

# 加压素神经元在下丘脑的分布 及其与垂体后叶的关系

## ——辣根过氧化物酶(HRP)与免疫组化双重标记法研究

吴武田 姚志彬 陈以慈 叶鹿鸣

(人体解剖学教研室)

**提要** 本文应用 HRP 与免疫组化结合的方法研究加压素神经元在下丘脑的分布及其与垂体后叶的关系, 结果表明: 下丘脑视上核、室旁核、视上核后部、视交叉上核、前连合核、终纹床核、环形核、穹窿核、视前区、下丘脑内、外侧区、室周灰质、室管膜层及下丘脑一些血管周围均有加压素神经元分布。室管膜层、视上核的软膜面及一些大血管周围有丰富的神经元突起, 有些甚至接触到脑脊液或游离到血管腔中。除视交叉上核外, 上述其余核区均有纤维投射到垂体后叶。本文结果提示: 加压素可能通过三种途径释放: ①释放到垂体后叶; ②直接释放到脑脊液; ③直接释放到下丘脑的血管腔内。

**关键词** 加压素神经元 免疫组织化学 辣根过氧化物酶

近年的研究表明, 在下丘脑除了室旁核和视上核外, 另外一些核团的神经元也能产生加压素<sup>[1-8]</sup>。它们和垂体后叶以及中枢神经其他结构的关系如何, 尚不完全清楚。本文应用免疫组织化学结合 HRP 追踪方法研究下丘脑加压素神经元的分布以及它们和垂体后叶的联系, 以全面了解下丘脑加压素神经元与垂体后叶的关系; 并探讨加压素的可能分泌途径。

### 材料和方法

实验用大白鼠 20 只, 雌雄不拘, 体重 250~300 克, 分成 3 组。第一组 8 只, 直视下(从颅底钻开垂体窝)将霍乱毒素结合的 HRP (CT-HRP, 上海东风厂生产) 约 0.1 微升注入垂体后叶, 存活 12~24 小时, 2% 多聚甲醛缓冲液 (pH7.4) 灌注固定, 取脑, 冰冻切片 40 微米, 按 Mesulam 的 TMB 法上色, 观察 HRP 标记细胞的分布。第二组 8 只, 用 4% 多聚甲醛缓冲液 (pH7.4) 灌注固定, 取脑, 振动切片机切片, 厚 40 微米, PAP 法<sup>[4]</sup> 上色 (加压素抗体的稀释度为 1:10,000), 观察加压素神经元在下丘脑的分布。第三组 4 只, 先按第一组实验处理, 切片经 TMB 法作 HRP 上色反应后,

再经 DAB—氯化钴稳定 10 分钟 (稳定液: 在 100 毫升 pH7.4, 0.1M 的磷酸盐缓冲液中加入 DAB50 毫克, 1% 氯化钴 0.5 毫升, 30% 双氧水 7.5 微升)。稳定的目的在于使经 TMB 反应后的 HRP 颗粒耐受较高的 pH, 避免在免疫反应过程中褪色。经稳定后的 HRP 颗粒呈粗大的灰黑色颗粒, 易与后一过程中免疫反应所形成的细小的棕黄色颗粒相区别。经稳定后的切片, 按第二组方法, 进行免疫组化处理, 观察 HRP 与加压素双重标记神经元的分布情况。

### 结 果

第一组 HRP 逆行追踪结果, 各例注射部位准确, 充满整个垂体后叶 (图 1)。HRP 标记细胞出现在下丘脑的下列核团和区域: 前连合核、终纹床核、视前区 (包括视前内侧区、视前外侧区、视前室周区)、视上核、室旁核、环形核、穹窿核、视上核后部、室周灰质以及下丘脑前区和下丘脑内、外侧区。其中以视上核、室旁核、视上核后部标记细胞数量最多 (图 2~4); 终纹床核、前连合核、穹窿核、环形核、室周灰质标记细胞也较多; 其余

区域数量较少,标记细胞散在分布。第三脑室室管膜层也有少量标记细胞。视交叉上核未见标记细胞。在室管膜层、室管膜下层、室旁核及前连合核内侧靠近脑室处,以及视上核和视上核后部的软膜面,标记细胞的突起特别丰富,组成密集的树突丛(图2~5)。

