DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).1980.0003

第1卷 第1期 中山医学院学报 Vol.1,No.1
1980年 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE ZHONG SHAN 1980

大白鼠胼胝体神经胶质细胞的体外培养

组织学与胚胎学教研组 郭畹华

神经胶质细胞是神经组织内除神经元外的另一大类细胞，它们参与神经元的活动，对神经元有极为密切的相互关系，但至今对其精确的功能尚未有更深入的了解。利用组织培养方法研究胶质细胞的形态和功能，比之用一般组织学方法优越[1]，不仅因它能示范细胞胞体和突起的结构[2]，而且更重要的是能更好地控制细胞及其液体环境，有利于探讨胶质细胞的生物学特性和功能。

单纯培养神经胶质细胞的工作，国内未见报道。本文仅就培养成功胶质细胞，报道其形态学观察，并为鉴别离体培养的神经细胞和胶质细胞[3]提供一定的资料。

材料和方法

为了获得纯粹的胶质细胞，选用大白鼠脑的胼胝体做实验材料，总共培养了约70只大白鼠（大部分是生后第3天至1周龄者）脑的胼胝体，应用旋转管法和 Maximow 氏双盖片法进行培养，一部分的组织小块是种植在旋转管内的狭长条盖玻片上。培养液的成份是：人胎盘脐带血清40%，Hanks平衡盐溶液60%，青霉素100单位及链霉素100微克/毫升培养液。每周换培养液2～3次，培养温度37°C（±0.2～0.5°C）。除活体观察外，生长在盖玻片上的培养物可定期取出，用 Carroy 氏液固定。苏木素染胞核，活性艳红水溶液（浓度约为1：500～1,000）染胞质及突起。为了探讨胶质细胞胞质颗粒的性质，一部分材料进行一些组织化学方法，计有PAS法，Шабадаш法示糖元及 Gomori 氏钙钴法示碱性磷酸酶。

结 果

旋转管法培养比双盖片法生长迅速，培养24小时便有胶质细胞从植块迁移出来，2～3天后可看到明显的生长晕，胶质细胞以其突起彼此交织成网（图1，2），随着生长晕的迅速扩大，植块逐渐变薄以至分不清植块的轮廓。在生长晕内的细胞除各型胶质细胞外，还有成纤维细胞和巨噬细胞，但后两者的数量不多。

少突胶质细胞 少突胶质细胞是培养中数量最多也最容易识别的细胞型。它的特点是胞体小，圆形或多角形，细胞核占据胞体的大部分位置，故胞质量少。细胞核圆形，稍偏居胞体的一侧，有时可见核仁。细胞的突起较细小，数目也较少，一般3、4或5个突起，可以有分支。活体观察折光性强（图6），在染色标本上是染色较深。它们常成群结集在一起或彼此串连成链状（图7）。

星形胶质细胞 数量也很多。胞体较大，胞质较丰富。细胞核圆或卵圆形，偏居胞

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

体的一侧，内有核仁1～2个（图3，4）。双核的星形胶质细胞亦可见（图10），细胞的突起数目较多且粗长，故与少突胶质细胞容易区别，不会混淆。纤维性和原浆性星形胶质细胞基本上可区别，前者数量居多，细胞突起特别粗长锐直，突起伸出较远才有分支（图3），后者数量较少，胞体较肥大，从胞体发出星芒状的突起，突起伸出不远便有分支（图4）。星形胶质细胞突起的末端呈三角形或分叉的薄膜状扩张。这些突起互相交织成为稠密的网。我们用活性艳红水溶液代替伊红染胶质细胞的胞质和突起，可获得鲜艳、清晰而漂亮的图象（图1）。

