子(CNTF)等神经营养因子的 mRNA 在脑组织中有广泛表达[1,2,3]。而胎儿时期正是神经系统发育、分化的高峰期，各种神经元迁移、增殖、建立复杂的突触联系，需要大量的神经营养因子来支持、保护和诱导。我们选择胚胎脑作为提取具有运动神经元生物活性物质的来源，并与成体鼠脑提取液作比较。

材料与方法

一、提取液制备：选择产科药流第 2 月新鲜人胚 20 个，因妊娠合并高血压、先兆子痫而人工引产的第 4～5 月胎儿 2 个。取胚胎脑，冷生理盐水(4℃)冲洗、称重后剪碎，加 10 倍冷生理盐水行组织匀浆，低温离心(4000G 4℃) 30 分

* 作者单位：830054 乌鲁木齐市新疆医科大学解剖教研室

** 兰州军区医学高等专科学校，呼图壁卫生训练大队

维普资讯 http://www.cqvip.com

钟后，取上清液超滤，做蛋白紫外定量，第2月人胚脑提取液为1.68mg/ml，第4～5月胎儿脑提取液为5.76mg/ml。Wistar大鼠两只，体重200～250g，1% 戊巴比妥钠(40mg/kg体重)腹腔麻醉下取鼠脑，提取液制备方法同上，紫外蛋白定量为3.61mg/ml。将三种提液用生理盐水稀释至蛋白含量皆为1mg/ml，分装冻存备用。

二、实验分组：取出生3天的Wistar乳鼠8窝64只，雌雄不拘，分4组，每组16只。在乙醚吸入麻醉下行右侧坐骨神经切断术。

1. 第一组：局部注射第2月人胚脑提取液。

2. 第二组：注射第4～5月胎儿脑提取液。

3. 第三组：注射成年Wistar大鼠脑提取液。

4. 第四组：注射生理盐水。

自术后第一天起每隔两日一次，每次每例注射0.1ml。术后30天，将实验动物以1%戊巴比妥钠腹腔麻醉，依次用生理盐水冲洗，10%福尔马林灌注固定，取胸段以下脊柱。

三、光镜检查：将实验动物脊柱放入1%福尔马林中24小时，取出腰段脊髓放入7.5%蔗糖、10%福尔马林混合液中固定48小时，再移入30%蔗糖中至脊髓完全沉入瓶底。将脊髓标记后水平置于冻台上，蒸馏水包埋，冰冻连续切片，片厚20μm，硫黄染色。在光镜放大4×10倍下，以事先标记的L_5平面为中心，分别计数每张连续切片在同一测试网格内左、右侧脊髓前角运动神经元数目，得出损伤侧与未损伤侧神经元数目之比。

四、数据分析处理：每一脊髓标本实验侧(右侧)与正常(左侧)脊髓前角运动神经元数目之比为该动物实验侧运动神经元存活率。计算公式为：

$$\text{实验侧运动神经元存活率} = \frac{\text{实验侧运动神经元数目}}{\text{正常侧运动神经元数目}} \times 100\%$$

用多个总体率间行×列表的卡方检验及各组存活率之间两两比较的卡方检验进行显著性分析。

结　果

三天龄乳鼠单侧坐骨神经切断术后，在各组损伤局部分别连续注射不同提取液，术后30天各组损伤侧脊髓前角运动神经元存活率见下表。

附表　各组实验动物实验侧运动神经元存活率($\bar{x} \pm s$)

组　别	例　数	实验侧神经元数目	正常侧神经元数目	存活率
第2月人胚脑组	16	839 ± 177	1031 ± 183	81.4%
第4～5月胎脑组	16	884 ± 171	1095 ± 139	80.7%
成体大鼠脑组	16	551 ± 64	1087 ± 109	50.7%
生理盐水组	16	265 ± 54	1061 ± 31	25.0%

第2月人胚脑与第4～5月胎脑提取液组运动神经元存活率与成体大鼠脑提取液及生理盐水两对照组相比均有显著性差异($P < 0.005$)，但第2月人胚脑提取液与第4～5月胎脑提取液在维持损伤后的运动神经元存活方面无显著性差异($0.5 < P < 0.75$)。成体大鼠脑提取液组存活率与生理盐水组相比差异显著($P < 0.005$)。

