

催产素样免疫反应神经元在鸡下丘脑的分布^{*}

——ABC 法研究

沈霞芬¹ 陈树林¹ 张登荣² 贾维真¹ 田玉山¹

(1 西北农业大学动物医学系, 陕西杨陵 712100)

(2 河北农业大学邯郸分校牧医系, 河北永年 057150)

摘 要 ABC法研究结果表明, 催产素(OT)样神经元在鸡下丘脑中分布于一条前端尖细、中央宽厚、后端钝圆的长梭形细胞带内, 带的前端达前联合核、皮质联合床核, 后端达乳头体各核团, 中央部分包括视上核、室旁核、视交叉上核、腹内侧核、腹外侧核、背内侧核、背外侧核、弓状核、室周核等。OT样神经纤维主要分布在第三脑室室周和正中隆起的中间带和外侧带。通过OT释放途径的观察, 对OT在体内的含量变化进行了讨论。

关键词 下丘脑, 催产素, 鸡, ABC法

中图分类号 S852.16

催产素(oxytocin OT)是由下丘脑分泌有关生殖的重要神经内分泌激素之一。关于产生和分泌OT的细胞定位研究报道甚多, 主要集中在哺乳动物如大鼠、豚鼠、犬、猫、猪、牛、猴和人等^[1~2]。但有关禽类这方面的研究报道甚少, 刘波等^[3]曾用PAP法研究过OT在鸡下丘脑的定位^[3]。本文在前人研究的基础上, 应用特异性强、灵敏度高的免疫组化ABC法(Avidin-biotin-peroxidase Complex method), 对鸡下丘脑中OT样神经元的定位作进一步深入探讨, 为发展家禽生殖内分泌的基础理论提供形态学方面的资料。

1 材料和方法

动物 选择健康、成年的罗斯蛋鸡4只, 体重在2 kg左右。

切片制作 颈动脉放血将鸡致死, 心脏灌注Zambonis固定液, 持续1 h后取脑, 分离切取下丘脑, 再固定4 h, 30%蔗糖溶液保存(4℃), 取出后作冰冻连续切片, 片厚40 μm, 隔2取1, 共制得3套切片。

染色 第1套切片ABC染色。主要步骤为: ① 0.5% H₂O₂ 30 min (37℃); ② 0.3% Triton X-100 1 h (37℃); ③ 1:20正常羊血清30 min (室温); ④ 加一抗, 1:7000 OT兔抗血清(美国INC产品)孵育65 h (4℃); ⑤ 加二抗, 1:220羊抗兔血清1 h (37℃); ⑥ 加ABC复合物(1:110)1 h (美国Vector产品); ⑦ 0.05% DAB加0.03% H₂O₂ 呈色5~10 min。以上各试剂均用PBS液配制, 各步骤间亦用PBS液充分漂洗。最后按常规脱水、透明、封片。第2套切片作对照试验, 用PBS液代替一抗, 其余步骤同上, 以确定本试验免疫反应的特异性。第3套切片作Nissl染色, 以确定OT阳性神经元的位置。

观察 明视野显微镜下将所制切片逐一进行观察, 参照Jungherr^[4], Tienhoven^[5]及

收稿日期: 1995-11-10

^{*} 陕西省科委基金和杨陵基金资助项目。

见到串珠状,大量见到的是密集分布的大小不等的圆形分泌颗粒,有些大的颗粒直径可达1.5 μm 左右(附图-3,4)。

2.3 OT 样神经元和神经纤维的分布

禽类下丘脑各区的分界不如哺乳动物的清楚,各核团的各称及位置亦不完全相同,禽类又有其自身固有的一些特征,因此禽下丘脑可分视前区、腹侧区、背侧区、外侧区、尾侧区五个部分,各区内均有 OT 样阳性神经元及神经纤维的分布(详见附表)。

