

黑质—纹状体环路内胆碱能结构

—AchE 药理组化研究结合 HRP 追踪

姚志彬 陈以慈 李之琨

(解剖教研室)

提要 用乙酰胆碱酯酶 (AchE) 药理组织化学方法结合辣根过氧化物酶 (HRP) 追踪研究黑质—纹状体环路的胆碱能神经元及其纤维联系。结果显示尾、壳核内有两种 AchE 阳性神经元, 它们不被黑质注射 HRP 所标记。黑质内纹投射细胞呈 AchE 阳性。本文对 AchE 阳性神经元和黑质—纹状体环路的关系进行了讨论。

关键词 黑质—纹状体环路 乙酰胆碱酯酶 辣根过氧化物酶 组织化学

确立黑质—纹状体多巴胺能神经递质环路以及它们在帕金森氏症发病机制中的作用, 使得帕金森氏病的治疗取得极大的进展。抗胆碱药物作为配合 L-多巴的辅助治疗剂对该病症状具有较好的改善作用, 说明在黑质—纹状体环路中尚有胆碱能系统的参与^[1]。但是, 和多巴胺能递质不同, 胆碱能结构在这一环路中的具体情况了解甚少。为此, 本文运用 AchE 药理组织化学方法以及 HRP 追踪技术, 研究黑质和新纹状体 (尾、壳核) 内胆碱能神经元及其纤维联系, 试为进一步研究帕金森氏病的机制提供基础资料。

材料和方法

成年大白鼠 6 只, 体重 280—350g, 1% 戊巴比妥钠腹腔麻醉后, 于脑立体定位仪上分别注射 30% HRP 在尾核头部 (n=4) 和黑质 (n=2), 存活 24 小时后, 肌肉注射二磷酸异戊丙酯 (DFP), 1.5mg/kg, 存活 8 小时后, 根据 HRP 组织化学程序处理动物, 置备冰冻脑片 40 μ m, 选择具有尾核和黑质的脑片, 按照 Mesulam^[2] 同时证明 AchE 和 HRP 两种反应产物的方法, 行 AchE-HRP 联合反应。另外 6 只大鼠, 肌肉注射 DFP (1.5mg/kg), 存活 4 小时后, 10% 福尔马林经心脏灌注, 取脑, 冰冻切片 40 μ m, 选择尾核和黑质的脑片行单纯 AchE 组化反应, 然后常规脱水、透

明, DPX 封片 (不复染)。孵化液配制见参考文献^[3], 其中乙酰硫代胆碱碘化物作为底物, 盐酸异丙嗪为非特异性胆碱酯酶抑制剂。

结果观察

AchE 在中枢神经系统存在比较广泛, 通常的 AchE 组化方法由于胞体、突起和神经毡同时染色, 结果很难分析 (图 1)。DFP 是不可逆的胆碱酯酶抑制剂, 它能透过血脑屏障, 肌注后脑内原有 AchE 全部受到抑制, 经存活一定时间, 细胞体重合成新的 AchE。这样由于背景神经毡不染色, 含 AchE 的胞体显色清晰、易辨。

一、AchE 药理组化反应: 单纯 AchE 组织化学反应切片上, 尾、壳核内散在有大的 AchE 染色细胞, 主要是长形和长多极形, 一般具有两三个突起 (图 2)。因未复染, 棕红色 AchE 反应颗粒存在于细胞的核周质内, 显示出细胞轮廓。黑质密质部 (SNpc) 内见有大量 AchE 染色细胞 (图 3), 排列较为密集, 见于黑质的全长。细胞呈多极形, 有些 AchE 染色的树突可伸展到黑质网状部 (SNpr)。上述 AchE 阳性细胞是在 DFP 注射存活 4 小时后显色, 按照姚志彬的标准它们属 AchE 强染色细胞^[3]。

二、AchE-HRP 联合反应: 尾核头部注射 HRP 后, 经 AchE-HRP 联合反应, 结果在

SNpc 见有许多 AchE-HRP 双标记细胞, 双标记细胞是 AchE 反应产物 (棕红色颗粒) 和 HRP 反应产物 (深蓝色颗粒) 共存于同一个核周质内 (图 4-6)。SNpr 内有大量 HRP 标记的神经纤维和终末, 此为尾核-黑质投射的顺行性标记。注射 HRP 在黑质的标本, 尾核壳核内均未见有 AchE-HRP 双标记细胞, 只有单纯 HRP 标记细胞。

