

山羊胚胎脊髓灰质的发育^{*}

张 涌, 徐永平, 郑月茂, 卿素珠, 赵慧英, 曹贵方^{*}

(西北农林科技大学 生物工程研究所, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 对山羊胚胎脊髓灰质形成和发育的形态学变化进行了系统研究。结果表明: 山羊脊髓神经管闭合以后, 其组织发生持续近 20 d 才形成完整的 3 层同心圆结构; 山羊脊髓神经管的组织发生和脊髓灰质的形成在时间上有很程度的重叠性; 脊髓灰质各结构形成和发育的规律也不完全一致, 有些结构发生早, 而神经元分化较晚, 如侧角、胶状质; 有些结构发生虽然晚, 但其中的神经元胞体分化和发育则较早, 如 Clarke 氏背核; 有些结构发生早, 神经元发育也早, 如腹角运动神经元。

[关键词] 组织发生; 脊髓灰质; 山羊胚胎

[中图分类号] S852.16

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)02-0013-06

国内外对哺乳动物脊髓神经管早期形成和组织发生的研究已较深入^[1~7]。苟崇文等^[3]已报道过蒙古绵羊早期胚胎神经的组织发生。笔者以前也报道过 20 d 18 h 山羊胚胎神经系统的形态^[4], 但尚未见到脊髓内部神经细胞核群的形成和发育方面的报道。本研究在于阐明山羊胚胎脊髓灰质各个区域的形成和发育变化规律, 为进一步研究山羊中枢神经系统发育提供形态学资料。

1 材料与方法

根据曹贵方的方法^[8], 按体长自屠宰场取 3~21 周龄的山羊胚胎, 每周龄最少 3 只, 共取得山羊胚胎 60 只。心脏灌注固定, 体积分数 4% 甲醛溶液后固定。取出脊髓, 分别取第 3~4 颈髓及颈膨大、第 8~10 胸髓、第 2~3 腰髓及腰膨大, 流水冲洗 12 h 后, 经梯度酒精脱水, 常规石蜡包埋, 切片, 片厚 6~8 μm , HE 染色, 中性树胶封片, 光镜观察。

2 结果与分析

在 HE 染色的脊髓切片中, 由于发育中的神经元胞体的胞质很少, 细胞器也较少, 当神经元胞体变大、细胞器增多后, 才可逐渐看到神经元胞体的轮廓, 因此在神经元发育早期只能观察到细胞核的变化。山羊脊髓灰质的组织发生包括神经管的组织发生及脊髓灰质的形成和发育。

2.1 山羊神经管的组织发生

第 17 天 18 h, 山羊胚胎的神经褶从体中部开始愈合, 头端形成较浅的神经沟, 尾端仍为板状的神经外胚层。第 20 天 18 h 神经管已经形成, 到第 36~37 天时, 脊髓神经管顶壁无边缘层, 仍为神经上皮层(图版 1), 底板无套层。神经管壁其余部分的室管膜层、套层和边缘层结构完整。基板套层发达, 细胞核间距较大, 有少量较大的卵圆形和长梭形细胞核。翼板套层较小, 套层内细胞核密集, 以 3 μm 的小圆形核为主(图版 2)。第 6 周末, 顶板边缘层出现, 同时神经管背侧壁向正中靠拢融合, 在近管腔面形成无核区, 顶板背侧正中为室管膜层细胞, 其两侧形成较厚的套层(图版 3)。翼板迅速扩大, 并且在翼板的背外侧缘形成了胶状质原基。第 7 周时神经管背侧壁近管腔面的无核区变小, 背侧正中的室管膜层细胞两侧的套层也增厚, 形成一细胞核密集区(图版 4)。底板腹侧出现少量细胞核, 为灰质腹连合原基。第 8 周时背侧正中的室管膜层细胞核变薄, 仅余 2~3 层细胞核, 其背侧正中无细胞核, 仅有细胞突起。第 9 周时顶板背侧正中出现少量淡染细胞核, 为灰质背侧连合的原基。至此, 神经管的组织发生完成, 顶板和底板内尚未出现套层。