第二组免疫组化实验结果,加压素神经元在下丘脑的分布与第一组HRP标记细胞的分布大致相同。第一组中有HRP标记细胞的核团和区域,在第二组中均可见有加压素的阳性反应细胞。视上核、室旁核、视上核后部的阳性细胞最多(图6~8)。终纹床核、前连合核、穹窿核、环形核、室周灰质次之。其余核区阳性反应细胞散在分布。室管膜层也有少量阳性反应细胞。此外,在视交叉上核有大量密集的阳性反应细胞,胞体均较小,着色较深,主要位于核的内侧和背侧份(图9)。在室管膜层、室管膜下层、视上核和视上核后部的软膜面,也可见较丰富的阳性反应突起,形成丛状。

第三组HRP与加压素双重标记神经元的分布与第一、二组的结果基本吻合,即在视上核、室旁核、视上核后部有大量双重标记神经元(图10~11)。前连合核、穹窿核、环形核、终纹床核、室周灰质及室管膜层也可见较多双标记神经元(图12示室管膜层的双标神经元)。其余核区也有少量散在分布的双标神经元。双标神经元多为大神经元,只有少量是小神经元。此外,第三组在视交叉上核可见大量加压素单标神经元,在室旁核、视上核(尤其是靠近软膜处)、室管膜层及室管膜下层也可见到不少加压素单标神经元。其余核区也有个别散在的加压素单标细胞。这些加压素单标神经元的特点是胞体较小,且多分布在脑室周围或软膜下方。与此相反,在上述核区尚可见不少HRP单标神经元,这些向垂体后叶投射的神经元显然不是产生加压素的。

本实验结果有两点值得注意:第一是在下丘脑外侧区(相当于室旁核与视上核之间区域)、以及视前外侧区,可见到数量不少的阳

性标记神经元及突起包绕在一些管腔较大的静脉周围,许多突起末端游离到管腔中(图13)。第二是位于第三脑室周围的神经元可以区别为二种主要类型:一种神经元胞体呈圆形或锥形,突起丰富,且均朝向第三脑室,胞体或突起与脑脊液接触(图5,14)。另一种神经元胞体呈梭形或卵圆形,多为双极神经元,胞体长轴及突起与脑室表面平行,伸展较远,与附近细胞及室管膜细胞接触(图3,15)。

各组实验结果综合如图16所示。

## 讨 论

### 一、加压素神经元在下丘脑的分布及其与垂体后叶的关系

近年来的研究认为,除了传统公认的视上核和室旁核外,还有不少核团能产生加压素<sup>[3,5,6]</sup>,本实验见到加压素神经元在下丘脑的分布是相当广泛的,它涉及到下丘脑各区域内十几个核团及不同类型的细胞。关于它们和垂体后叶关系的资料甚少。Kelly等<sup>[7]</sup>应用HRP逆行追踪法及免疫组化方法分别在两组动物(大白鼠)对垂体后叶传入纤维起源及加压素神经元在下丘脑的分布进行研究。结果两组同时出现标记的核团有:室旁核、视上核(包括视上核后部)、终纹床核、视前内、外侧区及视前室旁区、穹窿核。他认为这些核团产生加压素并投射到垂体后叶。但Kelly的研究仅有1例注射HRP在垂体后叶追踪其纤维起源,且注射范围只占垂体后叶约1/5,不能较全面反映垂体后叶传入纤维的起源。另外,HRP与免疫组化方法是分别在两组动物进行,故对下丘脑加压素神经元与垂体后叶关系的了解只能达到核团水平,本实验由于采取直视下注射HRP,使垂体后叶全部充盈,并在第一、二组分别研究的基础上,进行HRP与免疫组化双重标记。因此对垂体后叶传入纤维的起源可作较全面了解,并对下丘脑加压素神经元与垂体后叶关系的了解可达到细胞水平。我们的第一组和第二组研究结果和近年的报道基本一致<sup>[6,8,9]</sup>,结合第三组研究结果可得出如下两点补充:①从