在一些星形胶质细胞和少突胶质细胞的胞质内常含有密集的、折光性强、大小相近的圆形颗粒（图5），但在核旁胞质的一小区却没有这些颗粒，因而出现一个空白的区域，此空白区可能为高尔基复合体所在的位置。除核周胞质外，细胞的突起及突起末端的扩张部都有上述颗粒分布。这些胞质颗粒能被活性艳红染上鲜艳的红色，对PAS法及Шабадаш糖元法均显示阳性反应，但以唾液淀粉酶作对照试验，阳性反应没有消失。在Gomori氏钙钴法的标本里，胶质细胞的核仁、染色质和胞质颗粒均呈阳性反应。胶质细胞进行有丝分裂时，其胞质颗粒依然存在（图9），几乎在分裂的各期均可见到这些颗粒。

在培养中常可见各型胶质细胞的有丝分裂（图8～10）。当开始进行分裂时，细胞体积增大，突起减少但没有完全消失，细胞外形特征仍保存，故基本上能识别是那一型胶质细胞的分裂像。

除少突胶质细胞和星形胶质细胞外，在我们的材料里难以确认小胶质细胞。可能由于这类细胞对周围环境的变化极敏感，很快变形，以致成为在形态和活动上都相似于巨噬细胞的成份。

讨　论

单纯培养胶质细胞，文献上大多以胼胝体作实验材料①④⑤。我们的实验同样证明胼胝体是培养纯粹胶质细胞最好的来源。我们培养新生大白鼠胼胝体胶质细胞的成活率较高，大部分材料都能生长，而且生长较迅速。经短期细胞的外移和生长后，血浆膜便很快消失，因而细胞几乎是直接贴附着玻璃面生长，类似单层细胞培养，这非常有利于染色观察，对组织化学反应，也消除因血浆膜存在而产生的障碍和不良的效果。成年动物脑的胼胝体取材并不困难，但在新生大白鼠脑，要取出薄层的胼胝体（动物愈年青，其胼胝体愈薄），必须解剖技术熟练和小心谨慎才容易成功，否则常易取错或混杂邻近的脑组织。

对培养的神经组织进行固定染色观察，一些学者多应用Bodian氏蛋白银法示范细胞的突起，我们用活性艳红染料亦能清楚地显示胶质细胞的突起及其相互交织的网络，胞体的结构同时能观察，特别是它应用简单方便，结果令人满意，这是值得推荐的一种简易可行的方法。

体外培养的胶质细胞，除小胶质细胞外，其余各型胶质细胞均各具一定的形态学特征，其中以少突胶质细胞最易识别。Lumsden和Pomerat（1951）④曾对它作详细的描

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

述。Wolfgram 和 Rose(1957)[1] 培养年青小猫脑的胼胝体，把少突胶质细胞分为多极和双极两种，并认为双极少突胶质细胞是不成熟或退化的细胞。我们亦观察到双极型的少突胶质细胞。但它们与正常的少突胶质细胞比较，除突起较少仅限于从细胞两极发出外，其他毫无区别。因此，我们认为双极型的出现可能是由于细胞活动时形态改变所致。

胶质细胞的胞核大多偏位于细胞体的一侧，核内含1～2个核仁。但在一般组织学标本不容易看到胶质细胞有核仁，故认为胶质细胞无核仁，并将之作为与神经细胞鉴别依据之一。Hogue (1953)[8] 培养成人脑细胞未发现胶质细胞有核仁，但 Pomerat (1951)[7]，Lumsden 和 Pomerat (1951)[4]，Wolfgram 和 Rose (1957)[1] 等以及我们的材料均看到胶质细胞有核仁。正因为胶质细胞的胞核可以有核仁，同时又有丰富的胞质突起，因而在对神经细胞和胶质细胞两者的鉴别上有时会发生混淆。但若仔细分析，还是可以区别的：神经细胞的核仁一般大而圆，位于空泡状的核内，故异常显著突出[3]；而胶质细胞的胞核一般染色质较多，核仁也没有那么大而圆，因而较不显著。

