

# 大鼠胃迷走感觉纤维的中枢投射

## ——光镜电镜研究

程世斌<sup>1</sup> 罗天锡<sup>2</sup> 卢光启<sup>1</sup>

(1.生理教研室 2.肿瘤研究所\*)

**提 要** 将CB-HRP注入大鼠胃壁,光镜下见标记终扣主要分布在两侧孤束核(Sol)的内侧部,连合核和胶状核以及最后区。电镜下见Sol和最后区内的标记终扣主要与树突形成对称或非对称型突触。证实了迷走神经背核(DNV)也接受胃迷走感觉纤维的投射,胃迷走传入纤维与DNV中的胃运动神经元胞体和树突可直接形成突触联系。同时还证实了DNV中胃运动神经元树突可伸入Sol内并与其内的胃迷走感觉纤维形成突触联系,因而认为胃迷走-迷走单突触反射弧可能存在两条路径。

**关键词** 迷走神经背核;孤束核;最后区;迷走感觉纤维;胃;大鼠

**中图分类号** R322.81

一般认为内脏感觉纤维主要投射孤束核(Sol),最后区也接受部分迷走感觉纤维的投射。另外,有资料报道迷走感觉纤维还终止于网状结构、疑核、三叉神经背束核、中介核和小脑<sup>[1]</sup>。至于迷走神经脊核(DNV)是否接受迷走感觉纤维的投射,还有争论,而胃迷走感觉纤维与DNV内胃运动神经元之间是否存在直接突触联系,未有定论。本研究利用辣根过氧化物酶法(HRP)技术,采用一种新的呈色方法<sup>[2]</sup>,对以上问题加以研究。

### 材 料 和 方 法

**HRP胃部注射** SD雄性健康大鼠8只,重150~250g,1%戊巴比妥钠腹腔麻醉,将动物仰卧位固定于手术板上,剑突下正中切口,将胃游离腹腔外,用一塑料纸将胃与腹腔隔开。将0.3%CB-HRP(协和医大产品)点状注入胃壁肌层,每点约1.5 $\mu$ l,共20~30 $\mu$ l。用消毒生理盐水冲洗胃表面后,将胃放回腹腔,缝合切口,动物存活72h。

**标本制备** 1%戊巴比妥钠再次腹腔麻醉,经升主动脉灌注固定,固定液用1%多聚甲醛和2%戊二醛的磷酸缓冲液。振动切片机冠状切片,厚60 $\mu$ m,按TMB-ST电镜法<sup>[2]</sup>,HRP

呈色反应后,每例在不同平面随机捞取3~5张切片供光镜下观察,其余切片经DAB/Co<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理,饿化、脱水渗透,Epon 812平板包埋,60 $^{\circ}$ C聚合48h,在解剖显微镜下将含标记细胞的DNV、Sol和最后区部位用刀刻出,超薄切片,铅铂双染,JEM-1200EX透射电镜观察及摄影。

### 结 果

#### 光镜观察

明视野下见标记终扣呈绿色颗粒状,暗视野下呈粉红色,主要分布在孤束核(Sol内侧部、Sol连合核、Sol胶状核),左右无明显差别。在Sol中段水平标记终扣样结构最密集。在最后区也见散在的标记终扣样结构,多位于其腹侧部(图1)。在DNV内见大量密集的标记细胞和突起,标记突起可伸入孤束核内,与其内的标记终扣样结构混在一起,但光镜下难以辨别DNV内是否有含标记终扣(图1)。

#### 电镜观察

在Sol、DNV及最后区均见有标记的终扣。标记终扣内的HRP产物呈粗颗粒状或条索状。标记终扣有两种:一种只含圆形透亮小

泡, 另一种是既含圆形透亮小泡, 也含内有致密核心的颗粒小泡。此外, 还发现带髓鞘的轴突也有被标记, 这主要见于 Sol 内。

在 Sol, 标记终扣主要与未标记的树突形成轴树突触联系(图 2)有对称和非对称型。同时, 还见有大量的标记树突, 其多数与未标记终扣形成对称或非对称型突触。有趣的是, 位于 Sol 的标记树突还可与此处的标记终扣形成突触联系, 主要为非对称型的, 但这类突触联系较少见(图 3)。未见标记终扣与 Sol 胞体形成突触联系。