讨　论

本实验结果表明，第2月人胚脑提取液和第4～5月胎儿脑提取液与两对照组相比，均显示了显著的运动神经营养活性，但两者之间生物活性无明显差异。成年大鼠脑提取液与生理盐水组比较，也显示了一定的运动神经营养活性。已有研究证实，多种已知对运动神经元具有支持、营养作用的神经营养因子，如NGF、

维普资讯 http://www.cqvip.com

BDNF 和 NT-3 的 mRNA 在脑内有广泛表达[1,2,3]。这可能是脑组织提取液具有运动神经营养活性的原因。而胚胎时期正是中枢神经系统发育、分化时期，必然需要大量的各种神经营养因子来起到支持、保护、诱导的作用，这可能是胚胎时期脑组织提取液效果更好的原因。而不同时期胚胎脑组织提取液在生物活性上未表现明显差异，可能是胚胎时期中枢神经系统均处于发育，分化阶段，因之中枢神经系统内局部神经营养因子含量一直保持较高水平。

出生后早期的运动神经元具有明显的靶依赖现象，随年龄增长，依赖性呈减弱趋势。1～4天龄乳鼠切断坐骨神经可引起90%相应脊髓运动神经元死亡，而出生四周的大鼠坐骨神经切断仅能引起10%的运动神经元死亡[4,5]。因此，以乳鼠坐骨神经切断损伤动物模型作为运动神经营养活性检测方法，具有敏感、稳定、重复性好等优点。

本研究通过对比第2月人胚脑提取液、第4～5月胎儿脑提取液及成体脑提取液在体内条件下的运动神经营养活性实验研究，表明了胚胎时期的脑组织与成体脑组织相比可产生更多或更有效的具有运动神经营养活性的神经营养子。为从各种已知的神经营养因子入手，探索它们对运动神经元营养作用的机制提供了一定线索。但尚有许多问题未能阐明，脑组织提取液的运动神经营养活性是哪一种神经营养因子的作用，还是多种神经营养因子的协同效应？脑中是否还存在着某种未知的运动神经营养因子？这些问题还有待于进一步更深入的研究。

参考文献

1. 金国华，徐慧君，钟世镇. 脑源性神经营养因子研究现状. 解剖科学进展，1995，1(4)：293.
2. 殷明. 神经生长因子研究概况. 海军军事科学，1994，15(4)：235.
3. Hohn A, Leibrock J, Bailey K, et al. Identification and charaterization of a novel member of the nerve growth factor of brain devived neurotrophic factor family. Nature, 1990, 344：339.
4. Schmal BH. Motoneuron death after sciatic nerve section in newborn rats. J comp Neurol, 1984, 244：252.
5. Kashihara y, Kuno M. Cell death of axotomized motoneurons in neonatal rats, and it prevention by peripheral reinnervation. J physiol (lond), 1987, 386：135.

(收稿：1998-10-14)

·个　案·

外耳道腺样囊性癌一例

杨玉萍*

外耳道腺样囊性癌临床上较为罕见，今收治1例，报告如下。

患者，女，50岁，以左耳道肿块伴耳痛，听力下降两年收住，于97年10月30日入院，查体一般情况好，全身浅表淋巴结未及肿大，心肺腹正常，左耳道下壁可见一局限性肿物隆起，表面光滑、质中，不易出血，压痛明显，取活检报告为腺样囊性癌，于局麻加强化下行肿块扩大切除术，术中见肿物位于耳道下壁软骨部，距肿块周围边缘0.5～1.0cm处切开皮肤，软骨，深达骨质部，剥离切除肿物，凿取暴露的骨质部分，碘仿纱条填塞耳道，肿块病理报告为外耳道腺样囊性癌，术后14天，创口上皮化出院，随访一年，未见复发及远处转移。

(收稿：1998－10－19)

* 作者单位：833200　新疆奎屯兵团医院五官科