DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.06.035

用HRP法对大鼠海马一些传入纤维的观察

阎淑枝 （生理学教研室）

海马具有镇痛功能，已从多方面得到证明。早在70年代，随着针刺原理的深入研究，发现海马在针刺镇痛过程中起一定作用。

本室多年来的神经电生理研究工作表明[1][2]，海马与痛觉关系密切。海马内同时存在对伤害性刺激起不同反应的伤害性兴奋神经元和伤害性抑制神经元，其电活动受电针和外源性吗啡的影响，刺激脑内某些结构能抑制痛兴奋神经元的诱发放电。近年来，由于方法学研究的深入开展，用放射免疫，荧光组织化学等方法显示海马内同时含有多种抑制性递质及其受体，如5－羟色胺（5－HT）及5－HT受体，γ－氨基丁酸（GABA）及GABA受体。这些资料都提示，海马可能是中枢内的重要镇痛结构之一。然而，海马参与镇痛或痛觉的传入纤维来源尚未见报导。本实验采用HRP法追踪海马与脑内一些镇痛有关结构的纤维联系，以便为海马参与镇痛原理的研究提供解剖学依据。

材料和方法

实验选用雄性大鼠21只，雌性4只，体重为200g左右，用0.4%的戊巴比妥钠作腹腔注射麻醉。在立体定位下，将30～50%的辣根过氧化酶（HRP）溶液，以微电泳或微玻管法注入左侧背海马或腹海马。动物存活24～48h。经升主动脉相继灌入PBS液冲洗，冷冻的（4℃）含1%多聚甲醛和1.25%戊二醛的0.1ml磷酸缓冲液固定，最后灌入5%的蔗糖磷酸缓冲液后立即取脑，置于10%的蔗糖磷酸缓冲液（4℃）过液。冰冻切片，厚40μm，每4片取相邻两张脑切片，按照Mesulain的TMB法进行呈色反应。裱片，用中性红复染，经各级酒精脱水，二甲苯透明，封闭后，用明视野显微镜观察。

结果

一般情况，将HRP导入海马后，在明视野显微镜下，见注射部位呈深棕色，不能辨认细胞，周围染色逐渐变浅，血管旁周细胞吞噬很多HRP颗粒，呈深棕色。针道无明显污染，离子透入区直径小于1mm。

HRP标记细胞主要出现在以下部位

下丘脑核团：将HRP注入背海马，于同侧视上核观察到许多HRP标记细胞。酶标细胞的形态多为圆形或椭圆形，且胞体较大，突起较长，标记细胞的数目比较恒定，总是在8～10个范围内变动。

尾核：不论将HRP导入背海马或腹海马，在双侧尾核都见有大量HRP标记细胞，分布密集，同侧多于对侧，胞浆内虽有大量HRP颗粒，但是大多数细胞内其细胞核清晰可见。

中央导水管周围灰质：将HRP注入海马后，于中央导水管周围灰质显示大量密集的HRP标记细胞。其形态不一，有锥形、梭形、圆形等。标记细胞胞体较大，突起长，有的标记细胞含有多个突起。

脑干：于注射侧黑质观察到HRP标记细胞。黑质的酶标细胞大多数分布在邻近的网状结构的腹外侧部。同时还发现腹侧被盖区有HRP标记细胞。另外，同侧延髓孤束核也有HRP标记细胞，所标记的细胞数量虽少，但较恒定，最多为6个，一般为3～4个。标记细胞大，其形态多数为长梭形，有较长的突起，与其他脑区的标记细胞显然不同。

丘脑束旁核：丘脑束旁核具有痛觉整合作用，本文试用HRP法追踪束旁核与海马的纤维联系，以便为痛觉原理的研究提供解剖学根据，但没有发现束旁核出现标记细胞。

标记细胞出现的部位、数量及形态见附表

讨论

丘脑下部－海马投射

Segal曾证明乳头体上核发出纤维直接投射到海马，本实验得以进一步证实。同时还观察到海马接受视上核的传入纤维投射，这为探讨海马参与内脏功能的调节、内分泌活动和情绪反应过程提供了解剖学资料。据针刺镇痛研究发现，视上核参与了镇

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

附表　大鼠海马泳入HRP后，标记细胞的分布数量及形态

电泳部位	核团	酶标细胞 同侧	酶标细胞 对侧	标记细胞形态
背海马〔13〕	视上核	++	−	圆形椭圆形、突起较长
	尾核	+++	+++	卵圆形、突起短而少
	中央导水管灰质	+++		锥形、梭形、圆形
腹海马〔12〕	尾核	+++	++	圆形、椭圆形、突起短少
	黑质	++	−	卵圆形、胞体大
	被盖	+	−	梭形、胞体大
	孤束核	+	−	长梭形、突起长

注　左侧括号内数字为实验例数

+++，标记细胞多；　++标记细胞较多

+，有标记细胞；−无标记细胞

痛过程。当破坏视上核后，明显地降低电针镇痛效应。不难推测它所发出的抑制性信息可上传至海马，对海马参与抑制内脏痛的实现施加直接的影响。

尾核－海马投射

结果表明，海马接受来自尾核的传入纤维投射。其中主要接受同侧尾核的传入纤维投射，而来自对侧尾核的传入纤维较少。据文献报导[8]，尾核与痛觉机能有关。本实验从形态学上强调了这一点。

中央导水管周围灰质－海马投射

电生理实验证明[4]，电刺激中央导水管周围灰质，可加强海马的镇痛效应。本实验证实，海马也接受中央导水管周围灰质的直接传入纤维投射。

来自脑干的纤维投射

海马接受脑干某些核团的传入纤维投射。除了前人所报导的中缝核和兰斑核发出纤维直接传入海马外，本实验还观察到海马与中脑黑质、被盖区及低位脑干孤束核间存在直接纤维联系，其功能意义尚不清楚，还有待研究。

参考文献

1. 刘祚周，等。电针对猫背海马单位放电的影响。生理学报 1981；32:328
2. 刘祚周。海马结构伤害性抑制神经元及电针对其影响。科学通报 1983；5:309
3. Lineberry CG, et al. Attenuation of pain reactivity by caudate nucleus stimulation in monkey. Brain Res 1975; 93:110
4. Mayer DT. Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. Science 1971; 74:1351

（收稿：1988.3.11；修回：1988.11.4）

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