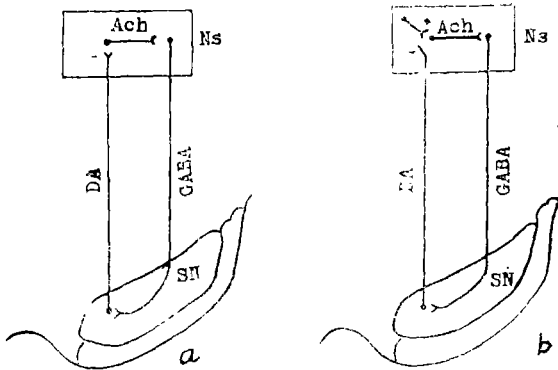


图 7 黑质-纹状体环路的神经递质编码

NS. 新纹状体; SN. 黑质; DA. 多巴胺;

GABA. γ -氨基丁酸; Ach. 乙酰胆碱;

讨 论

乙酰胆碱 (Ach) 和多巴胺 (DA) 是一对相互作用的神经递质, 维持两递质间的平衡对于运动中枢调节具有重要作用, 临床上用抗胆碱药物治疗帕金森氏症正是基于这一原理^[4,5]。然而, 胆碱能和多巴胺能两系统在黑质-纹状体水平是怎样地相互作用, 其具体机制和化学解剖学径路却不甚清楚。药理学实验证明, 给予多巴胺受体激动剂或者刺激 SNpc, 能使新纹状体内的 Ach 含量增加, 而 DA 受体阻断剂则能对抗这一效应。因此推测新纹状体内有直接接受黑质-纹状体多巴胺能投射的胆碱能神经元^[6,7]。本实验显示尾、壳核内有 AchE 强染色神经元, 它们在黑质内注射 HRP 后不能被标记, 说明它们很可能是黑质-纹状体-黑质环路的中间神经元。结合药理学资料, 我们推测它们的具体连接形式有两种可能。一种是黑质-纹状体多巴胺能投射对胆碱能神经元发

挥突触后抑制作用 (图 7a), 另一种可能是黑质-纹状体投射对胆碱能神经元的上一级传入发挥突触前抑制作用 (图 7b)。这种突触前传入的本身也可以是胆碱能的, 因为有报道在新纹状体内 DA 对 Ach 的释放有突触前抑制作用^[8]。

荧光组织化学研究证明 SNpc 细胞属多巴胺能。本实验中它们呈 AchE 阳性, 尾核注射 HRP 后呈 AchE-HRP 双重反应。这些多巴胺能黑质-纹状体投射神经元含有大量 AchE 的意义尚不清楚, 可能的解释有: 1. 它们属高度胆碱敏感细胞, 接受高密度的胆碱能投射; 2. 和递质调制有关, 即下一级神经元的胞体或树突释放 Ach, 作用于它们的轴突终末, 修饰 DA 的释放^[9]; 3. 两种递质 Ach 和 DA 同量或不同量的共存。此外, 不能排除单胺能神经元的 AchE 尚有目前我们未知的作用, 因为, 脑内多数单胺能细胞含有高的 AchE 活性^[3]。

(本文插图 1~6 见 62 页)

参 考 文 献

- [1] Yahr MD. Pharmacological treatment of Parkinson's disease in early and late phases. In: Rose and Capildeo eds. Research progress in parkinson's disease. Pitmen Medical Press 1983; p233.
- [2] Mesulam MM. A HRP method for the identification of efferents of AchE-containing neurons. J Histochem Cytochem 1976; 24: 1281.
- [3] 姚志彬, 等。AchE 阳性神经元在鼠脑的分布和形态特征。解剖学报 1987; 18(1):45。
- [4] Belleruche JS. Acetylcholine-dopamine interactions in the corpus striatum and nucleus accubens. In: Bradford HF eds. Neurotransmitter interaction and compartmentation Plenum Press. New York and London. 1983; p235.
- [5] Greer M. Research progress in Parkinson's disease Geriatrics 1985; 40(2):34.
- [6] Consolo S, et al. Decrease in rat striatal acetylcholine levels by some direct and indirect-acting dopaminergic antagonist. Europ J pha-

- armacol 1975, 33:345.
- [7] Stadler, H, et al. Enhanced striatal acetylcholine release by chlorpromazine and its reversal by apomorphine. Brain Res 1973, 55:476:
- [8] ed Bellerocche J, et al. Dopamine inhibits the release of endogenous acetylcholine from corpus striatum and cerebral cortex in tissue slices and synaptosomes: A presynaptic response; J Neurochem 1982, 39(1):217.
- [9] Giorgiuff MF, et al. Nicotinic effect of acetylcholine on the release of newly synthesized [³H]-dopamine on rat striatal slices and cat caudate nucleus. Brain Res 1976, 106:117.

