DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.006
第21卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 21, No. 6
1999年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 1999

胎脑黑质脑内移植后宿主重建神经环路的电镜观察*

杨 辉** 蔡文琴*** 张可成 (第三军医大学附属新桥医院神经外科) 重庆,400037

提 要 目的:为了观察胎脑黑质多巴胺能神经脑内移植后,是否与宿主神经细胞重建神经环路,发生神经整合。方法:应用光镜和电镜技术研究了脑内移植术后3个月多巴胺能移植物与宿主脑组织衔区的超微结构。结果:证明突触终末之间突触形成增多。结论:移植后宿主神经功能有改善,结合电镜观察含小颗粒囊泡终末支形成突触增多,可能部分移植细胞与宿主产生了整合、重建了神经环路。

关键词 胎脑黑质;脑内移植;重建神经环路;帕金森病
中图法分类号 R745.7

近些年来,许多研究表明脑内移植胎脑黑质细胞可以治疗帕金森病(PD),为了证明胎脑黑质多巴胺能细胞脑内移植后能与宿主神经细胞重建神经环路,发生神经整合。本研究应用光镜和电镜技术对脑内移植3个月后的多巴胺能移植物与宿主脑组织的衔接区进行超微结构观察,认为治疗该病的解剖学基础就是移植物与宿主之间重建神经环路和有突触形成。

1 材料与方法

PD大鼠模型建立、胎脑黑质细胞悬液制备以及移植操作按我们先前建立的方法进行[1]。

电镜标本取材:①胎脑黑质:将胎龄为14 d的胎鼠中脑腹侧在手术显微镜下分离出来,置于Karnovarsky液中于4℃固定48 h,然后按电镜制样常规程序进行;②移植区组织:将移植胎脑黑质后存活3个月的动物麻醉,自主动脉灌注电镜固定液,取出大脑后固定4~6 h,在手术显微镜下分离出距移植针道中心1.5 mm范围内的组织,并以针道为中心一分为四作为标本,后按电镜制样常规程序进行。

电镜标本定位及修块:电镜标本塑料包埋后行半薄片,切片做HE染色定位,根据定位切片修块,将标本移植物与宿主衔接区保留下来,行超薄切片(700 nm左右),常规铀铅染色后备用。

2 结果

在光镜下可见胎中脑腹侧神经元体积较大,胞体多呈卵圆形,核大而圆,有1~2个核仁,偶可见核分裂相;电镜下胎脑黑质细胞呈卵圆形,核/浆比例大,核淡染,以常染色质为主,含1~2个核仁,所含细胞器较少,可见粗面内质网及线粒体,无分泌颗粒,但有丰富的核糖体,并偶尔可见在黑质细胞间有致密物质形态的类紧密连接的特殊连接,见图1。

在移植物与宿主脑组织衔接区做多处切片观察,可见到较多的突触连接,有轴-轴、轴-树、轴-体突触,较多的突触前区内含有大量的突触小囊泡,直径30~50 nm,其中部分含有致密核芯,此外,在有髓神经纤维纤维末梢周围也存在许多小颗粒囊泡,见图2,3。

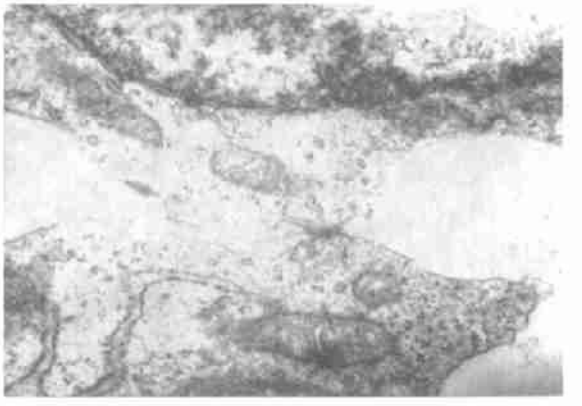


图1 电镜观察正常胎脑黑质细胞呈卵圆形,胞质少、有少量的粗面内质网,偶见类紧密连接结构 (×20 000)

Fig 1 E. M. photograph, the cells of nigra in the normal fetal brain. It was appeared as round in shape with scant cytoplasm and less rough endoplasmic reticulaum. The tight junction-like structure was observed occasionally (×20 000)