2.2 山羊脊髓灰质的形成

神经管的组织发生还未完成时, 脊髓灰质的某些结构已开始形成。第 6 周末, 翼板背外侧形成胶状

^{*} [收稿日期] 2002-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39830280)

[作者简介] 张 涌(1956-), 男, 内蒙古和林格尔人, 教授, 博士生导师, 主要从事哺乳动物胚胎工程和发育生物学研究。

^{*} 曹贵方, 现在内蒙古农业大学工作。

质原基。基板套层内的细胞核呈现多形性,其腹外侧区出现少量淡蓝紫色的运动神经元胞体。有的节段还出现了侧角原基,以淡紫色的圆形或卵圆形核为主。第 7 周,底板腹侧出现少量细胞核,为灰质腹连合的原基。胶状质腹侧区域细胞核分化,淡染的圆形核和卵圆形核增多。基板具备腹角锥形,有的节段内出现少量轮廓不清的神经元胞体(图版 5)。第 8 周,背角头、颈、基部开始分化,Clarke 氏背核原基形成(图版 6)。中间带内出现少量轮廓不清的神经元胞体。有个别淡蓝紫色的多极神经元胞体出现。第 9 周,背角头、颈和基部的内、外侧部也可根据细胞核的密度、着色深浅及大小来区分。第 10 周,背角边缘核原基出现,内有少量较大的细胞核(图版 7)。第 11 周,在顶板背侧正中出现背侧灰质连合的原基。至此脊髓灰质各结构均已形成。

2.3 山羊脊髓灰质的发育

2.3.1 脊髓灰质背侧柱的发育 (1)背角尖(背角边缘核)。背角边缘核原基出现于第 10 周,有的节段有个别轮廓模糊的淡蓝紫色神经元胞体。第 12 周出现少量平行于背角边缘的纤维束。第 13 周出现个别轮廓可辨的神经元胞体。第 14 周可见到少量淡紫红色的神经元胞体和一些正在发育的神经元胞体。以后,边缘核内轮廓可辨的淡蓝紫色的神经元胞体增多,胞质内尼氏颗粒逐渐丰富、变大(图版 8),边缘核内的神经纤维迅速增多,到出生前一周仍有较多正在发育的神经元胞体。(2)胶状质。胶状质原基形成于第 6 周末。第 7 周以后,胶状质内核间距持续增大,淡染的小圆形核增多,胞质突起明显。第 11 周,出现少量 $7\sim 8\mu\text{m}$ 淡染的圆形、卵圆形核。细胞间有较多的淡紫红色神经纤维,有的延伸距离较长。第 15 周,红色的神经纤维清晰。第 17 周,胶状质深层出现较大的淡蓝紫色核,核仁明显,同时还可见到轮廓不清的神经元胞体,具有类似的细胞核。第 18 周,红色有髓神经纤维明显增多,较大的淡蓝紫色的细胞核进一步增多(图版 9)。到出生前胶状质内可见轮廓可辨的神经元胞体,以及较多的胞体正在形成的神经元(图版 10)。(3)背角头。第 8 周,背角头内细胞核较胶状质原基内的核稍大。第 11 周出现少量紫红色的较大的卵圆形核。以后紫红色的卵圆形核增多。第 13 周,有的节段的背角头伸入胶状质。背角头内出现少量轮廓不清的神经元胞体,具泡状核,有的直径可达 $9\mu\text{m}$ (图版 11)。第 14 周,细胞核之间出现粗大的红色纵行纤维束。第 15 周,出现少量蓝紫色的神经元胞体,尼氏颗粒细小,有的核内可见紫

