

奶山羊下丘脑中催产素神经元的分布

——ABC 法研究

沈霞芬 贾维珍 戚鹏先* 张靖* 张丽

(西北农业大学兽医系, 陕西杨陵·712100)

S827.1

A

摘 要 分泌催产素的神经元主要分布在室旁核(59.1%)和视上核(17.9%),此外在穹窿周核、腹内侧核、腹外侧核、交叉上核和乳头体外侧核较多(各约占2%~4%),有少量分布在弓状核、室周核、背内侧核、环核、前连合核、下丘脑前核、下丘脑外侧区、乳头体内侧核(各1%左右)。阳性神经纤维仅见于室旁核、下丘脑前核、视上核、交叉上核等少数核团,在正中隆起和第三脑室室周可见到一定数量的阳性神经纤维。

关键词 神经元, 下丘脑, 催产素, 免疫组织化学, 奶山羊, ABC 法

中图分类号 S827.1

山羊·乳山羊

家畜的生殖,受着下丘脑神经内分泌的调控,而催产素(oxytocin OXT)则是下丘脑中神经细胞分泌的重要生殖激素之一。自70年代以来,由于免疫组织化学技术的发展,人们能够比较直观地对分泌 OXT 的神经元进行定位和形态学方面的观察研究。至今,大鼠^[1,2]、猫^[3]、猪^[4]、人^[5]的下丘脑分泌 OXT 的神经元定位已有报道。在奶山羊方面,用 TAF 法(硫代硫酸醛复红)同时显示下丘脑中分泌 OXT 和 Vp(加压素)这两种神经元的分布^[6],但不能反映出这两种神经元分布上的差异。本文应用特异性强、灵敏度高的免疫组织化学 ABC 法(Avidin-biotin-peroxidase Complex method),专门对分泌 OXT 的神经元在奶山羊下丘脑中的确切定位作进一步的研究,以便与上述动物的研究结果进行比较,同时为进一步研究 OXT 的生理功能提供形态学方面的资料。

1 材料与方方法

选择发情间期的健康雌性奶山羊4只,体重为40~50kg,用 Zambnis 灌注固定后取下丘脑置上述固定液内继续固定48h,作冰冻连续切片,片厚40 μ m,隔3取1。用其中的一套作 ABC 染色,主要程序有:(1)0.5% H_2O_2 作用30min(37 $^{\circ}C$);(2)0.3%Tritonx-100浸泡1h;(3)1:20正常羊血清室温下30min;(4)加一抗:1:7000OXT 兔抗血清(美国 INC 产品)4 $^{\circ}C$ 孵育65h;(5)加二抗:1:220羊抗兔血清1h(37 $^{\circ}C$);(6)加 ABC 复合物(1:110)室温下1h(ABC 药合美国 Vector 产品);(7)0.05%DAB 加0.03% H_2O_2 呈色5~10min。以上各试剂均用 PBS 液配制,各步骤间亦用 PBS 充分漂洗。最后按常规脱水、透明、封片、观察。取另一套切片作对照试验,用 PBS 液代替一抗,其余步骤同上,以确定本试验反应的特异性。

收稿日期:1992-06-19

* 本校91届毕业生

12198

2 结 果

用 ABC 技术染色的切片背景无色或浅黄色, OXT 免疫阳性神经元呈深浅不等的棕黑色, 为多极或双极神经元, 直径约 $12\sim 25\mu\text{m}$, 成堆或分散分布(图1-A, B)。神经元核周体内充满免疫反应颗粒, 密集时可融合成团, 呈黑褐色, 疏松时则可见到圆形的棕黄色颗粒, 核不着色, 呈空泡样, 居中或偏心(图1-C)。多数神经元可见到1~4个突起, 长的突起还有分枝, 突起内亦有反应颗粒(图1-A, D)。神经元的突起有的伸向第三脑室或伸向血管, 如在环核中有一较大的血管周围就被一些神经元及突起环绕(图1-E)。免疫反应阳性神经纤维呈棕黑色细丝状, 若含有粗大的分泌颗粒则呈串珠状, 颗粒大小不一, 形态多样(图1-F)。纤维分布不如神经元广泛, 仅在室旁核、视上核、下丘脑前核等少数核团内可以见到, 但在正中隆起可以见到中等量的呈串珠状的神经纤维。