胶质细胞的胞质颗粒与培养大白鼠脑神经细胞所看到的颗粒（郭畹华，1973）[3] 相似。Lumsden (1958)[6] 培养人及胎儿脑组织，看到星形胶质细胞胞体内有一种特别明亮的嗜伊红性颗粒沿细胞的突起向突起的末端移动，并自细胞逸出，游离在培养基内，组织化学分析这些颗粒是属于粘蛋白或粘多糖类的物质。Shimai(1960)[9]，Okamoto和 Ogawa (1960)[10] 等也观察到这些颗粒，但他们进行的组织化学研究所得的结果很不一致，他们还指出除胶质细胞外，其他培养的细胞亦可发现有这种颗粒。我们的实验曾观察到少突胶质细胞、星形胶质细胞和神经细胞[3]均有这种颗粒，甚至当细胞分裂时它们仍存在。显然，这些胞质颗粒是正常情况下存在的，它们对 PAS 及 Gomori 氏钙钴法反应阳性，此结果与先前一些学者所做的相同，但仅从这些反应分析尚未能确定其性质，还有待今后进一步探讨。

小　结

应用旋转管法和 Maximow 氏双盖片法，从新生及年青大白鼠脑的胼胝体培养成功纯粹的胶质细胞，培养的成活率较高。培养液的成份是40%人胎盘脐带血清和60% Hanks平衡盐溶液。用活性艳红染料示范胶质细胞的胞质和突起效果良好。

除小胶质细胞外，各型胶质细胞都具有一定的形态学特征，可以鉴别。

（本文插图见附页）

参考文献

1. Wolfgram F and Rose A S: The morphology of neuroglia in tissue culture with comparisons to histological preparations. J Neuropath Exp Neurol 16: 514, 1957
2. Pomerat C M: Functional concepts based on tissue culture studies of neuroglia cells. In "Biology of Neuroglia", Charles C Thomas, U S A, p 162～175, 1958

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

③ 郭畹华：大脑皮质神经组织体外培养的初步观察．新医学 4(1)：20，1973
④ Lumsden C E and Pomerat C M：Normal oligodendrocytes in tissue culture. Exp Cell Res 2：103，1951
⑤ Berg O and Kallen B：Studies on rat neuroglia cells in tissue culture. J Neuropath Exp Neurol 18：458，1959
⑥ Hogue M J：A study of adult human brain cells grown in tissue culture. Am J Anat 93：397，1953
⑦ Pomerat C M：Pulsatile activity of cells from the human brain in tissue culture. J Nerv Ment Dis 114：430，1951
⑧ Lumsden C E：Histological and histochemical aspects of normal neuroglia cells. In "Biology of Neuroglia", Charles C Thomas, USA, p 141～161, 1958
⑨ Shimai K：A cytochemical study of neuroglia cell in tissue culture. I. On the astrocytes. Acta Anat Nipp 39：97，1960
⑩ Okamoto M and Ogawa K：Cytochemistry of the cultured neural tissue. I. Cytoplasmic granules. Acta Anat Nipp 35：423，1960