红色的核仁。此后背角头内轮廓可辨的神经元胞体数量增多,未见胞体形态的神经元细胞核也不断增多。第 17 周,出现个别蓝紫色神经元胞体,尼氏小体颗粒较大。第 18 周,出现较多淡紫红色的小神经元胞体。出生前 1 周,出现很多蓝紫色的中、小型神经元胞体和一些胞体正在形成的神经元,有的胞体内出现粗大的尼氏小体颗粒。(4)背角颈部。第 10 周,背角颈部出现个别淡兰紫色的神经元胞体。此后,随着神经纤维的增多,核间距增大,出现较多较大的淡紫红色卵圆形核(图版 12)。第 15 周,背角颈部出现轮廓清楚的蓝紫色神经元胞体,有的尼氏颗粒较大,泡状核,中央核仁清晰。此外,还有较多轮廓不清的淡蓝紫色胞体。第 17 周,有的节段可见到个别紫红色神经元胞体和蓝紫色神经元胞体。以后淡蓝紫色神经元胞体和发育中的神经元逐渐增多。神经元胞体呈现卵圆形、锥形、四边形等多种形态,胞体大小不等。第 19 周,出现少数深紫红色的神经元胞体。第 21 周,背角颈部已有较大的神经元胞体,胞质内的尼氏小体颗粒丰富、较大,此外还有少量蓝紫色的小型神经元胞体和正在发育的神经元胞体。(5)背角基部。第 9 周,背角基部出现少量具核仁的泡状核。在外侧部出现少量轮廓隐约可辨的淡蓝色神经元,核较大。以后背角基部内淡蓝紫色的神经元逐渐增多,细胞突起增多。神经元泡状核增多,直径可达 $10\sim 13\mu\text{m}$ 。第 11 周,出现较多轮廓不清的淡紫红色神经元胞体,核多为紫红色。第 14 周,基部中央出现较多轮廓可辨的淡蓝紫色神经元,胞质中尼氏小体颗粒细小,大的细胞直径可达 $27\mu\text{m}$,多数神经元胞体轮廓不清。此后背角基部内轮廓清楚的淡蓝紫色中小型神经元增多,尼氏小体颗粒变大,正在形成的神经元胞体也较多。第 21 周,基部内侧有许多较小的蓝紫色神经元胞体和正在形成的神经元胞体,大的神经元胞体少,外侧部的神经元胞体稍大,有的尼氏小体颗粒较大。此外第 16 周,基部出现少量淡紫红色的神经元胞体,到第 18 周时变为紫红色,此类细胞一直到出生前都可见到。(6)Clarke 氏背核。Clarke 氏背核原基出现于第 8 周。第 9 周,出现数个轮廓隐约可辨的淡蓝紫色神经元胞体,大小为 $13\mu\text{m}$,个别胞体呈紫红色。第 11 周,Clarke 氏背核内有数个蓝紫色的卵圆形神经元胞体,核为偏位的具中央核仁的泡状核(图版 13)。此后,Clarke 氏背核内的神经元胞体由淡紫红色逐渐变为淡蓝色,并出现细小的尼氏颗粒,细胞核变为泡状核,含紫红色中央核仁。另外,一直可以见到正在形成的神经元胞

体。第15周, 出现个别淡紫红色胞体, 少数胞体内的尼氏小体颗粒稍大。以后紫红色的神经元胞体增多, 尼氏小体颗粒变大, 位于胞体周边, 核偏红。第18周, 出现蓝紫色的神经元胞体, 直径可达 $43\ \mu\text{m}$, 持续至出生前1周。

2.3.2 脊髓灰质中间带的发育 (1) 中间带。第8周, 中间带出现少量轮廓不清的神经元胞体, 个别轮廓可辨的多极神经元胞体, 长径达 $16\ \mu\text{m}$ 。此后, 随着细胞突起增多, 纤维增多, 核间距增大, 淡染似神经元泡状核的核逐渐增多, 具核仁, 中间带内出现淡蓝紫色含尼氏小体的神经元胞体。第11周, 有较多的轮廓不清的淡紫红色神经元胞体, 淡紫红色核。第12周, 中间带内出现少量淡蓝紫色神经元胞体, 尼氏颗粒粗大, 量少。此后轮廓可辨的淡蓝紫色神经元胞体增多, 神经元胞体形态趋于多样化, 大者直径可达 $27\ \mu\text{m}$, 胞质内的尼氏颗粒变大, 有的可见到具核仁的泡状核, 胞体正在形成的神经元增多。第18周, 出现少量轮廓清楚的深紫红色神经元胞体, 可持续至出生前。出生前1周, 中间带内较大的蓝紫色神经元胞体较多, 尼氏颗粒细小或较大, 还可见到正在形成的小神经元胞体。(2) 侧角。第6周末, 侧角雏形出现。淡染的圆形、卵圆形核逐渐增多。第9周, 少量胞体内出现尼氏颗粒。第13周, 出现个别轮廓模糊的淡紫红色神经元胞体(图版14)。第15周, 侧角出现轮廓可辨的蓝紫色神经元胞体, 尼氏颗粒细小。第18周, 侧角内出现少数较大的紫红色神经元胞体, 有的尼氏颗粒较大, 稀疏。第19周, 出现少量蓝紫色的神经元胞体, 尼氏颗粒粗大, 较少。在出生前1周时侧角内多为轮廓清楚的蓝紫色神经元胞体, 尼氏颗粒较大。