在 DNV 内的标记终扣多数是与未标记的树突形成对称和非对称型突触, 但也可见到少量标记终扣与标记树突形成对称和非对称型突触。此外还发现标记终扣与未标记终扣一起与标记树突的棘(1个或2个)形成的轴棘突触, 主要为非对称型突触(图 4)。还可见到标记终扣与标记细胞之间形成的轴体突触, 多为对称型, 标记细胞均为大型细胞(图 5), 这类突触更为少见。

位于最后区内的标记终扣主要与树突或棘形成非对称型突触。标记的终扣截面一般较大, 常将多个树突棘包裹并与其形成非对称型突触(图 6)。有的标记终扣只游离在最后区的窦状隙中, 未见标记终扣与最后区神经元胞体有突触联系。在最后区内, 还见有标记的树突, 均与未标记终扣形成突触联系。

## 讨 论

以往对迷走感觉纤维的中枢投射的研究, 多数局限于光镜水平。早期采用溃变技术, Anderson 及 Harding 等均认为迷走感觉纤维可投射到 DNV<sup>[1]</sup>, 但用相同方法, Torvik<sup>[3]</sup>却未发现这种联系。用放射自显影及 HRP 技术, 一些作者也认为猫和大鼠 DNV 接受迷走感觉纤维的投射<sup>[1, 4, 5]</sup>, 但也有持否定意见的<sup>[6, 7]</sup>。事实上, 在 HRP 或放射自显影追踪实验中, DNV 细胞常被密集标记, 所以光镜下, 在 DNV 内很难辨认是标记终扣, 还是标记树突的横断面或是非特异性染色颗粒, 这正

如本实验在光镜下所见的一样(图 1)。

本文结合电镜观察认为胃迷走感觉纤维主要投射到 Sol、DNV 及最后区。Neuhuber<sup>[8]</sup>和 Ling<sup>[9]</sup>虽然也证实了 DNV 接受迷走感觉纤维的投射, 但他们只仅仅发现标记终扣与 DNV 标记树突有突触联系, 而本文不仅证实了胃迷走感觉纤维与 DNV 内胃运动神经元树突有突触联系, 且发现其与胞体也有突触联系。Neuhuber 和 Ling 的实验均是直接将 HRP 直接用于颈迷走神经干, 因而无法判断标记终扣是否来自胃, 也无法判断与标记终扣形成突触联系的标记树突是否属于支配胃的运动神经元。所以他们的实验结果不能说明胃迷走感觉纤维与 DNV 内胃运动神经元之间就有直接联系。然而用相同方法, McLean<sup>[10]</sup>认为猫和猴 DNV 均不接受迷走感觉纤维的投射。

本文证实了孤束核内的胃迷走感觉纤维可与来自 DNV 的标记树突形成非对称型突触联系, 此结果与 Rinaman<sup>[11]</sup>等人用 CT-HRP 追踪的结果一致, 但 Neuhuber<sup>[8]</sup>在 Sol 内却未发现这种联系。其原因可能除动物种属不同外, 与所用 HRP 类型及显色方法不同也有关系。

以上结果表明, 胃迷走感觉纤维与 DNV 内胃运动神经元之间存在着胃迷走—迷走单突触反射弧。胃迷走感觉纤维与 DNV 内胃运动神经元之间的联系, 有两条路径: 一是胃迷走感觉纤维直接投射到 DNV, 另一条是通过 Sol, 再直接与 DNV 胃运动神经元联系, 这两条路径的功能意义是否不同还不清楚。作者推测胃迷走—迷走单突触反射弧可能存在以上两条不同的路径, 后一条路径可能有 Sol 参与信息的整合。胃迷走—迷走单突触反射弧的证实表明胃功能的一些反射可直接在 DNV 水平上完成, 这无疑在中枢调节胃运动和分泌中起重要作用。

