

人脑纹状体边缘区的免疫细胞化学研究

包新民¹, 舒斯云¹, 李胜修¹, 余力², 傅求真¹, 吴文龙¹ (第一军医大学珠江医院¹ 神经科学研究所, ² 病理科, 广东 广州 510282)

摘要:目的 证明人脑纹状体有无纹状体边缘区存在。方法 用 Nissl 染色和免疫细胞化学方法研究了人新生儿脑纹状体的细胞构造及递质分布。结果 在 Nissl 染色的切片上可见人脑纹状体壳核和苍白球外节之间, 有一条明显的梭形细胞带。细胞的长轴呈背腹方向, 与壳核内侧边界平行。在上述边缘区部位可见大量免抗亮氨酸-脑啡肽 (L-ENK)、免抗神经降压肽 (NT)、免抗生长抑素 (SOM) 和免抗 P 物质 (SP) 免疫细胞化学阳性纤维和少量 L-ENK 及 NT 阳性胞体。结论 首次证明人脑纹状体和大鼠、猫、猴相似, 也存在纹状体边缘区。

关键词: 纹状体; 边缘区; 免疫细胞化学

中图分类号: R741 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2001)12-0894-04

Immunocytochemical study of the marginal division in human striatum

BAOXin-min¹, SHUSi-yun¹, LISheng-xiu¹, YULi², FUQiu-zhen¹, WUWen-long¹

(¹Institute of Neuroscience, ²Department of Pathology, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China)

Abstract Objective To demonstrate the existence of the marginal division in human striatum. Methods The cytoarchitecture and distribution of the neurotransmitters in human fetal striatum were studied using Nissl staining and immunocytochemistry. Results In these sections with Nissl staining, a distinct fusiform cell zone was observed between the putamen and the globus pallidus of the human striatum. The long axes of these neurons in this region stretched dorsoventrally in parallel with the border between the putamen and the globus pallidus. Numerous L-ENK-, NT-, SOM- and SP-positive fibers and a few L-ENK- and NT-positive cells were found in the marginal division. Conclusion For the first time we demonstrate that human also has the marginal division in the striatum which is similar to that of the mammals as the rats, cats and monkeys.

Key words striatum; marginal division, human; immunocytochemistry

自 1988 年舒斯云^[1]首先在大鼠脑纹状体发现边缘区以来, 我们又在猫^[2]及猴^[3]脑内观察到有边缘区存在。但人脑纹状体有无边缘区尚未见有报道。纹状体边缘区在细胞结构、递质特征及功能等方面均不同于纹状体的其余部位, 它富含多种神经递质如 P 物质、脑啡肽、神经降压肽、生长抑素等^[4,5]。人脑纹状体边缘区内的神经递质分布特性也尚未见报道。本研究首次发现人脑存在纹状体边缘区, 并用免疫细胞化学方法观察了人脑纹状体边缘区内的 P 物质、脑啡肽、神经降压肽、生长抑素等神经递质的分布。

1 材料和方法

1.1 实验模型

取自生后 3 d 死亡的新生儿, 在死亡后 4~8 h 内灌注取脑。先用生理盐水 500 ml 经心脏灌注, 将血液冲洗干净, 再用含 4% 多聚甲醛的磷酸缓冲液 (pH 7.4, 4 ℃) 1000 ml 灌注固定。将脑取出后在上述固定液中后固定 2~3 d。修整脑块, 留下纹状体部位。置于含

30% 蔗糖的磷酸缓冲液中直至沉底 (4 ℃)。恒冷箱切片, 片厚 40 μm。分成 6 套, 1 套做 Nissl 染色, 4 套做免疫细胞化学反应, 另 1 套做对照。

1.2 Nissl 染色

将组织切片在 1% 铬明矾溶液中裱在载玻片上, 自然干燥后经氯仿、无水酒精处理后入蒸馏水, 在 0.1% 克紫染色, 60 ℃, 30 min。水洗后在 96% 酒精中分色, 然后脱水、透明、封片。

1.3 免疫细胞化学反应

将切片进行下列免疫细胞化学反应步骤: (1) 0.3% Triton X-100, 37 ℃, 30 min。 (2) 切片分别入免抗 P 物质 (SP) 血清, 免抗亮氨酸-脑啡肽 (L-ENK) 血清、免抗神经降压肽 (NT) 血清或免抗生长抑素 (SOM) 血清 (INCSTAR 公司, 1:2500), 4 ℃, 48~72 h。 (3) Biotin-IgG (1:200, Vector 公司), 室温, 5 h。 (4) 卵白素-生物素复合物 (1:100, Vector 公司), 4 ℃, 12 h。 (5) 葡萄糖氧化酶-DAB-硫酸镍胺 (GDN) 反应^[6], 室温, 30 min。以上各步骤间均以 0.01 mol/L 的磷缓冲液清洗。切片用 0.1% 明胶裱于玻片上, 干燥、脱水、透明、DPX 封片后在 Olympus AH-3 显微镜下观察、照相。