2.3.3 脊髓灰质腹侧柱的发育 (1) 腹角运动神经元核群。第6周末, 基板的腹外侧区出现淡蓝紫色的运动神经元胞体。第8周, 出现少量轮廓可辨的大淡蓝色多极神经元, 直径可达 $16\ \mu\text{m}$ 。第9周, 运动神经元胞体内出现细小的尼氏颗粒。以后运动神经元胞体逐渐增多, 胞质内的尼氏颗粒逐渐增多, 变大。第13周, 运动神经元胞体多为淡蓝紫色, 尼氏小体颗粒较大, 量少, 泡状核, 多具核仁, 胞体直径可达 $40\ \mu\text{m}$ (图版15)。第14周, 运动神经元胞体内粗大的尼氏小体颗粒增多, 有的胞体可见轴丘。随着神经元胞体不断变大, 胞质内粗大的尼氏颗粒逐渐增多, 有的突起内也可见到尼氏小体颗粒。运动神经元胞体出现多样化, 有圆形、星形、三角形、长梭形及多角形等。第17周, 出现少量紫红色的运动神经元。在

神经元之间还出现穿行的红色神经纤维。第20周, 蓝紫色的运动神经元胞体内粗大的尼氏颗粒丰富, 大的细胞长径可达 $80\ \mu\text{m}$; 有的节段已看不到紫红色的神经元胞体。(2) 腹角其他区域。第7周, 有的节段出现有少量轮廓模糊的淡蓝紫色神经元胞体。以后轮廓不清的神经元胞体增多, 有的胞体内出现少量细小的尼氏颗粒, 并逐渐增多。第11周, 腹角内神经纤维明显, 出现少量轮廓较为清楚的淡紫红色神经元胞体。第12周, 紫红色神经元胞体增多, 正在分化的神经元细胞核较多。第13周, 淡蓝紫色的神经元胞体较多, 胞体轮廓可辨或不清楚, 尼氏颗粒细小, 泡状核, 具核仁, 大者直径可达 $16\ \mu\text{m}$, 此外分化中的神经元细胞核也较多。第14周, 出现少量紫红色的神经元胞体, 大者直径可达 $32\ \mu\text{m}$, 具泡状核。第15周, 淡紫红色的神经元胞体增多, 有些胞体内尼氏颗粒较大; 个别神经元胞体呈紫红色, 核仁呈深紫红色, 可持续到出生前1周。第16周时, 淡蓝紫色的中型神经元胞体增多, 尼氏颗粒细小或较大, 并可见到粗大的纤维束和较多的发育中的神经元细胞核。第17周, 神经元胞体呈多种形态, 胞质内尼氏颗粒丰富。其间夹有正在形成的神经元胞体。第20周, 腹角中神经元多成形, 胞体呈蓝紫色, 大小不一, 尼氏小体颗粒有的粗大, 有的细小。第21周, 仍有少量形成中的小神经元胞体。

