维普资讯 http://www.cqvip.com

第19卷 第4期 重庆医科大学学报 Vol. 19 No. 4
1994 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1994

282-286

7

大鼠海马内5—羟色胺免疫组化阳性纤维及终末的分布

R322.81
R354.52

解剖学教研室 张 华 彭贵成 翁嘉颖

提 要 本文用免疫组化技术(ABC法)观察了大鼠海马内5—HT免疫阳性纤维及终末(以下简称5—HT纤维),发现其中含三种类型的5—HT纤维,即中等粗细的纤维、细纤维和膨体纤维,以后两种纤维在海马中常见;同时对海马中5—HT纤维在各亚区中的分布、走行作了详尽的描述。该研究结果为海马生物学行为的认识提供了较为可靠的形态学资料。

关键词 大鼠;海马;5—HT;免疫组化
中图分类号 R322·81

曾有一些学者对大鼠海马内的5—HT纤维分布作过研究[1,2,3,4,5,6],但由于采用的方法不同,其结果亦不尽一致,且对其中的纤维类型未作详细描述,所以用高特异性和高灵敏度的ABC技术再次对大鼠海马各亚区的5—HT纤维的走行分布及类型进行研究是必要的。

材料及方法

健康雄性大鼠10只,体重150～250g。以戊巴比妥纳(40mg/kg)腹腔注射麻醉后经左心室主动脉插管灌注固定。先用0.9%NaCl100ml快速冲洗,随后灌入4%多聚甲醛1000ml(先快后慢,持续约1.5h),再以10%蔗糖缓冲液200ml灌入(持续30min)。将脑取出置于30%蔗糖缓冲液中,入冰箱(4℃)过夜,待其下沉,次日作20um恒冷箱(－15℃)连续切片。切片首先用0.3%Triton—X100处理30min,再用1∶6000的抗5—HT血清孵育3天(4℃),然后将切片移入1∶200的B—IgG及1∶100的ABC中各孵育80min[7]。最后切片放入DAB呈色液中10min显色。以上各步骤间均用0.01M的PBS彻底冲洗切片。常规明胶裱片、阴干、脱水透明及封片。光镜下观察。

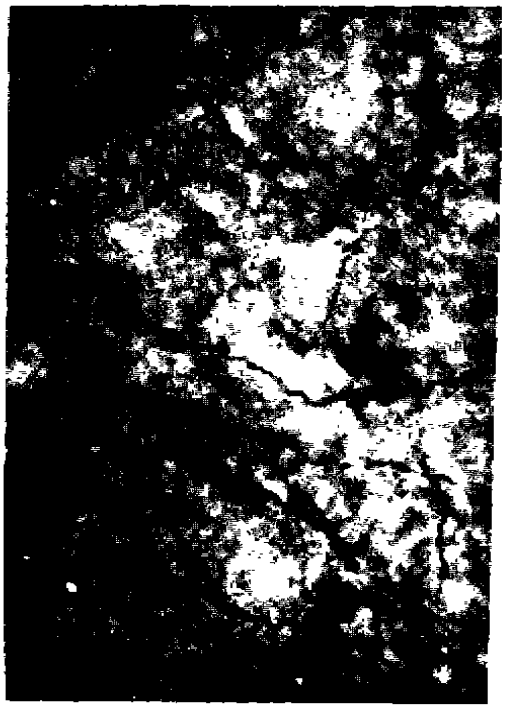
对照实验:用PBS代替一抗进行组化反应。

实验结果

海马中的5—HT纤维由形态不同分为三类(图(1)):(1)中等粗细的纤维,直径0.3～0.5μm,较长,几乎无膨体和分枝,此类纤维各亚区均少见;(2)细纤维,直径0.2～0.3μm,较长,常有少许膨体,分枝很少;(3)膨体纤维(Varicose fibers),直径约0.1μm,带多个膨体,弯曲多,分枝多,常分布成丛网状。海马中以后两种纤维占优势。

海马各亚区有密度和走行方向不同的5—HT纤维,将其总结于图(2)(图中的小黑

维普资讯 http://www.cqvip.com



图(1)：海马中三种类型的5—HT免疫阳性纤维

a. 中等粗细的纤椎　0.3～0.5μm

b. 细纤维　0.2—0.3μm

c. 膨体纤维　0.1μm

点代表5—HT纤维，其疏密代表了5—HT纤维的不同密度)。在CA_1区始层内5—HT纤维呈中等密度，以细纤维和膨体纤维为主，尤以膨体纤维占优势，其走行平行于该层，尚有少许5—HT纤维斜行或垂直于该层，也有少许纤维穿过锥体细胞层进入放射层，为数不多的纤维伸入室床；在CA_1放射层，5—HT纤维呈中等密度，仍以后两种纤维为主，该层纤维一部分垂直于该层，一部分斜行；腔隙分子层中有高密度的5—HT纤维分布，走行较为一改，与该层平行。