1.4 对照

用血清稀释液代替抗 SP、L-ENK、SOM 或抗 NT 血清进行上述免疫细胞化学反应步骤。

收稿日期: 2001-01-19

基金项目: 国家自然科学基金 (39770550); 广东省自然科学基金 (950554)

作者简介: 包新民 (1933-), 男, 上海人, 1956 年毕业于中国医科大学, 教授, 电话: 020-85143636

2 结果

2.1 Nissl 染色结果

纹状体神经细胞内可见很多染成紫色小斑块的尼氏体,神经细胞的形态可清楚显示。在人脑纹状体壳核中间部和尾部的最内侧,可见一条明显的梭形细胞带,以外髓板与苍白球外节的背外侧缘相隔。带宽平均约为 350 μm。该区域内的细胞大多数为中等大梭形细胞,胞体大小平均为 21 μm×8 μm 少数细胞为大的梭形细胞,其大小平均为 30 μm×12 μm。这些梭形细胞密集排列成 10~15 列,细胞的长轴呈背腹方向,与壳核内侧边界平行。而纹状体其余部位的神经元,形态多样,大小不一,呈散在分布(图 1)。

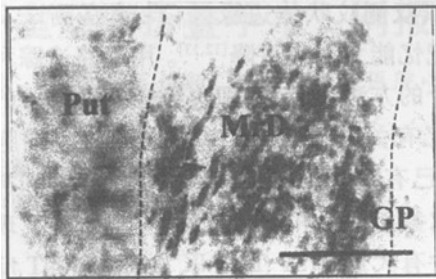


图 1 人脑纹状体 Nissl 染色切片

Fig.1 Section of Nissl stain of the human striatum

There is a fusiform cell band between the putamen (put) and globus pallidus (GP); dotted lines indicate the marginal division (MrD). Bar=100 μm

2.2 免疫细胞化学反应

免疫细胞化学反应阳性产物呈紫黑色,均匀地分布在胞体和突起(树突、纤维)中。

2.2.1 Leu-ENK 免疫细胞化学反应 在壳核中可见散在分布的 L-ENK 阳性纤维及胞体,在苍白球外节可见较密集的 L-ENK 阳性纤维,呈密集的网状,但未见阳性胞体。在壳核和苍白球外节之间相当于大鼠边缘区的部位,有一条深染的 L-ENK 阳性反应带,在阳性纤维间可见少量阳性细胞,这些阳性细胞多为中等大小的梭形细胞,少量为大的梭形或椭圆形细胞,树突从细胞两极伸向背腹方向(图 2)。

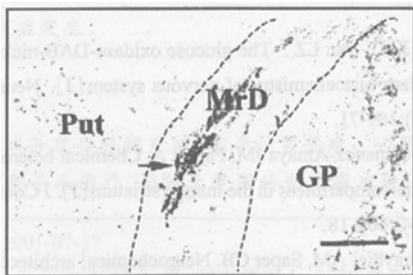


图 2 人脑纹状体 L-ENK 免疫细胞化学切片

Fig.2 L-ENK immunocytochemical section of the human striatum

Between the putamen and globus pallidus, L-ENK immunoreactive fibers and some positive cells can be observed in the MrD. Arrow shows a fusiform cell in the MrD. Bar=100 μm

2.2.2 NT 免疫细胞反应 在壳核和苍白球外节中均可见较多的 NT 免疫阳性反应,主要为阳性纤维,在壳核中也可见少量大小及形状不一的 NT 阳性细胞。在壳核和苍白球外节之间相当于大鼠边缘区的部位,可见较多的 NT 阳性梭形细胞和纤维,梭形细胞呈背腹方向排列(图 3)。

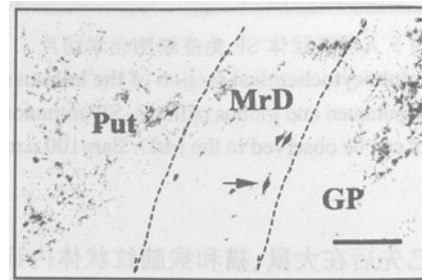


图 3 人脑纹状体 NT 免疫细胞化学切片

Fig.3 NT immunocytochemical section of the human striatum Between the putamen and globus pallidus, NT immunoreactive fibers and some positive cells can be observed in the MrD. Arrow shows a fusiform cell in the MrD. Bar=100 μm