分泌 OXT 的神经元及阳性神经纤维的分布及形态详见附表和图1, 2。

附表 OXT 神经元及神经纤维在奶山羊下丘脑的分布

核团名称	神经元数目(个)				平均(个)	所占比率 (%)	纤维密度
	羊1	羊2	羊3	羊4			
前连合核 ACN	7	0	18	0	6	0.3	—
室旁核 PVN	1141	1488	1693	981	1326	59.1	++
视上核 SON	464	432	436	273	401	17.9	+
交叉上核 SCN	68	39	74	39	55	2.5	+
室周核 PTN	14	24	45	43	31	1.4	+
环核 CIN	5	7	15	18	11	0.5	±
下丘脑前核 HAN	7	17	64	19	27	1.2	++
穹窿周核 PFN	134	114	76	70	99	4.1	—
下丘脑外侧区 HLA	41	48	17	11	29	1.3	—
腹内侧核 VMN	79	18	54	101	63	2.9	+
腹外侧核 VLN	41	42	48	56	47	2.1	—
弓状核 ARN	48	32	50	16	37	1.6	—
背内侧核 DMN	19	2	14	16	13	0.6	—
乳头体上核 SMN	42	36	13	9	25	1.1	—
乳头体外侧核 MLN	60	38	65	40	51	2.2	—
乳头体内侧核 MMN	12	42	30	8	23	1.0	—
正中隆起 ME	0	0	0	0	0	0	++

注: ++中等; +少量; ±极少; —无

3 讨 论

许多作者在多种动物的室旁核、视上核、穹窿周核、室周核、下丘脑外侧区、下丘脑前核、环核、前连合核等见到 OXT 神经元^[1~4], 本试验也在上述区域出现阳性神经元及数量不等的阳性神经纤维。此外, 在弓状核、腹内侧核、腹外侧核、背内侧核及乳头体中亦看到一定数量之神经元, 唯阳性神经纤维很少或无, 说明 OXT 神经元在奶山羊下丘脑分布可能比其他动物更为广泛。

本实验表明: 室旁核中 OXT 神经元为数最多, 平均达1326个, 占总数的59.1%, 视上

核次之,平均401个,占17.9%。可见室旁核是分泌催产素最主要的核团,其次为视上核,资料证明视上核主要分泌加压素(Vp),同时也分泌OXT^[7]。在第三脑室附近的一些核团如室旁核、室周核中有一些神经元的突起及神经纤维伸向第三脑室。同时也在室旁核、视上核、穹隆周核、环核等核团中见到一些血管被OXT神经元及纤维环绕。另外又在正中隆起部位有较密集的神纤维,而且含有明显的分泌颗粒,表明了OXT经三条途径释放:即第三脑室(脑脊液)、血管(液)、神经垂体,然后通过血液循环作用于靶细胞。