CA_2CA_3区的始层、腔隙分子层、放射层中存在极高密度的5—HT纤维，后两种纤维占多数，始层中的5—HT纤维多数平行于该层，在靠近伞的部分可见部分呈放射状进入始层的纤维，其余部分纤维方向性不明显。

齿状回的多形细胞层(CA_4)、分子层内均有中等密度的5—HT纤维，而颗粒层中仅含少许5—HT纤维，以细纤维为多。多形细胞层的纤维走向主要是平行或垂直于颗粒细胞层；而分子层的纤维走行方向各异。整个海马的锥体细胞层都只有稀少的5—HT纤维，主要是细纤维，这些稀少的纤维中，许多又是跨于始层和放射层之间的"过路纤维"。

用PBS代替一抗，免疫组化结果全为阴性。

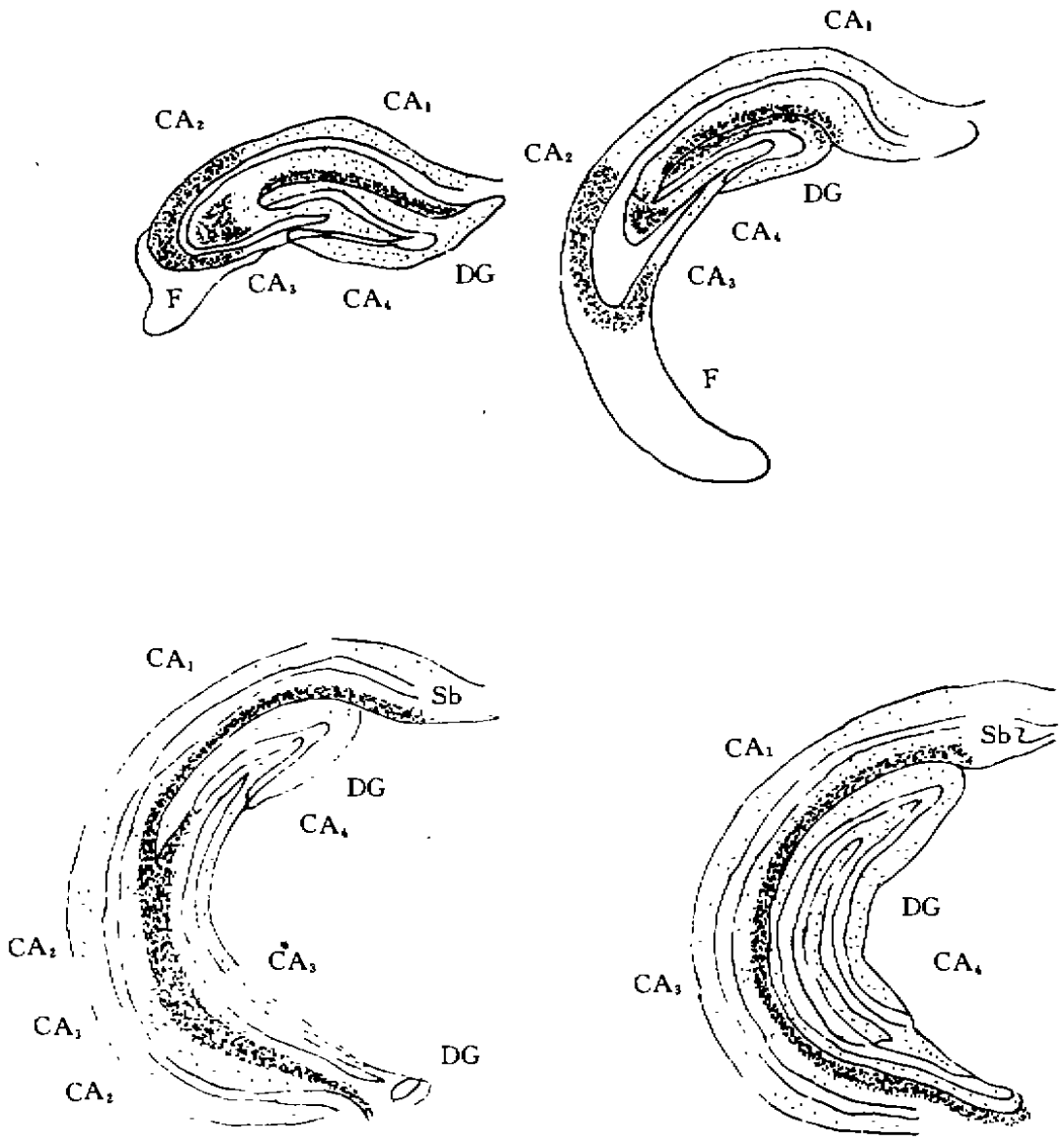
讨　论

1．方法学评价

早在50年代就有人用生化方法证明了CNS中存在5—HT。60年代初Falck创立了甲醛诱发荧光技术(FIF)，从而能在CNS组织切片上观察5—HT。Fuxe[8]用该法对大鼠CNS中的5—HT纤维作了研究，但因该法特性较差，显示5—HT能神经原和纤维的敏感性亦较低，所以未能对海马内5—HT纤维作详细描述。60年代末Weiss and Holland[9] Go Goldberg and Kotani[10]开始将放射自显影技术用于神经研究；70年代初Baumgarten[11]使用5，6—DHT作为5—HT能神经纤维损毁剂获得成功。由于这些方法的诞生，使学者们对CNS中5—HT纤维的研究有了新的手段。Moore[2]、Azmitia and stgal[12]将上述两种方法结合研究了海马内5—HT能纤维的分布，当然其结果较FIF技术的结果可靠，但由于^3H放出的低能量β—射线，在切片上只有表面2—3um范围的溴化银感光，因而只观察到切片的最浅层，有些纤维系统其末梢分布弥散，如单位面积内出现的末梢少时，不易和背景上的假像区别[13]。

80年代Lidov等[4]用免疫组化(PAP)、免疫荧光法观察大鼠海马内5—HT纤维的公布；5—HT免疫阳性纤维主要集中在齿状

维普资讯 http://www.cqvip.com



图(2):Diagram of the hippocampus at four representative rostrocaudal levels to show the distribution of 5—HT—IR fibers and terminals.