2.2.3 SOM 免疫阳性反应 在壳核中可见少量 SOM 阳性反应纤维,但在苍白球外节中未见 SOM 阳性反应。在壳核和苍白球外节之间相当于大鼠边缘区的部位,可见一条染色较深的 SOM 阳性反应带,由阳性纤维组成,带中未见 SOM 阳性胞体(图 4)。

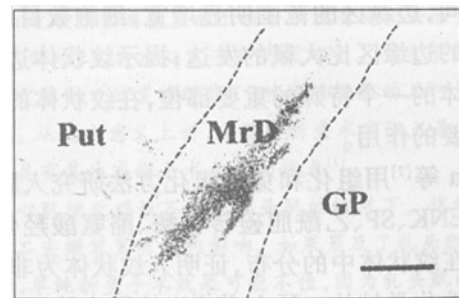


图 4 人脑纹状体 SOM 免疫细胞化学切片

Fig.4 SOM immunocytochemical section of the human striatum

Between the putamen and globus pallidus, SOM immunoreactive fibers can be observed in the MrD. Bar=100 μm

2.2.4 SP 免疫细胞化学反应 在壳核内侧部,只有很少量的 SP 免疫阳性反应,苍白球内节中的 SP 免疫反应纤维呈密集的网状,SP 阳性纤维在苍白球外节较少,但在其背外侧缘有密集的 SP 免疫阳性反应产物,阳性纤维多沿背腹方向走行,和在大鼠边缘区所见的特征相同。带中未见 SP 阳性胞体(图 5)。

2.3 对照实验未见阳性反应

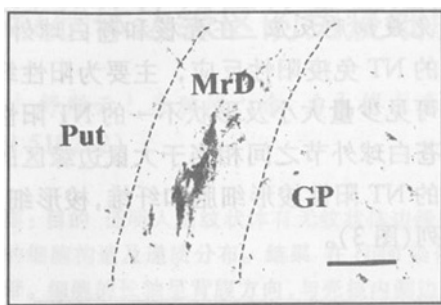


图 5 人脑纹状体 SP 免疫细胞化学切片

Fig.5 SP immunocytochemical section of the human striatum. Between the putamen and globus pallidus, SP immunoreactive fibers can be observed in the MrD. Bar=100 μ m

3 讨论

我们已先后在大鼠、猫和猴脑纹状体内证明了边缘区的存在^[1-3]。本研究用克紫尼氏体染色,证实人脑壳核的中间和尾部内侧与苍白球外节的头外侧缘相对的部位,也存在一条特殊的细胞带。该区的神经元胞体大多数为中或大梭形,长轴与壳的内侧缘平行。梭形细胞带的位置、形状、细胞构筑特点均与大鼠纹状体边缘区相似。免疫细胞化学研究发现人脑相当于大鼠纹状体边缘区的部位,L-ENK、NT、SOM和SP等免疫反应纤维和终末也较纹状体其余部位密集,并可见少量L-ENK及NT阳性神经元存在,跟大鼠边缘区相似。因此,我们认为人脑的这个区域和大鼠的边缘区相当,首次证明人脑的纹状体内也存在着边缘区。与大鼠比较,人脑纹状体边缘区位于壳核和苍白球外节之间,边缘区的范围明显增宽,细胞数目增加。可见人脑的边缘区比大鼠的发达;提示纹状体边缘区内为纹状体的一个特殊的重要部位,在纹状体的功能中起着重要的作用。

Prensa等^[7]用组化和免疫组化方法研究人脑(胆碱酯酶)、ENK、SP、乙酰胆碱转移酶、酪氨酸羟化酶、黄递酶等在纹状体中的分布,证明人纹状体为非常复杂的异源性化学结构。Holt等^[8]比较了人脑尾核、壳核及腹侧纹状体内乙酰胆碱转移酶、ENK、SP、TH等多种神经化学物质的分布,认为在尾核、壳核的背侧存在经典的纹状小体/基质结构,但在腹侧部则可见到更为复杂的神经化学分布,这反映了灵长类纹状体和大脑联合皮质及边缘皮质间联系的大量增加。Graybiel等^[9]用免疫组化方法也观察到灵长类和猫的纹状体内存在甲硫氨酸-脑啡肽(Met-enkephalin)的亚型。但他们均未曾观察纹状体边缘区内神经递质的分布情况。我们曾观察到大鼠纹状体边缘区内含有多种丰富的神经递质,如SP、L-ENK、NT、SOM、胆囊收缩素、降钙素基因相关肽等^[4,5,10]。在猫的纹状体边缘区内观察到SP、L-ENK、神经肽Y和一氧化氮合酶的含量比纹状体其余部位要多^[2]。在猴纹状体边缘区内