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

大白鼠胼胝体神经胶质细胞的体外培养 （正文见第16页）

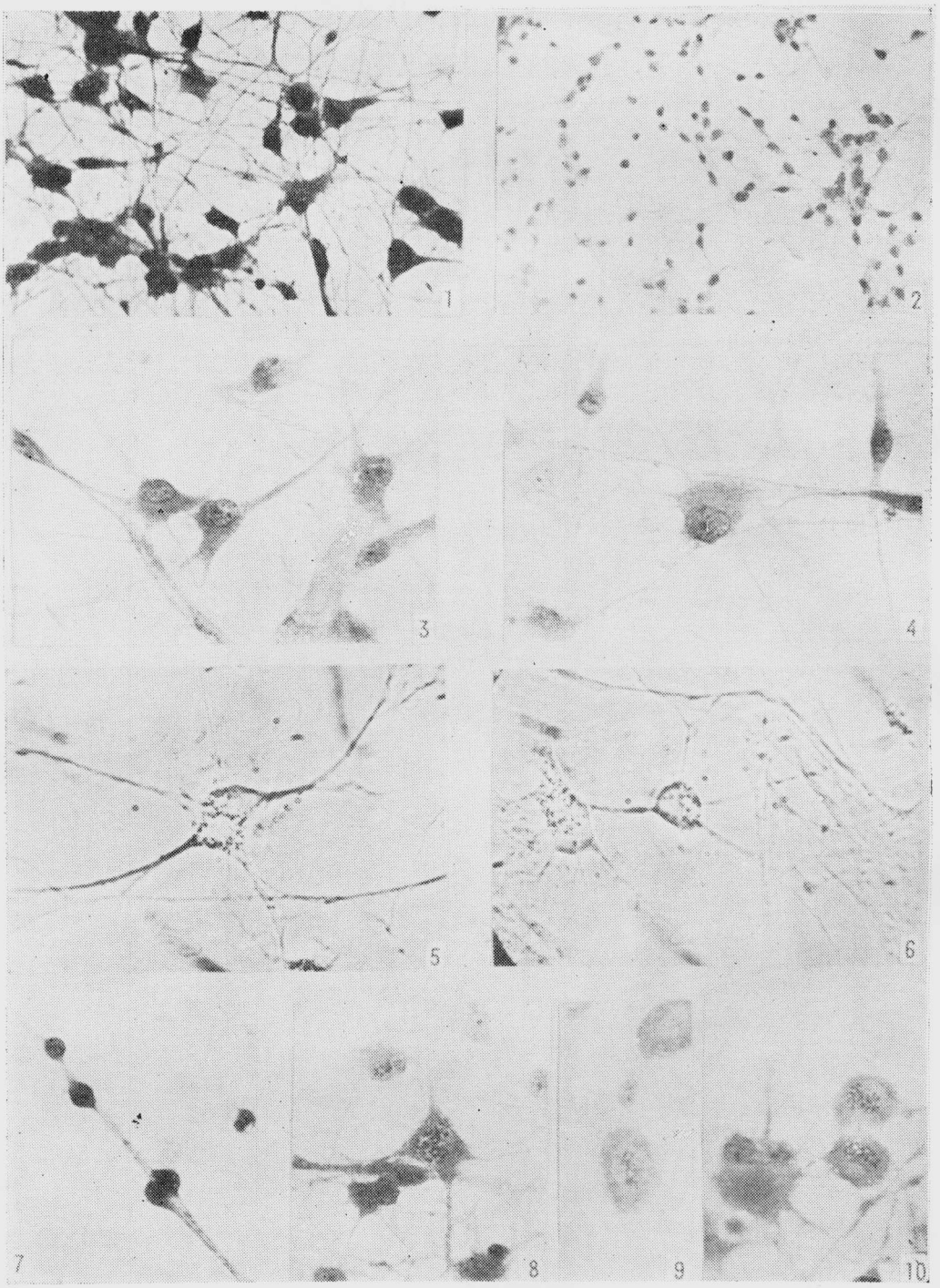

图1　星形胶质细胞为主的生长晕　培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×450
图2　少突胶质细胞为主的生长晕　培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×100
图3　纤维性星形胶质细胞　培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×950
图4　原浆性星形胶质细胞　培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×950
图5　纤维性星形胶质细胞　胞质内含致密的颗粒　培养第9天　活体相差照相　×900
图6　少突胶质细胞，胞质亦含颗粒，其左侧是一个星形胶质细胞。培养第9天　活体相差照相　×900
图7　呈链状的少突胶质细胞　培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×950
图8　星形胶质细胞的分裂前期　培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×950
图9　星形胶质细胞的分裂中期，注意胞质颗粒仍存在。苏木素-活性艳红染色　×950
图10　星形胶质细胞的分裂末期，左侧是一个双核星形胶质细胞。培养第10天　苏木素-活性艳红染色　×450

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net