DG:Dentate gyrus 齿状回

Sb:Subiculum 下托

F:Fornix 伞

维普资讯 http://www.cqvip.com

回外缘及 CA_1 区的腔隙分子层，腔隙分子层的许多纤维切线方向走行，而始层中纤维走行各异，放射层中分布稀少，而锥体细胞层的纤维几乎不分枝。steinbusch[3]用免疫荧光法对 CNS 中的 5—HT 纤维形态进行了描述：(1)没有膨体或仅有少量膨体的纤维，长而细，直径 0.2～0.5μm；(2)带有膨体的纤维，这种纤维更细；(3)无明显膨体间连接的膨体，主要分布在 5—HT 纤维致密的区域。此后 zhou and Azmitia[6]亦用免疫组化(PAP)法研究了海马内的 5—HT 纤维，得到不同的结果：5—HT 纤维致密地分布在海马的腔隙分子层及齿状回(门区)的颗粒下层，在齿状回分子层及始层、锥体细胞层 5—HT 纤维呈中等密度分布，而齿状回的颗粒层、海马放射层偶尔有稀少的 5—HT 纤维。海马中 5—HT 纤维密度从高到低的顺序是 CA_1、CA_4、CA_3. Ihara[1]·Sotelo[5]用免疫组化(PAP)技术研究的结果与作者用 ABC 法研究结果许多地方是一致的，但也存在一些差别，比如在实验中我们观察到在 CA_1 区放射层中的 5—HT 纤维并非象 Ihara 描述都垂直于该层，也有平等或斜行纤维，从而使该区内的 5—HT 纤维呈网状；齿状回的多形层(CA_4)紧邻颗粒层处，没有观察到 Ihara 描述的呈丛状分布的 5—HT 纤维，亦无越靠尾侧密度越高的现象；此外在海马内也无 Steinbnsch[3]观察到的第三种类型的纤维，而与张遐、鞠躬[7]在终纹床核中观察到的纤维类型一致。

造成上述各自研究结果不尽一致的原因，作者认为主要是方法学的不同所致。如免疫组化(PAP)法是抗原、抗体的特性结合，其特异性及灵敏度就比 Fuxe 采用的 FIF 及 Moore 采用的 5，6—DHT 与放射自显影结合法要高。因而用免疫组化(PAP)法研究的学者发现了更多的 5—HT 纤维和脆体，即便是在同一区域内(如海马)，免疫组化(PAP)显示的 5—HT 纤维密度更大[1,2,4,5]。由此有理由认为免疫组化(PAP)法研究的结果较可靠。