附表 OT 样神经元及纤维在鸡下丘脑的分布

分区	核 区	各例阳性细胞数(个)				平均 (个)	比率 (%)	比率 顺序	阳性神经 纤维密度
		1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]				
视前区	斜角带核	0	0	0	0	0	0		—
	前联合核	1	3	0	0	1.00	0.07	20	—
	皮质联合床核	5	4	2	0	2.75	0.19	17	—
	视前室旁核	12	7	5	6	7.50	0.52	12	—
	视上弥散核(前)	10	14	5	8	9.25	0.64	10	—
	总 数	28	28	12	14	20.50	1.41		
腹侧区	视上核	436	503	393	192	381.00	26.20	2	++
	交叉上核	102	75	45	67	72.25	4.97	3	+
	弓状核	9	0	6	12	6.75	0.46	14	—
	腹内侧核	30	42	21	9	25.50	17.54	5	—
	腹外侧核	10	9	5	0	6.00	0.41	15	—
	正中隆起	0	0	0	0	0	0		+++
	总 数	587	629	470	280	491.50	33.80		
背侧区	室旁核	1135	867	626	643	817.75	56.24	1	++
	室周核	18	9	5	3	8.75	0.60	11	+
	背内侧核	27	18	15	21	20.25	1.39	7	—
	背外侧核	5	7	0	0	3.00	0.21	16	—
	V ₃ 室周区	0	0	0	0	0	0		+
	总 数	1185	901	646	667	849.75	58.44		
外侧区	前外侧区	12	14	3	0	7.25	0.50	13	—
	后外侧区	2	1	0	1	1.00	0.07	19	—
	总 数	14	15	3	1	8.25	0.57		
尾侧区	视上弥散核(后)	15	10	9	7	10.25	0.71	9	—
	乳头体内侧核	65	32	42	13	38.00	2.61	4	+
	乳头体外侧核	26	22	5	0	13.25	0.91	8	—
	乳头体间位核	23	35	12	15	21.25	1.46	6	—
	乳头体后核	3	1	1	0	1.25	0.09	18	—
	总 数	132	100	69	35	84.00	5.78		
	总 计	1946	1673	1200	997	1454.00			

3 讨 论

3.1 OT 样神经元在鸡下丘脑分布

从附表所示 OT 样神经元在鸡下丘脑分布的范围可以看出,向前可伸至视前区的前联合核和皮质联合床核,整个视前区的阳性神经元仅占总数的1.394%;尾侧可达乳头体各核,占5.776%;腹侧区主要含视上核等,比率达33.80%;背侧区主要含室旁核等,比率高达58.441%;外侧区的分布甚微,仅含0.567%。从整个分布范围的三维结构来看,鸡下

丘脑 OT 神经元的分布构成一条前端尖细、中间宽厚、后端钝圆的长梭形细胞带,这条细胞带覆盖了下丘脑的大部分。据 Harld^[7]对大鼠脑内各部位 OT 含量的测量,在中央导水管周围灰质、脑桥及延脑内也都含有较高量的 OT 样活性物质。试验中观察到乳头体后部亦有少量的阳性神经元。因此,这条细胞带是否还有向后延伸的可能,则有待于进一步的试验。

3.2 OT 样神经元的分布与哺乳动物之比较

本试验结果表明,禽类(鸡)也和哺乳动物一样,下丘脑亦是产生和分泌 OT 的重要区域。除了公认的在室旁核和视上核中含有较多的 OT 样神经元和神经纤维外,应用 PAP 法又将阳性核团扩大到视前区的室旁核、大细胞核和外侧核,此外还有室周核、弓状核、下丘脑外侧核及背侧区等^[3]。本研究应用 ABC 法,证明上述核区均有 OT 样神经元的分布,另外还在视前区的前联合核、皮质联合床核(禽特有核团)、视上弥散核、腹内侧核、腹外侧核、外侧区及尾侧区的乳头体各核等20个核区内发现了 OT 样神经元及神经纤维的存在。用 ABC 法又检出的核团,在过去有关禽类的报道中未曾见到,说明 ABC 法用于定位研究更为精细,也说明 OT 样神经元在鸡下丘脑的分布是比较广泛的,而且与有些哺乳动物的分布有不少相似之处^[8]。

3.3 OT 与 LHRH 神经元在分布上的异同

鸡的下丘脑,田玉山等^[9]曾用 ABC 法作了促黄体激素释放激素(LHRH)样物质的分布研究,可知在鸡下丘脑中有很多核团既能分泌 OT 亦能分泌 LHRH,如前联合核、皮质联合床核、室旁核、交叉上核、背内侧核等,但也有一些核团只能分泌其中的一种。LHRH 样神经元分布在下丘脑位置较为前移,前可达端脑隔区,且含量较多,视前区次之,背侧和腹侧分布较少,尾侧区则无,形成一条前宽大后窄小的细胞带。动物的下丘脑可分泌11种之多的肽类激素,分泌这些激素的细胞的形态、分布、相互关系及调控,将是神经内分泌学研究的重要内容之一。