(本文图 1~6 见插页 1)

## ● 考 文 献

1. Odekunle A, Bower AJ. Brainstem connections of vagal afferent nerves in the ferret: an autoradiographic study. *J Anat* 1985;140(3):461
2. Gu Yaoming, et al. Electron microscopical demonstration of horseradish peroxidase by use of tetramethylbenzidine as chromogen and sodium tungstate as stabilizer (TMB-ST method): a tracing method with highest sensitivity and well preserved ultrastructural tissue. *J Neurosci Method* 1992;42:1
3. Torvik A. Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract, and adjacent structures. *J Comp Neurol* 1956;106:51
4. Kalia M, Sullivan JM. Brainstem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat. *J Comp Neurol* 1982;211:248
5. Shapiro RE, Miselis RR. The central organization of the vagus nerve innervating the stomach of the rat. *J Comp Neurol* 1985;238(4):473
6. Norman P, Brower AJ. An autoradiographic study of brain stem projections vagal visceral afferent fibres in the domestic hen. *J Anat* 1982;134:538
7. Cirilello J, et al. Horseradish peroxidase study of brain stem projections of carotid sinus and aortic depressor nerves in the cat. *J Auton Nerv Syst* 1981;4:43
8. Neuhuber WL, Sandoz PA. Vagal primary afferent terminals in the dorsal motor nucleus of the rat: are they making monosynaptic contacts on preganglionic efferent neurons? *Neurosci Letters* 1986;69:126
9. Ling EA, et al. The dorsal motor nucleus of the vagus nerve of the hamster: ultrastructure of vagal neurons and their response to vagotomy. *J Anat* 1987;152(1):161
10. McLean JH, Hopkins DA. Ultrastructure of the dorsal motor nucleus of the vagus nerve in monkey with a comparison of synaptology in monkey and cat. *J Comp Neurol* 1985;231:162
11. Rinaman L, et al. Ultrastructural demonstration of a gastric monosynaptic vagal circuit in the nucleus of the solitary tract in rat. *J Neurosci* 1989;9(6):1985  
(1993-03-16收稿 1993-06-12修回)

## CENTRAL PROJECTION OF VAGAL SENSORY FIBRES FROM THE STOMACH IN THE RAT: A LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPE STUDY

Cheng Shibin<sup>1</sup> Luo Tianxi<sup>2</sup> Lu Guangqi<sup>1</sup>

(1. Department of Physiology 2. Cancer Institute)

Under light microscope, labeled boutons were distributed in bilateral medial part of Sol (nucleus of solitary tract), commissure nucleus of Sol, gelatinous nucleus of Sol and area postrema (AP) when CB-HRP was injected into the wall of the stomach in the rat. The labeled boutons mainly made symmetric and asymmetric synapses with the dendrites of Sol and AP under electron microscope. It was confirmed that dorsal nucleus of the vagus nerve (DNV) also received inputs from the vagal sensory fibres of the stomach.

The vagal afferent fibres from the stomach could synapsed with the bodies and dendrites of parasympathetic preganglionic neurons innervating the stomach within the DNV. It was also confirmed that the dendrites from the DNV could synapsed with the vagal sensory fibres within the Sol. Therefore, it should be concluded that vago-vagal monosynaptic reflex arc has two pathways.

Key words dorsal nucleus of vagus nerve; nucleus of solitary tract; area postrema; vagal sensory fibres; stomach; rat



· 简 报 ·

### 应用PCR法检测血清HBV DNA及其意义

张春兰\* 王 飞

(附属第三医院传染病科)