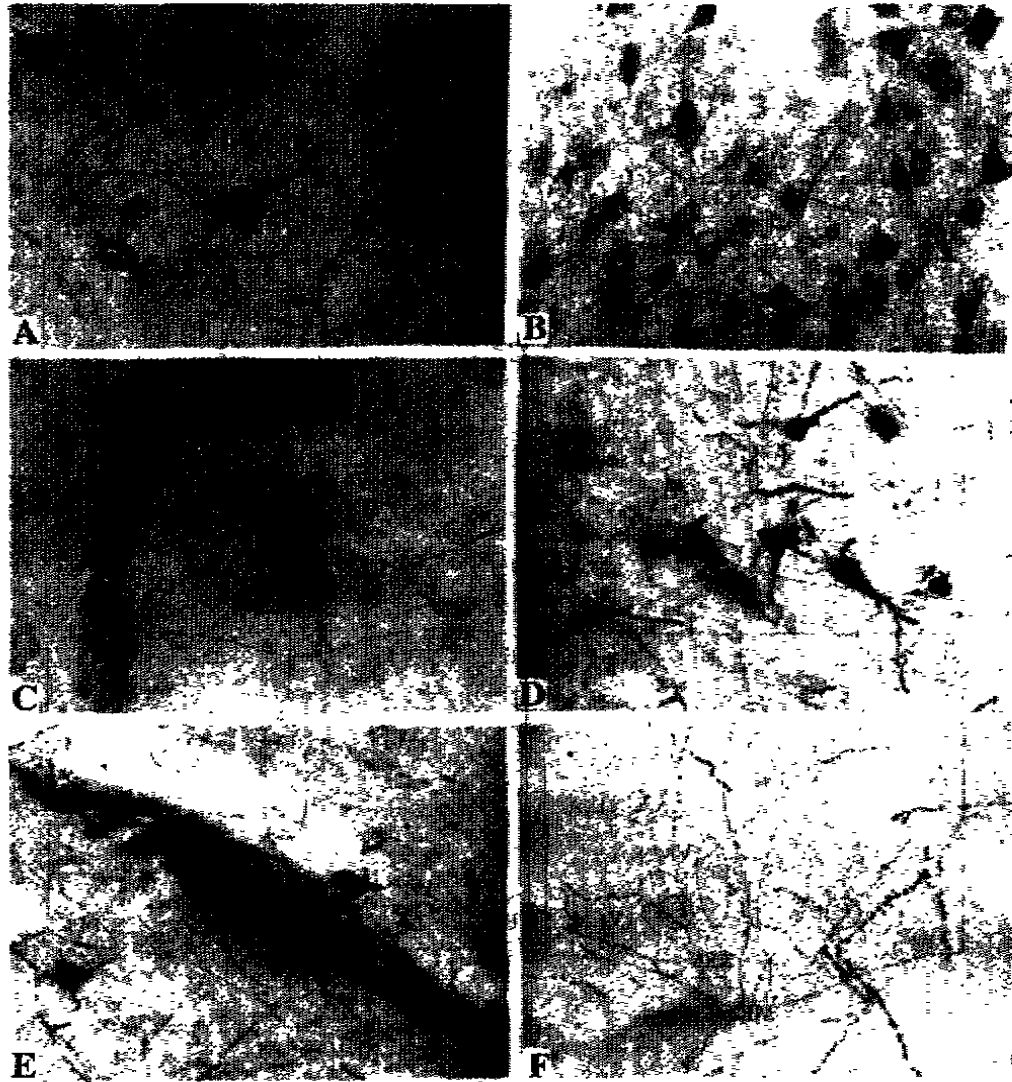


图1 OXT神经元与神经纤维之形态

- A. 室旁核中OXT神经元及其突起(20×10); B. 视上核中成堆分布的OXT神经元及神经纤维(20×10);
C. 第三脑室旁一个大的OXT神经元,可见免疫颗粒充满在胞浆与突起内(40×10); D. 下丘脑前核中的神经元及突起的分枝(20×10); E. 围绕血管分布的环核之神经元(20×10); F. 正中隆起内呈串珠状的神经纤维(20×10)