导致我们的结果(ABC)与 PAP 法研究结果之间存在一些差别的原因，作者认为 ABC 法比 PAP 法有着灵敏度高(比 PAP 约敏感 4—10 倍)、非特性背景着色少(由于 Avidin 与 Biotin 之间及 Biotin 与抗血清及过氧化物酶之间均为化学结合，而 PAP 法是抗原抗体结合)[4]等优点。也正是因为 ABC 法的这些优点，作者认为研究结果是可靠的。

2、海马内 5—HT 纤维分布的功能意义探讨

5—HT 这种自体活性物质的广泛作用是通过受体来实现的。Pazos[16,17]研究发现大鼠海马中 $5—HT_1$、$5—HT_2$ 受体的分布是不同的，其中 $5—HT_1$ 受体分布多而 $5—HT_2$ 受体的分布少。$5—HT_1$ 受体又以齿状回、CA_1 腔隙分子层和 CA_1 区最高，其余亚区按密度的高低依次是 CA_1 区的始层，CA_3 的始层、CA_1 的放射层、CA_2 的锥体细胞层；相对而言，$5—HT_2$ 受体在各亚区中以齿状回腹侧部较多，CA_4 区次之，其它亚区都非常低。根据这些资料结合作者的研究结果，认为大鼠海马中存在 $5—HT_1$、$5—HT_2$ 受体与 5—HT 纤维终末的分布部分不相匹配。这种神经纤维与相应的受体的不相匹配现象在其它类型的神经纤维及终末和脑区亦被发现[7,15]。由大鼠海马内存在的 5—HT 受体与 5—HT 纤维及终末的不匹配现象推测，大鼠海马内 5—HT 系统可能也存在突触传递和旁触突传递。

注：材料中抗 5—HT 血清由第四军医大学组胚教研室提供。

参 考 文 献

1 Ihara N，et al. Acta Anat 1988；132：335
2 Moore RY，et al. J Comp Neurol 1975；164：171
3 Steinbusch HWM. Neurosci 1981；6(4)：557
4 Lidov HGW，et al. Neurosci 1980；5：207
5 Sotelo C. Brain Res 1991；541：309
6 Zhou FC，et al. Brain Res 1986；373：337

维普资讯 http://www.cqvip.com

7 张遐,等.解剖学报 1990;21:160
8 Fuxe K. Acta Physiol Scand 1965;64(Supply) 247:39
9 Weiss P,et al. Proc Acad Sci USA 1967;154:325
10 Goldberg S,et al · The anat Rec 1967;154:325
11 Baumgarten HG, et al. Acta Physiol Scand (Suppply)1971;373
12 Azmitia EC,et al. J comp Neurol 1978;179:641
13 张培林,等. 神经解剖学 第1版 人民卫生出版社 1987;5
14 朱长庚. 神经免疫细胞化学 第1版 科学出版社 1990;15
15 Herkenham M. Neurosci 1987;23:1
16 Pazos A,et al. Brain Res 1985;346:205
17 Pazos A,et al. Brain Res 1985;346:231

(收稿日期 1994—01—07)

THE DISTRIBUTION OF SEROTONIN IMMUNORECTIVE FIBERS AND TERMINALS IN HIPPOCAMPUS OF RAT

Zhang Hua,et al
Department of Anatomy

Immunohistochemistry techmique (ABC method) was applied in this experiment to strtudy serotonin immunorective fibers and terminals (5—HT fibers) in hippocampus. It was found that there were three types of 5—HT fibers:(1)The intermediate fibers;(2)The thin fibers;(3)The varicose fibers. The latter two types were commonly encountered in hippocampus and 5—HT fibers' distribution, orientation in subfields of hippocampus of rat was also observed. The results provided valuable morphological data for study of hippocampus's biological behaviour.

KEY WORDS Rat;Hippocampus;Secotonin;Immunohistochcmistry

(上接第 294 页)

ULTRAVIST VERSUS ANGIOGRAFIN: A CONTROLLED STUDY OF ADVERSE REACTIONS IN ENHANCED CT

Zhao Jiannong,et al
CT Centre,The Second Hospital.

To compare the adverse reactions of nonionic contrast media Ultravist and ionic contrast media Angiografin in enhanced CT 325 cases were injected with Ultravist,1338 cases with Angiografin. The patients were divided into three groups:The normal,high risk and aged group. They were compared by single—blind study. The superiority of Ultravist in individuals and total adverse reactions to Angiografin ($P<0.001$) was demonstrated. Though Ultravist is safer than Angiografin,there is no significant difference between the two aged grups ($P>0.05$).

KEY WORDS Contrast medium;Adverse reaction,controlled study;Enhanced CT