关键词 乙型肝炎病毒; 聚合酶链反应; HBV DNA; 乙型肝炎抗原抗体

中图分类号 R512.62

应用PCR法检测不同HBV标志物阳性血清112例HBV DNA, 部分与斑点杂交法比较, 以阐明HBV标志物与HBVDNA关系及其意义。

**材料与方 法** 112例血清来源于本院1990年7月至1991年12月传染病科住院及门诊病人。共分5组, A: 22例HBsAg、HBeAg均阳性(为慢性肝炎); B组: 14例HBsAg(+), HBeAg(-)(亦为慢性肝炎); C组: 41例HBsAg(-)、HBeAg(-)(其中24例为慢性肝炎, 16例为无症状者, 11例为急性肝炎恢复期); D组: 为标志物阴性的正常人17例, E组, 18例为单项抗HBs阳性(疫苗注射后)。临床分型符合1990年全国肝炎学术会议(上海)诊断标准。采用经典酚抽提法, 蛋白酶K 2.5mg/ml 纯化血清。引物S<sub>1</sub>427-448, S<sub>3</sub>R 839-822及DNA聚合酶均购于上海复旦大学遗传所。反应体系25μl, 在95℃、55℃、70℃下循环30周期, 以含0.5μg/μl溴乙锭琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下于413 bp处见荧光亮带则为HBV DNA阳性, 否则为阴性。部分标本用斑点杂交法检测, 由本科研究室提供。

**结 果** 用PCR法检测血清, A、B、C、D、E组HBV DNA阳性率分别为90.91%(20/22)、57.14%(8/14)、39.02%(16/41)、0.00%(0/17)、0.00%(0/18)。A组高于B、C组(P<0.05, P<0.01)。A组用斑点杂交法HBV DNA阳性14例, PCR法均阳性; 用斑点杂交法HBV DNA阴性8例,

PCR法却6例阳性。两方法无相关性(P>0.05), 但不同检测阳性结果有差异(P<0.05)。C组单项抗-HBc阳性4例, PCR法HBV DNA阳性2例; 抗-HBs阳性伴抗-HBc阳性或抗-HBe阳性19例, PCR法阳性9例; 标志物阴性3例未检出HBV DNA。

**讨 论** 本实验表明PCR法与斑点杂交法无相关性, 但有差异性, 故PCR法比斑点杂交法更敏感。用PCR法检测表明A组HBV DNA阳性率高于B、C组, 说明e抗原及与HBV DNA的一致性较好, 不失为反映病毒复制较好指标。但B、C组仍高达57.14%、39.02%, 说明e抗原阴性并不是病毒复制停止, 仅是复制活力减弱而已, 可能与病毒前C区基因变异有关<sup>[1]</sup>。故HBV DNA为病毒复制最直接最可靠指标。C组检测结果提示一种低水平HBV感染存在<sup>[2]</sup>, 为临床HBsAg阴性慢肝病诊断提供依据。单项抗-HBs阳性或伴抗-HBc、抗HAE阳性, 亦有一定HBV DNA检出, 提示抗-HBs阳转并不一定均具免疫力。

#### 参 考 文 献

1. Tang SP, et al. Active hepatitis B virus replification in the prescence of anti-HBe is associated with viral variants containing an inactive pre-C region. *Virology* 1990;176:596
2. Will H, et al. Infection hepatitis B virus from cloned DNA of know nucleotide sequence. *Proc Natl Acad Sci* 1985;82:891

(1992-09-02收稿 1993-06-20修回)

\* 硕士研究生, 现在广州市传染病医院工作(510060)