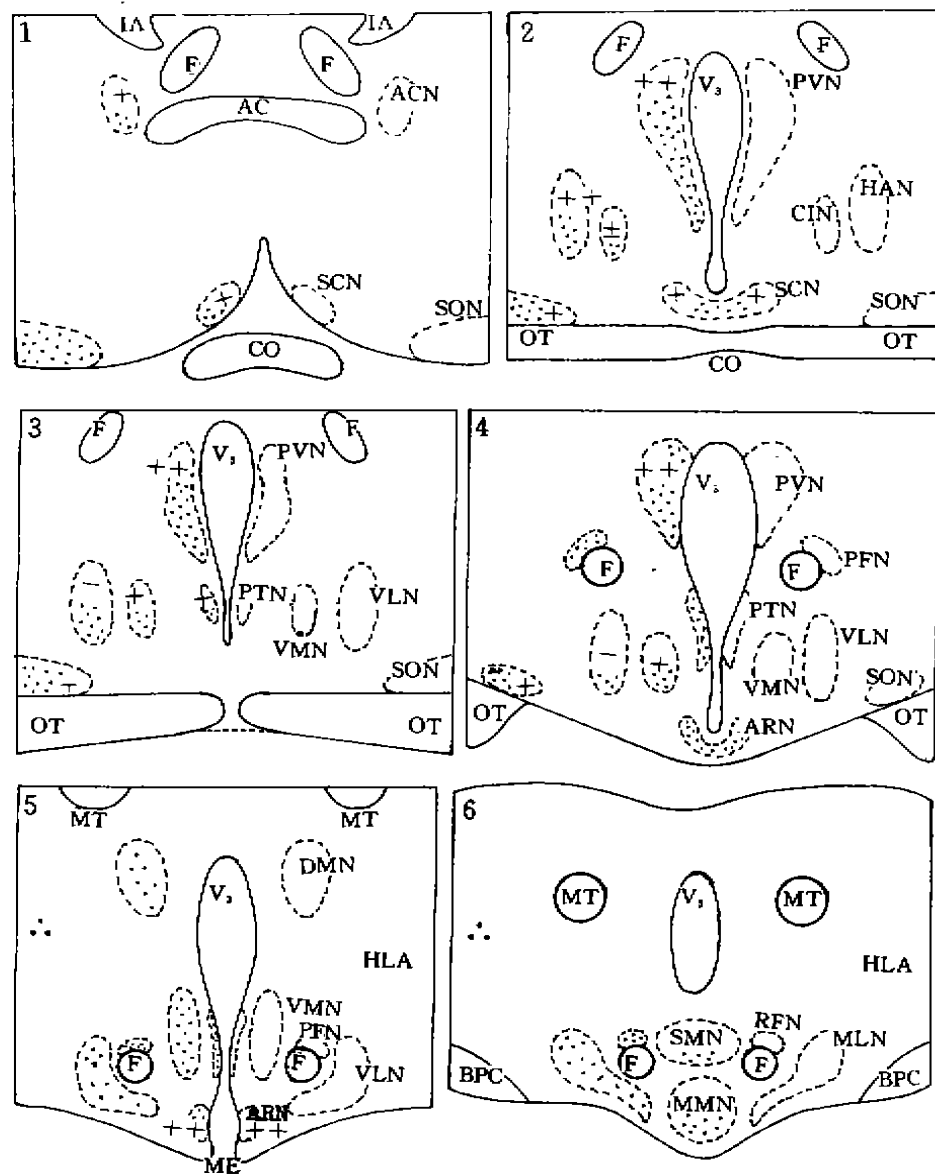


图2 OXT 神经元与神经纤维在下丘脑的分布示意图

1. 视前区; 2. 视上区(前部); 3. 视上区(后部); 4. 结节区(前部); 5. 结节区(后部); 6. 乳头体区; AC. 前联合; F. 穹隆柱; V₃. 第三脑室; V₁. 侧脑室; MT. 乳头丘脑束; ME. 正中隆起; OT. 视束; CO. 视交叉; BPC. 大脑脚; 图中左侧圆点代表此区有神经元分布; 卅, 卅, +, ±代表纤维密度

参 考 文 献

- 1 段晓勤, 陶躬, 包新民. 大鼠下丘脑及邻近区域催产素免疫阳性神经元与垂体后叶的关系. 解剖学报, 1988; 19(3): 265~270
- 2 杨明, 陆振山. 催产素神经元在大鼠丘脑下部的分布——免疫组化 PAP 技术. 四川解剖学杂志, 1985; 5(3): 1~6
- 3 Reaves, Jr T A, NHayward JN. Immunocytochemical identification of vasopressinergic and oxytocinergic neurons in the hypothalamus of the cat. *Cell and Tissue Research*, 1979; 196: 117~122
- 4 Watkins W B, Choy V J. Immunocytochemical study of the hypothalamo-neurohypophyseal system: III. Localization of oxytocin—and Vasopressin-containing neurons in the pig hypothalamus. *Cell and Tissue Research*, 1977; 180: 491~503
- 5 Dierickx K, Vandesande F. Immunocytochemical Localization of the vasopressinergic and the oxytocinergic neurons in the human hypothalamus. *Cell and Tissue Research*, 1977; 184: 15~27
- 6 沈霞芬, 钱菊芬, 田玉山等. 催产素、加压素神经元在奶山羊下丘脑的分布. 中国兽医科技, 1990(3): 11~13
- 7 Rhodes C H, et al. Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus. Distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin and vasopressin. *J comp neurol*, 1981; 198: 45~64

The Distribution of Oxytocin Neuron in the Hypothalamus of Milk Goats——ABC Method

Shen Xiafen Jia Welzhen Qi Pengxian Zhang Jing Zhang Li

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

Abstract Localization studies revealed that the perikaryon was mainly distributed over nucleus paraventricularis (59.1%) and nucleus supra-opticus (17.9%); in addition, a certain perikaryon was found to distribute over nucleus suprachiasmaticus, nucleus perifornicalis, nucleus ventromedialis, nucleus ventrolateralis and nucleus mammillarislateralis (each consisting of about 2%—4%); and the rest were found to distribute over nucleus arcuatus, nucleus periventricularis, nucleus dorsomedialis, nucleus circularis, nucleus anterior commissuris, nucleus anterior hypothalami, area lateralis hypothalami, nucleus supramammillaris and nucleus mammillaris medialis (each account for 1% or so). Positive nerve fibers were only seen in some major nucleus eminentia mediana and the surrounding area of ventriculus tertius. Also, some nerve fibers were found in medium eminence and the surrounding area of third ventricle.

Key words neuron; hypothalamus, oxytocin, immunohistochemistry, milk goat, ABC method