也观察到有丰富的SP、L-ENK、神经肽Y等神经递质分布^[3]。本研究首次证明人脑不但存在纹状体边缘区,而且人脑纹状体边缘区内也如同大鼠和猫一样,含有丰富的L-ENK、NT、SOM、SP等神经递质。纹状体边缘区内的这些神经递质与完成纹状体的运动、学习记忆等重要功能有密切关系。

一般认为,纹状体的功能主要与运动有关,但随着研究的深入,发现其功能是多方面的,包括运动整合、调整躯体和内脏的传入信息、参与痛反应及学习记忆功能等。Lavoie^[11]观察到从猴脚桥核神经元发出的到纹状体的胆碱能投射多数终止于相当于边缘区的区域,这种投射多与智能活动有关。我们用海人藻酸损毁大鼠双侧纹状体边缘区,Y-迷宫测试发现动物的学习记忆能力明显下降^[12,13]。用束路追踪和免疫电镜相结合的方法研究,发现边缘区投射纤维的终末与学习记忆有关的Meynert基核内的神经细胞有突触联系^[14]。已有实验证明,SP、L-ENK、SOM和神经肽Y等神经肽参与学习和记忆过程^[15]。本研究发现人脑边缘区内含有大量的SP、L-ENK、SOM和NT反应阳性纤维,以及少量的L-ENK和NT阳性胞体,提示人脑纹状体边缘区内也可能与学习和记忆功能有关。

参考文献:

- [1] ShuSY, PennyGR, PetersonGM. The "marginal division": a new subdivision in the neostriatum of the rats [J]. *J Chem Neuroanat*, 1988, 1(3):147-63.
- [2] 包新民, 舒斯云, 牛东滨, 等. 猫纹状体边缘区中P物质、脑啡肽、神经肽Y和NADPH-d阳性物质的分布 [J]. *中国神经科学杂志*, 1998, 14(4):213-7.
- [3] ShuSY, BaoXM, ZhangCY, et al. A new subdivision, marginal division, in the neostriatum of the monkey brain [J]. *Neurochem Res*, 2000, 25(2):231-7.
- [4] 包新民, 舒斯云. 大鼠纹状体边缘区内P物质、脑啡肽和胆囊收缩素免疫阳性反应的分布 [J]. *神经解剖学杂志*, 1997, 13(2):107-10.
- [5] 包新民, 舒斯云. 大鼠纹状体边缘区内神经降压肽和生长抑素免疫阳性反应的分布 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 1997, 6(1):1-5.
- [6] Shu, SY, JuG, FanLZ. The glucose oxidase-DAB-nickel method in peroxidase histochemistry of nervous system [J]. *Neurosci Lett*, 1988, 85(2):169-71.
- [7] PrensaL, Gimenez-AmayaJM, ParentA. Chemical heterogeneity of the striatal compartment in the human striatum [J]. *J Comp Neurol*, 1999, 413(4):603-18.
- [8] HoltDJ, GraybielAM, SaperCB. Neurochemical architecture of the human striatum [J]. *J Comp Neurol*, 1997, 384(1):1-25.
- [9] GraybielAM, ChesseletMF. Compartment distribution of striatal cell bodies expressing [Met]enkephalin-like immunoreactivity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81(21):7980-4.
- [10] 李耀宇, 舒斯云, 包新民, 等. 降钙素基因相关肽在纹状体及边缘区内分布及联系的研究 [J]. *第一军医大学学报*, 1999, 19(3):

- 201-4.
- [11] Lavoie B, Parent A. Pedunculo-pontine nucleus in the squirrel monkey: projection to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods [J]. *J Comp Neurol*, 1994, 344(2): 210-31.
- [12] Shu SY, Bao XM, Li SX, et al. A new subdivision of mammalian neostriatum with functional implications to learning and memory [J]. *J Nonro Samec Res*, 1999, 58(3): 1-12.
- [13] 李胜修, 舒斯云, 包新民, 等. 海人藻酸损毁纹状体边缘区后对大鼠学习和记忆功能影响的研究 [J]. *神经解剖学杂志*, 1996, 12(1): 37-41.
- [14] 舒斯云, 包新民, 郑兆聪, 等. 大鼠纹状体边缘区与 Meynert 基底核的突触联系及其与学习记忆功能的关系 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 1998, 7(1): 1-10.
- [15] 张魁华, 舒斯云, 包新民, 等. P 物质受体基因在大鼠纹状体边缘区内的表达 [J]. *中国组织化学和细胞化学杂志*, 2000, 9(1): 1-4.