2.3.4 中央管灰质 第7周, 底板腹侧有少量细胞核。第9周, 顶板背侧出现少量圆形、卵圆形的淡染细胞核。第11周, 灰质背连合和腹连合形成。第14周, 灰质背侧连合出现具核仁的泡状核, 以及较大的紫红色细胞核, 腹连合两侧出现淡染的圆形、卵圆形核, 大者直径可达 $10\ \mu\text{m}$ 。第16周, 灰质背侧连合两侧出现数个似神经元细胞核的泡状核, 呈淡紫红色。第17周, 灰质背侧连合较薄, 可见少量轮廓模糊的神经元胞体(图版16)。到出生前1周, 中央管背侧、腹侧及左右两侧均有较多的细胞核向外迁移, 背侧多于腹侧。灰质背、腹连合内可见到少量中等神经元胞体和发育中的神经元胞体。中央管周围也可见到少量正在形成的神经元胞体。

3 讨论

3.1 脊髓神经管的组织发生

关于神经管的室管膜层、套层及边缘层出现的时间, 还没有人详尽描述过, 一般都认为三者是同时或相继出现^[1~7]。本研究结果表明, 山羊脊髓的神经管自第20天18h形成以后, 顶板边缘层直到第

41~42 天才出现。此时基板内神经元已经开始分化,可见到少量运动神经元胞体,说明山羊脊髓神经管闭合以后,其组织发生持续近 20 d,形成完整的 3 层同心圆结构。此外,本研究还观察到脊髓神经管的组织发生到第 9 周时才真正完成,而脊髓灰质内的某些结构,如腹角运动神经元、侧角、胶状质、Clarke 氏背核及中间带,分别在第 6、7、8 周开始形成,表明山羊脊髓神经管的组织发生和脊髓灰质的形成在时间上有很大的重叠性。

3.2 脊髓灰质的形成和发育

本研究结果表明,脊髓灰质内各结构原基的全部形成持续的时间较长,从第 6 周末胶状质原基和腹角运动神经元出现到第 11 周背侧灰质连合形成为止,历经 5 周的时间。由于脊髓灰质各结构的形成和发育,相互交错,因此很难从时间上把脊髓的发育阶段截然分开。

脊髓各结构原基形成以后,神经元发育的早期

因胞质成分很少,HE 染色中主要观察到的是核的变化。这一时期神经元细胞核正在分化,核内染色质由静止状态逐渐转为活跃状态,切片中表现为核变大,着色变淡。随着神经元的发育,胞质成分增加,细胞器渐趋成熟,神经元胞体着色加深,轮廓逐渐清晰,细胞核随着神经元功能的加强,逐渐形成神经元细胞核的泡状结构。

另外,脊髓灰质各结构的形成和发育规律也不完全一致,有些结构发生早,而神经元分化较晚,如侧角、胶状质在第 6 周末就已形成,侧角在第 13 周出现个别轮廓模糊的淡紫红色神经元胞体;胶状质内直到第 17 周才见到发育中的神经元细胞核。有些结构发生的虽然晚,但其中的神经元胞体分化和发育较早,如 Clarke 氏背核于第 8 周出现,第 9 周就出现数个轮廓隐约可辨的淡蓝紫色神经元胞体。有些结构形成早,神经元发育也早,如腹角运动神经元。

[参考文献]

- [1] 蔡文琴,李海标.发育神经生物学[M].北京:科学出版社,1999.60-63
- [2] 张培林.神经解剖学[M].北京:人民卫生出版社,1987.40-42
- [3] 苟崇文,曹贵方.蒙古绵羊早期胚胎神经及感觉器官的组织发生[J].内蒙古农牧学院学报,1998,19(1):42-46
- [4] 曹贵方,张涌.20 d 18 h 山羊胚胎系统形态及以后各时期体形发生[J].内蒙古农业大学学报,1999,20(4):81-84
- [5] 黄康华,叶妹妹.人胚胎脊髓发育的组织学观察[J].华南师范大学学报(自然科学版),1993,(3,4):59-64
- [6] 慕晓玲,王士平,秦传芳.小白鼠脊髓发育分化的组织学及组织化学观察[J].石河子医学院学报,1994,16(3):146-150
- [7] Sturrock R R. A quantitative and morphological study of vascularization of the developing mouse spinal cord[J]. J Anat, 1981, 132: 203-221
- [8] 曹贵方.山羊体形和卵巢发生及卵泡组织化学的研究[D].陕西杨陵:西北农林科技大学生物工程研究所,1998.45-59