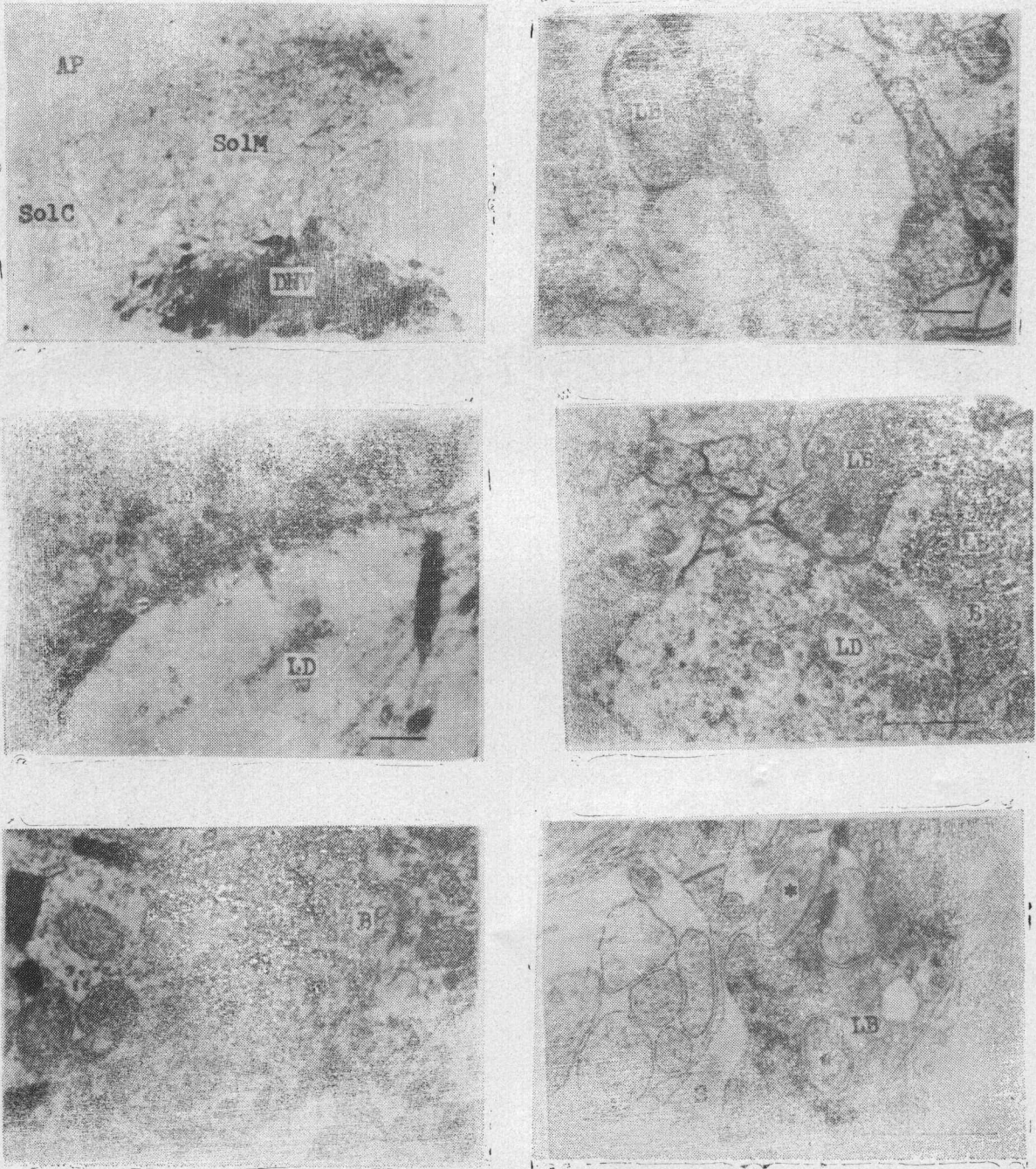


图1 胃 CB-HRP 逆行追踪的光镜观察 迷走神经背核 (DNV) 内标记细胞密集, 突起伸入孤束核, 在孤束核内侧部 (SolM) 及连合核 (SolC) 见密集的标记颗粒, 最后区 (AP) 腹侧部也见散在标记颗粒 ×50

图2 孤束核内标记终扣 标记终扣 (LB) 同时和 2 个未标记树突形成突触。标尺 = 1 $\mu$ m 1 2

图3 孤束核内标记终扣 标记终扣 (LB) 与标记树突 (LD) 形成非对称型突触。标尺 = 200nm 3 4

图4 DNV 内标记终扣 标记终扣 (LB) 与标记树突 (LD) 形成突触联系。标尺 = 1 $\mu$ m 5 6

图5 DNV 内标记终扣 标记终扣 (B') 与标记细胞 (C) 形成轴体突触(▲)。标尺 = 500nm

图6 最后区内标记终扣 标记终扣 (LB) 与多个树突棘(\*)形成非对称型突触。标尺 = 1 $\mu$ m