Cholinergic Structure in the Substantia Nigra-striatum Loop—a Study of AchE Pharmacohistochemistry and Method of HRP-tracing

Yao Zhibin Chen Yici Li Zhikun

(Department of Anatomy)

Abstract

Cholinergic neurons and their fiber connection in substantia nigra-striatum loop is studied with acetylcholinesterases (AchE) pharmacohistochemistry combining with method of HRP-tracing. The results showed that there were AchE-containing neurons in striatum, which were not labeled after HRP were injected in substantia nigra. Neurons in substantia nigra contained high level AchE, which projected to striatum. Present study discussed the relationship between AchE-containing neurons and substantia nigra-striatum loop.

Key words: Substantia nigra-striatum loop AchE HRP histochemistry

(上接第7页)

ation, all of which suggest that infiltrating ductal carcinoma derived from the ductal epithelium of the breast. Three types of tubular formation were observed, i. e. classical gland, bile-capillary-like gland and tubular-like structure. Intracellular lumina and tubular-like structure presenting in infiltrating ductal carcinoma of breast are of quite characteristics, which reflect the tumor cells remaining the ductal epithelial origin with disturbance of differential orientation. Observations also suggest that intracellular filaments of the tumor cells belong to the intermediate filaments of epithelium, i. e. tonofilaments, probably relating to squamous metaplasia of the tumor cells. Myoepithelial cells, showing degenerative changes due to compression by tumor cells, are of the rudiments of the normal mammary ducts. Myofibroblast in stroma is likely originated from the transformation of fibroblast stimulated by the tumor cells. It may reflect the local reaction of the host against the tumor. No evidence was found to suggest that myofibroblasts were transformed from myoepithelial cells.

黑质—纹状体环路内胆碱能结构 (正文见 1 页)
——AChE 药理组化研究结合 HRP 追踪

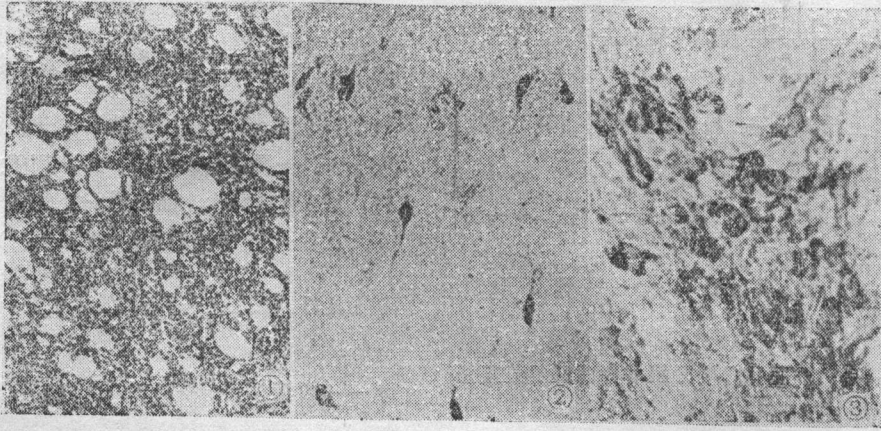


图1 尾核头部AChE染色未经 DFP 处理 $\times 34$
图2 DFP 处理后尾状核内 AChE 染色细胞 $\times 220$
图3 DFP 处理后黑质致密部AChE 染色细胞 $\times 220$

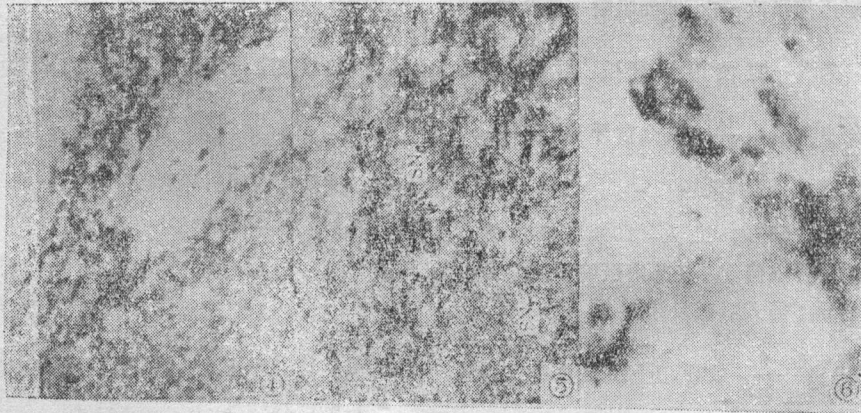


图4、5 黑质致密部 (SNe) 的 AChE-HRP 双标细胞和网状部 (SNe) 的 HRP 标记终末
 $\times 34 \times 102$
图6 黑质内双标记细胞高倍观 $\times 440$