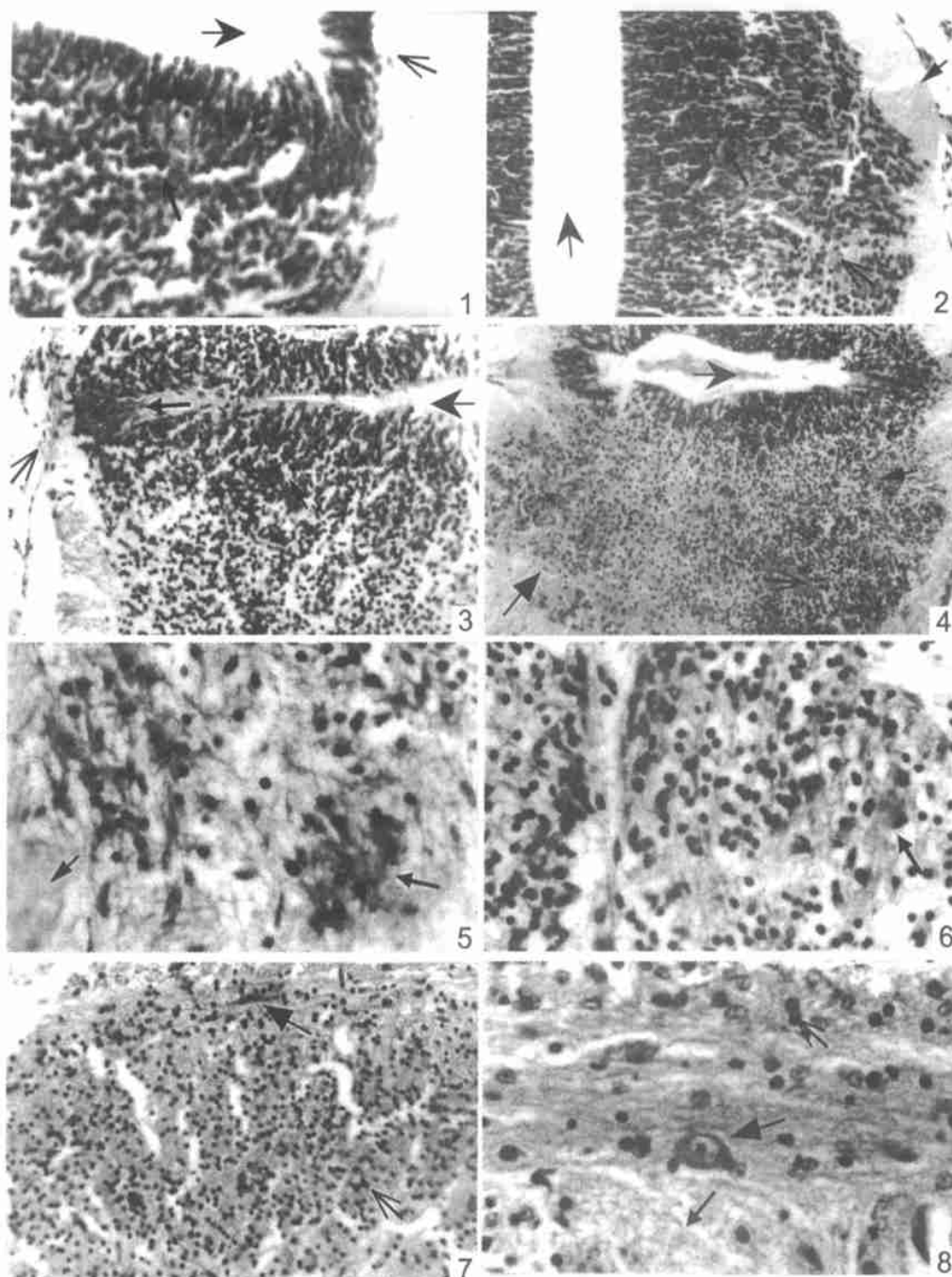
Histogenesis and development of spinal cord in prenatal goat