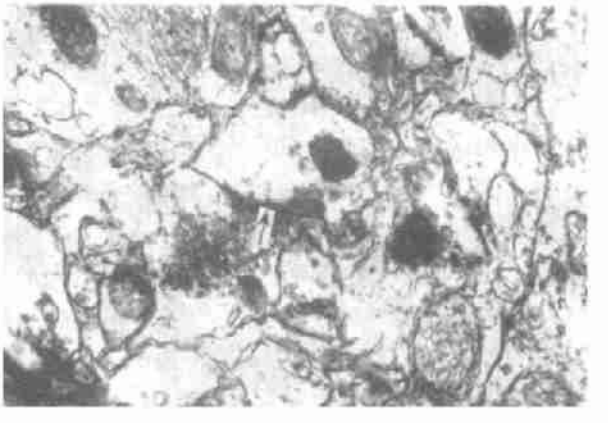


图2 移植术后3个月的移植物与宿主衔接脑区,可见突触前区有许多小颗粒位于突触前膜(箭头) (×20 000)

Fig 2 E. M. photograph, the region of the brain revealed the junction between the implantation and the host, after 3 months transplantation (×20 000)

* 国家自然科学基金资助项目,No. 39370248
** 杨 辉,男,34岁,副教授,博士
*** 基础医学部组织学与胚胎学教研室 重庆,400038

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



图3 电镜观察位于突触前膜的颗粒囊泡 (×50 000)

Fig 3 E. M. photograph. The synaptic granular vesicles localized on the pre-synaptic membrane (×50 000)

3 讨论

本研究通过对胎脑黑质的光镜与电镜观察，发现胎龄为14 d的大鼠腹侧中脑神经元生长活跃，生命力强，大量的核糖体，发达的内质网为旺盛的代谢提供了基础，适宜作为移植物，本研究所见胎脑黑质超微结构与文献[2]报道相似。胎脑黑质中含有丰富的单胺类物质，但其超微结构并未显示有分泌颗粒，其内含的单胺物质是否弥漫地存在于胞质内，还有待进一步的研究。

由于移植物事先未经特殊标记，对轴-轴、轴-树、轴-体突触很难区别何者来自移植物，何者来自宿主脑组织，根据较多的突触前区含有直径为30～50 nm，含有致密核芯的突触小囊泡的特征，电子显微学证明，此类突触小囊泡的致密核芯为单胺与锇酸形成的沉淀物，这些突触小囊泡在用6-羟基多巴胺等"伪递质"(False transmitter)孵育后，可使小囊泡内的致密颗粒更为明显，在电镜样品处理过程中，囊泡中致密核芯极易丢失，这是照片中仅有部分囊泡存在致密核芯的原因。因此，可以认为含有此种致密核芯突触小囊泡的神经末梢代表单胺能神经终枝[3]，来自被移植的胎脑黑质的可能性大，结合相关内容研究[1]中的PD鼠的改善与恢复以及多种神经功能重新正常化，本实验结果可以提示移植物与多巴胺神经元与宿主脑组织在移植后三个月可能建立了突触联系，当然，更确切的证据尚有待于标记移植物和免疫电镜的进一步观察。Olson等[4]认为PD大鼠旋转次数达7圈/min以上时(本实验所用PD大鼠旋转次数均超出此值)，黑质只有10%左右的多巴胺神经元存活，纹状体中难以见到来自黑质的TH阳性神经纤维存在。因此，本研究观察到的小颗粒突触囊泡很可能是移植物神经元合成后运送至神经末梢的。值得注意的是，有髓神经纤维末梢周围存在许多上述小颗粒囊泡，有研究认为移植物多巴胺神经元的神经纤维属于无髓纤维，有髓神经纤维来自宿主神经元[5]。如果前述突触小颗粒囊泡是移植物多巴胺能神经元合成、输送而来的话，那么，这就意味着移植物多巴胺神经元接受了来自宿主神经的神经支配，这些来自宿主神经元的神经纤维可能是属于神经肽能、胆碱能或GABA能的[6~8]。换言之，胎脑黑质脑内移植术后三个月，移植物与宿主可能发生了神经整合、重建了神经环路，依靠重建的神经环路，移植物能够有效地发挥纠正PD鼠行为异常和神经功能紊乱的功能。

参考文献

1 杨 辉，蔡文琴，张可成，等. 胎脑黑质细胞悬液脑实质移植与脑室内移植的效果比较. 中华外科杂志，1997，35(1)：19

2 Specht L A, Pickel V M, Joh T H, *et al*. Fine structure of the nigrostriatal analogue in fetal rat brain by immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase. Brain Res, 1981, 218(1～2): 49

3 蔡文琴. 胃肠道杆物性神经分布的研究进展. 见：何泽涌 主编. 组织胚胎学进展. 北京：人民卫生出版社，1987. 83～102

4 Olson L. On the use of transplants to counteract the symptoms of Parkinson's disease: Background, experimental models and possible clinical applications. New York: Synaptic plasticity and Remodeing Plenum Press, 1985. 191～209

5 Mahalik T J, Finger T E, Stromberg I, *et al*. Substantia nigral transplants into denervated striatum of the rat: Ultrastructure of graft and host inter-connections. J Comp Neurol, 1985, 240(1): 60