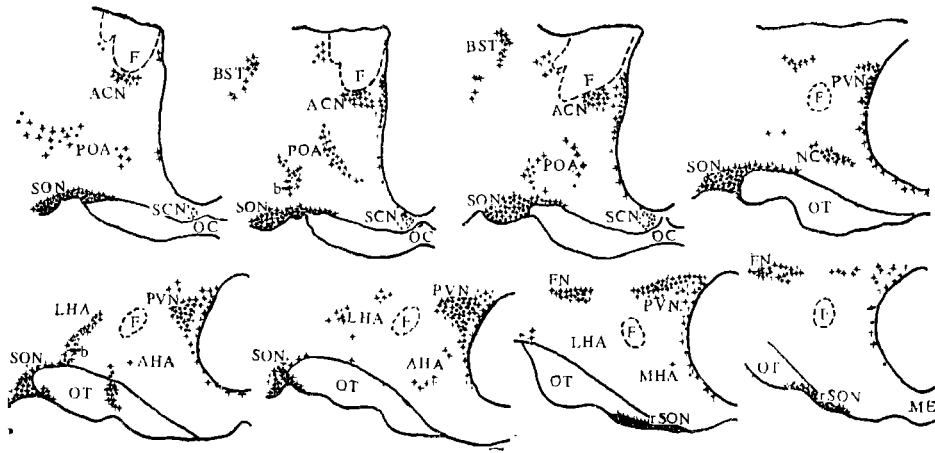


图16 HRP 标记神经元及加压素神经元在下丘脑的分布

- 表示 HRP 标记神经元
- + 表示加压素神经元
- ✦ 表示 HRP 及加压素双重标记神经元

- |            |             |             |
|------------|-------------|-------------|
| ACN: 前连合核  | LHA: 下丘脑外侧区 | POA: 视前区    |
| AHA: 下丘脑前区 | ME: 正中隆起    | PVN: 室旁核    |
| b: 血管      | MHA: 下丘脑内侧区 | SCN: 视交叉上核  |
| BST: 终纹床核  | NC: 环形核     | rSON: 视上核后部 |
| F: 穹窿      | OC: 视交叉     | SON: 视上核    |
| FN: 穹窿核    | OT: 视束      |             |

核团水平分析，视交叉上核的加压素神经元没有纤维投射到垂体后叶，此点在文献中未见报道；②从细胞水平分析，胞体较大的加压素神经元和少量胞体较小的加压素神经元发纤维投射到垂体后叶。而大多数胞体较小的加压素神经元（包括视交叉上核）不投射到垂体后叶，本文在这方面获得直接的证明。

### 二、加压素的可能分泌途径

一些学者根据脑脊液中存在有加压素，其浓度比血浆中高，并不随血浆浓度的变化而波动<sup>[9]</sup>，认为下丘脑的神经元可以将加压素直接分泌到脑脊液中。本实验和其它实验<sup>[6,7]</sup>都见到许多加压素神经元位于第三脑室室管膜和室管膜下层以及视上核处的软膜下层。这些神经元的突起甚至胞体，与脑脊液有直接接触倾向。一些离脑室较远的神经元（如前连合核和室旁核内侧部）也发出较长的树突，伸向室管膜层。另一些神经元位于血管周围，末梢游离到管腔中。我们认为，这些结果可以作为加压素直

接释放到脑脊液中和血循环中的形态学证据。

关于室管膜层和室管膜下层二种类型加压素神经元的意义，还不清楚，进一步地对它们分别进行超微结构分析很有必要。根据现有资料<sup>[6]</sup>，我们只能作如下推测：有丰富树突伸向脑室的神经元可能具有向脑脊液释放加压素的功能。而那些胞体长轴及突起均与脑室表面平行，突起的侧支与邻近的神经元及室管膜细胞接触的神经元可能对脑脊液中的激素起某种监测作用。

综上所述，作为激素的加压素可能通过三种途径释放：①释放到垂体后叶；②直接释放到脑脊液；③直接释放到下丘脑的血循环中。

（本文插图 1~15 见 82 页）

（本室袁群芳同志参与有关技术工作）

### 参 考 文 献

[1] George JM. Localization of vasopressin in discrete areas of the rat hypothalamus.