ZHANG Yong, XU Yong-ping, ZHENG Yue-mao, QING Su-zhu, ZHAO Hui-ying, CAO Gui-fang

(Institute of Bioengineering, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Spinal cord of prenatal goat were observed to find the histogenesis and development by H-E method. The results are as the followings: ① Since the nerve duct inosculated, the histogenesis persisted for 20 days and three stratum round structure were constituted. ② The overlapped time is longer between the histogenesis of nerve duct and the forming of spinal cord of prenatal goat. ③ The forming time is incompletely consistent with the developing time of spinal cord. Some structure occurs early and the neurons emerge lately, such as the substantia gelatinosa. Some structure occurs lately, and the neurons emerge earlier, such as the dorsal nucleus of Clarke.

Key words: histogenesis; spinal cord; prenatal goat

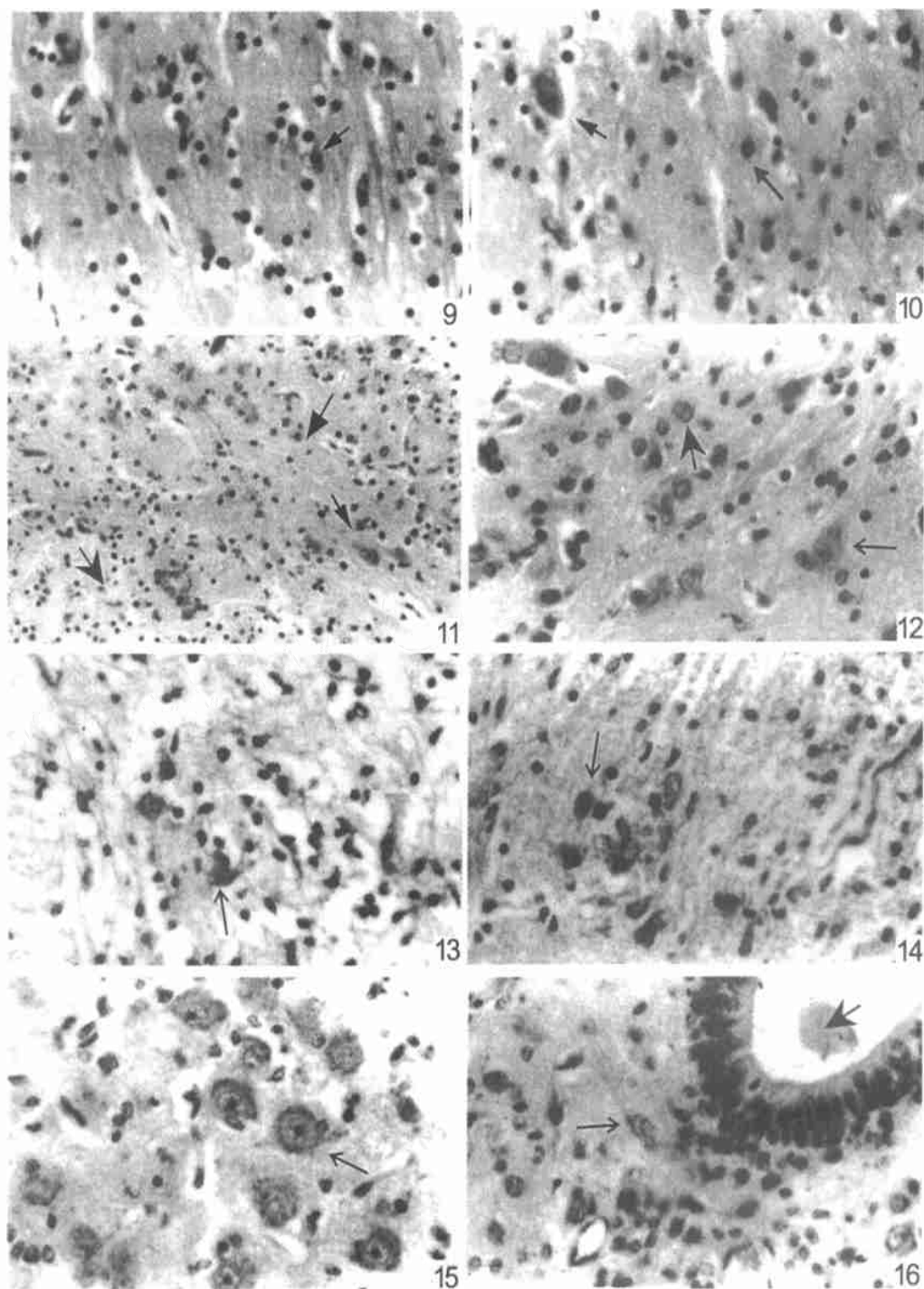


图版1~8 山羊胚胎脊髓灰质的发育形态

1. 第6周初, 脊髓, → 神经管, ≥ 顶壁室管膜层, → 翼板室管膜层, ×400。2. 第6周初, → 中央管, → 翼板室管膜层, ≥ 套层, → 边缘层, ×200。3. 第6周末, → 中央管, → 翼板套层, → 顶壁室管膜层, ≥ 边缘层, ×200。4. 第7周, → 中央管, ≥ 胶状质, → 翼板, → 基板, ×100。5. 第7周, → 运动神经元胞体, → 边缘层, ×400。6. 第8周, → Clarke氏背核原基内的神经元胞体, ×400。7. 第11周, → 边缘核内的神经元胞体, ≥ 胶状质, ×200。8. 第15周, → 边缘核内的神经元, → 胶状质, ≥ 背外侧索, ×400。

Plate. 1—8 Histogenesis and development of spinal cord in Prenatal goat