3.4 OT 的释放途径及与含量的关系

经典的概念认为,OT 在神经元内合成并与运载蛋白结合后呈颗粒状,然后沿轴突经正中隆起被运至垂体神经部贮存,当机体需要时,再释放入血而作用于靶细胞。但已有很多实验证明 OT 还可直接释入毛细血管和脑脊液内^[7~10]。本试验也观察到这种现象(附图-1),特别在正中隆起阳性神经纤维集中在中间带,大多数的纤维下行达神经部,部分纤维则由此伸向外带的初级毛细血管丛,少部分则伸向内带,通过伸展细胞的突起可将分泌物转运入第三脑室而进入脑脊液。故认为下丘脑内 OT 样神经元的分泌物直接进入血液或脑脊液,可保持 OT 在体内的相对稳定性。而贮存在垂体的 OT 则根据动物不同的生理阶段,在下丘脑的调控下呈阵发性脉冲式的释放,脉冲的间隔和释放的量均有不同,这样 OT 的含量又表现出周期性的变化而具有一定的波动性的特点^[10]。

参 考 文 献

- 1 Anna Hou-Yu. Comparative distribution of vasopressin and oxytocin neurons in the rat brain using a double-label procedure. *Neuroendocrinology*, 1986, 44:235
- 2 Caverson M. Distribution and morphology of vasopressin-, neurophysin I-, and oxytocin-immunoreactive cell

- bodies in the forebrain of the cat. J Comp Neurol, 1987, 259:211
- 3 刘波,赖良学,宋德光等.催产素免疫反应神经元在鸡下丘脑的定位——FAP 法研究.兽医大学学报,1990,10 (2): 133~136
 - 4 Jungherr E L. The neuroanatomy of domestic fowl. In: Amherst M A, ed. The American Association of Avian Pathologists (Special Issue), 1969. 25~29
 - 5 Tienhoven A, Juhasz L P. The chicken telencephalon, diencephalon and mesencephalon in stereotaxic coordinates. J Comp Neurol, 1962, 118:185~198
 - 6 陈耀星,于梅芳,张雅莉等.北京鸭下丘脑与摄食行为的关系. I. 下丘脑核团的细胞构筑和立体定位. 中国农业科学集刊, 1993, 1:14~19
 - 7 Harold G, Miriam A, Mark H W et al. The biosynthesis and Secretion of oxytocin and Vasopressin. In: Knobil E ed. The physiology of Reproduction. New York: Raven Press, 1988. 2265~2282
 - 8 沈霞芬,贾维珍,戚鹏先等.奶山羊下丘脑中催产素神经元的分布——ABC 法研究.西北农业大学学报,1993,21 (4):65~69
 - 9 田玉山,沈霞芬,贾维珍等.鸡间脑及毗邻端脑区促黄体素释放激素样物质定位.中国兽医科技,1994,24(2):11~12
 - 10 王建辰主编.家畜生殖内分泌学.北京:农业出版社,1994,75~102

The Distribution of Oxytocine-Like Immunoreactive Neurons in the Chicken Hypothalamus——ABC Method

Shen Xiafen Chen Shulin Zhang Dengrong Jia Weizhen Tian Yushan

(Department of Veterinary Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The distribution of oxytocine-like immunoreactive (OT-LI) neurons and fibers in the chicken hypothalamus were studied with the ABC method. The results show that OT-LI perikarya are located in a long fusiform cell band which is from the nucleus (n.) of anterior commissures and bed n. of pallial commissure to the each n. of mammillary body. The middle part of the band includes supraoptic n., paraventricular n., suprachiasmatic n., ventromedial hypothalamic n., dorsolateral hypothalamic n., arcuate n. and periventricular n., OT-LI nerve fibers are mainly distributed in the surrounding area of the third ventricle, the medial and lateral zones of medium eminence. The various contents of OT in the body were also discussed by observing the releasing ways of OT.

Key words Hypothalamus; OT; Chicken; ABC method