6 Vuillet J, Moukhles H, Nieoullon A, *et al*. connections, the special reference to dopamine-neuropeptide Y interactions in the rat striatum, after transplantation of fetal mesencephalon cells. Exp Brain Res, 1994, 98(1): 84

7 Jackisch R, Duschek M, Neufang B, *et al*. Long-term survival of intrastriatal dopaminergic grafts: modulation of acetylcholine release by graft-drived dopamine. J Neurochem, 1991, 57(1): 267

8 Segovia J, Meloni R, Gale K. Effect of dopaminergic denervation and transplant-drived reinnervation: a marker of striatal GABA ergic function. Brain Res, 1989, 493(1): 185

(收稿：1998-09-04；修回：1999-03-19)

(编辑 王 红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Electron microscopic observation on neural circuitry reconstruction between host and implants following intracerebral implantation of fetal sustantia nigra*

Yang Hui, Cai Wenqin, Zhang Kecheng (Department of Neurosurgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037)

Abstract Objective: To observe the neural circuit reconstruction and integration between host and grafts following intracerebral transplantation of cell suspensions of fetal substantia nigra. Methods: The ultrastructure of the zone between host and grafts was investigated by using optical microscope and electron microscope 3 months after the transplantation. Results: The number of synapses was increased. Conclusion: The function of the CNS is improved after transplantation. Combined with the results of EM observation that the small granular vesicles were increased, it is concluded that some of the grafted dopaminergic cells form synapse with the host to reconstruct the neural circuitry.

Key words fetal substantia nigra; intracerebral implantation; neural circuit reconstruction; Parkinson disease

* This project was supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 39670249

硬核白内障超声乳化术中真空的调节

The regulation of vacuum in phacoemulsfication of catract with hard nucleus

郑 汉* 刘 勇 石 宏 金 震 (第三军医大学附属西南医院眼科) 重庆, 400038

白内障超声乳化(Phacoemulsfication 缩写 Phaco)手术中硬核的处理是一个难题。除了选用功能不断更新的先进乳化仪和采用各种新手术方法外,笔者认为在整个乳化过程中进行合适的真空调节也可以使硬核白内障的乳化过程变得安全和容易一些。

1 材料和方法

1.1 临床资料

本组共统计了术者近半年(1997.8～1998.1)50 例共 60 眼Ⅳ～Ⅴ级核之老年性白内障手术病人。其中男 23 例(28 只眼),女 27 例(32 只眼),年龄 61～80 岁,平均 70 岁。患者不伴有角膜及前段色素膜疾病。仪器为美国眼力健公司 Diplomax 超声乳化仪。

1.2 手术方式

手术均选用球后及轮匝肌阻滞麻醉,做额上方巩膜遂道切口及鼻上方透明角膜辅助穿刺口,粘弹剂维持前房,5～6 mm 直径连续环形撕囊或开罐式截囊,水分离核。先以 Phaco 头在核上打遂道将核分成两半、四半或多块,此时真空设定在 100～200 mmHg 的中等水平。将核成功分开后,将真空调至 300～400 mmHg,依次将分开的晶体核块吸起,拖至瞳孔中心处以阻塞爆破模式对吸起的晶体核进行超声乳化,并不断配合以辅助器械进行机械碎核,此过程中晶体核块一直由高真空将其控制在 Phaco 头上。当乳化接近尾声只剩下少量薄块或最后一小块晶体核时,将真空下调至 100 mmHg 左右,并采用低能量之 Phaco 方式将残余晶体核摘除。换至 I/A(灌吸)方式后,先以 400 mmHg 左右真空清吸残留皮质,再以低于 100 mmHg 的真空抛光后囊膜。最后注入粘弹剂,囊袋内或睫状沟植入后房型人工晶体。

2 结果

60 只硬核白内障眼 56 只眼顺利完成了超声乳化手术,4 例发生后囊破裂,其中 2 例在粘弹剂的辅助下继续完成了超声乳化,2 例改为 ECCE 方式娩出晶体核。58 例实现了一期人工晶体植入,2 例未能实现一期人工晶体植入。术后次日视力:0.1～0.4 32 眼,0.5～0.6 28 眼;术后 3 日视力:0.2～0.4 20 眼;0.5～0.9 40 眼。手术时间 15～55 min,平均 26 min。Phaco 使用能量 40 s 至 2 min 15 s。

3 讨论

由于各种原因,硬核白内障已成为中国白内障 Phaco 手术医生遇到的普遍问题[1～3],硬核白内障手术过程中常遇到的问

(下转 415 页)

* 郑 汉,男,36 岁,主治医师,讲师,硕士

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net