1. The early 6th week. → Central canal. ≥ Ependyma of dorsal wall. → Ependyma of alar plate. ×400; 2. The early 6th week. → Central canal. → Ependyma of alar plate. ≥ Mantle layer. → Marginal layer. ×200; 3. The late 6th week. → Central canal. → Mantle of alar plate. → Ependyma of roof plate. ≥ Marginal layer. ×200; 4. The 7th week. → Central canal. ≥ Substantia gelatinosa. → Alar plate. → Basal plate. ×100; 5. The 7th week. → Motor neurons. → Marginal layer. ×400; 6. The 8th week. → Neurons in the dorsal nucleus of Clarke. ×400; 7. The 11th week. → Neurons in the posteromarginal nucleus. ≥ Substantia gelatinosa. ×200; 8. The 15th week. → Neurons in the posteromarginal nucleus. → Substantia gelatinosa. ≥ Lateral funiculus. ×400.



图版9~16 山羊胚胎脊髓灰质的发育形态

9. 第18周, → 胶状质内发育中的神经元细胞核, ×400。10. 第20周胶状质, → 神经元胞体, → 发育中的神经元细胞核, ×400。11. 第13周, → 背角头, → 胶状质, → 发育的神经元胞体, ×200。12. 第14周, 背角颈部, → 神经元胞体, → 发育中的细胞核, ×400。13. 第11周, Clarke氏背核, → 神经元胞体, ×400。14. 第14周, 侧角, → 发育中的神经元细胞核, ×400。15. 第13周, 腹角, → 运动神经元胞体, ×400。16. 第17周, → 中央管, → 灰质背侧连合内的神经元胞体, ×400。

Plate.9-16 Histogenesis and development of spinal cord in Prenatal goat

9. The 18th week. → Developing neurons, ×400; 10. The 20th week. → Neurons. → Developing neuron's nuclear. ×400; 11. The 13th week. → Caput of dorsal horn. → Substantial gelatinosa. → Developing neurons. ×200; 12. The 14th week. → Neurons. → Developing neuron's nuclear. ×400; 13. The 11th week. → Neurons in the dorsal nucleus of Clarke. ×400; 14. The 14th week. → Developing neuron's nuclear. ×400; 15. The 15th week. → Motor neurons, ×400; 16. The 17th week. → central canal, → Neurons, ×400.