左心室壁瘤折叠手术 1 例报告

王文林, 曾伟生, 蒋仁超 (广州军区总医院心胸外科, 广东 广州 510010)

关键词: 室壁瘤; 折叠手术

中图分类号: R654.2 文献标识码: B 文章编号: 1000-2588(2001)12-0897-01

1 病例报告

患者男, 56 岁, 因间断性胸前区疼痛 6 年于 2000 年 12 月 31 日入院, 既往曾有“冠心病, 急性前间壁心肌梗死”病史。入院查体: 血压 16/9 kPa, 脉搏 60 次/min, 意识清晰, 口唇无紫绀; 心界叩诊不大, 心率 60 次/min, 律齐, 各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音, 无心包摩擦音; 周围血管征阴性。住院期间行冠状动脉造影和心脏超声检查, 提示冠心病, 前降支轻度狭窄 (第 1 支开口处 30% 局限性狭窄, 长 6 mm), 左心室前壁及心尖部室壁瘤, 左室射血分数为 30%。

于 2001 年 1 月 18 日在全麻体外循环下行左心室壁瘤折叠术。术中见左心室前壁和心尖部有一范围为 5 cm×5 cm 的室壁瘤, 瘤体组织与正常心肌有较明显的界限。在心脏跳动状态下, 瘤体有反常活动。于室壁瘤处纵行切开左心室, 切口长约 5 cm。探查心腔, 梗死范围未累及乳头肌。于上半室壁瘤壁的底部和边缘分别以带垫片 2-0 的 Prolene 缝线褥式缝合, 缝针从心腔面穿出到心外膜面, 然后将缝线的另一端分别缝于下半室壁瘤壁的边缘和底部, 仍然从心腔面穿出到心外膜面。最后, 将缝线依次打结。手术时间为 185 min, 术后病人恢复良好, 无并发症发生。

2 讨论

冠心病并发心肌梗死时, 常导致室壁瘤。小范围的室壁瘤一般不需要手术治疗, 而较大范围的室壁瘤应进行手术^[1]。目

前对左心室壁瘤的外科治疗主要以瘤体切除为主, 这种方法可以保证心室梗死的组织完全被清除^[2-3]。然而, 当梗死组织范围很大的时候, 切除梗死组织可能引起左心室缩小, 从而影响心功能。此外, 当左心室壁一部分组织被切除后, 直接缝合可能影响心室腔的几何形状, 这对术后心功能的恢复不利^[4]。在详细分析左心室解剖结构的基础上, 我们设计了室壁瘤折叠手术。将室壁瘤切开后, 两层重叠缝合, 可以加固室壁瘤处薄弱的心室壁, 防止梗死部位的破裂出血。由于切口经两道缝合, 止血效果非常满意。由于该手术没有完全去除室壁瘤处的心室壁, 因此, 术后左心室不会明显缩小。心室壁的折叠还避免了心室壁切口的直接缝合, 对术后心腔的几何形状的影响不明显。从这个意义上讲, 室壁瘤折叠术实际上是一种成形手术, 也具有其他成形手术共有的优点^[5]。

在心肌梗死病灶不累及乳头肌的情况下, 这种方法一般不会对二尖瓣装置有大的影响。如果累及了乳头肌, 且病变较重的话, 单纯折叠手术效果可能不佳, 因为乳头肌的存在可使缝合的难度增加, 另一方面病变的乳头肌终将影响二尖瓣的闭合功能。在这种情况下, 对乳头肌进行成形手术很有必要。

参考文献:

- [1] 高长青, 朱朗标, 李伯君, 等. 左室重建术加冠状动脉旁路术治疗左室室壁瘤 [J]. *中华胸心血管外科杂志*, 1999, 15(2): 196-9.
- [2] Mills NL, Everson CT, Hockmuth DR, et al. Technical advances in the treatment of left ventricular aneurysm [J]. *Ann Thorac Surg*, 1993, 55(4): 792-800.
- [3] Jatene AD. Left ventricular aneurysmectomy: resection or reconstruction [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1985, 89(2): 321.

收稿日期: 2001-07-17

作者简介: 王文林 (1967-), 男, 河南焦作人, 2000 年 7 月毕业于第一军医大学, 博士, 主治医师, 电话: 020-36222205-53543