- Brain Res 1976;93:363.
- [2] Hawthorn J, et al. Localization of vasopressin in the rat brain. Brain Res 1980; 197:75.
- [3] Rhodes CH, et al. Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in the rat hypothalamus: distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin and vasopressin. J Comp Neurol 1981; 198:45.
- [4] Sternberger LA, et al. The unlabeled antibody enzyme method by immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antigen complex (horseradish peroxidase-antiperoxidase) and its use in identification of spirochetes. J Histochem Cytochem 1970; 18:315.
- [5] Ueda S, et al. Identification of serotonin- and vasopressin immunoreactivities in the suprachiasmatic nucleus of four mammalian species. Cell Tissue Res 1983; 243(2):237.
- [6] 杨明, 等. 大鼠丘脑下部室管膜上皮细胞间的加压素和催产素神经元的免疫组织化学观察. 神经解剖学杂志 1985; 1(2):93.
- [7] Kelly J, et al. Additional forebrain regions projecting to the posterior pituitary, preoptic region, bed nucleus of the stria terminalis and zona incerta. Brain Res 1980; 197:1.
- [8] 鞠躬, 等. 大白鼠丘脑下部的垂体后叶投射细胞. 解剖学通报 7 (增刊): 190
- [9] Dogterom J, et al. Vasopressin in cerebrospinal fluid and plasma of man, dog and rat. Amer J Physiol 1978; 234:E463.

## 274 例原发性肺癌外科治疗

黄直凡 周辉楠 刘广森 戎铁华 杨名添 曾灿光 吴一龙 蔡永惠

( 附属肿瘤医院胸科 )

本文对我院 1967.6~1981.12 外科治疗的 274 例原发性肺癌 ( 其中包括软组织恶性肿瘤 6 例 ) 进行临床病理分析, 着重讨论肺癌的组织学类型、病期与切除范围对预后的影响。

### 临床资料

**年龄与性别** 本组 274 例中年龄最大为 67 岁, 最小 18 岁, 其中 40~59 岁年龄组最多, 占 77.7% ( 213/274 ), 30 岁以下 7 例, 60 岁以上 28 例。男性 220 例, 女性 54 例, 男女之比为 4:1。

**肿瘤部位与临床分型** 右侧 140 例, ( 上叶 74 例, 中叶 16 例, 下叶 50 例 ); 左侧 134 例 ( 上叶 82 例, 下叶 52 例 )。中央型 58 例, 外周型 216 例。

**组织学类型** 腺癌 120 例, 占 43.8%; 次为鳞癌 88 例, 占 32.1%; 未分化小细胞癌 19 例, 占 6.9%; 大细胞癌 14 例, 占 5.1%; 其他类型 33 例 ( 包括鳞腺癌 18 例, 肺类癌 4 例, 支气管腺癌 1 例, 低度恶性间叶瘤 2 例, 恶性血管外皮瘤 1 例, 浆细胞肉瘤 1 例, 纤维肉瘤 1 例, 未能分型 5 例 ) 占 12.1%。

**手术方法** 全肺切除 37 例; 肺叶切除 167 例 ( 包括双叶切除 23 例, 单叶切除 138 例和支气管袖状或楔形加肺叶切除 6 例 ); 肺段或肺楔形切除 14 例, 总的手术切除为 218 例, 另 56 例为单纯剖胸探查, 按切除的彻底程度和术后病理结果, 在切除 218 例中, 属根治性肺切除 179 例, 姑息性肺切除 39 例 ( 表 1 )。

( 下转 10 页 )

# Distribution of Vasopressin-containing Neurons in the Hypothalamus and Their Projections to the Posterior Pituitary

## — A Study of HRP and Immunocytochemistry

### Double-labeling Method

Wu Wutian    Yao Zhibin    Chen Yici    Ye Luming

(Department of Anatomy)

### Abstract

The distribution of vasopressin-containing neurons in the hypothalamus and their projections to the posterior pituitary were studied using the HRP and immunocytochemistry double-labeling method in the rat. The possible secretory pathways of vasopressin were discussed. The results were as follows: the vasopressin-containing neurons were found in the supraoptic nucleus (SON), the retrochiasmatic SON, the paraventricular nucleus, the suprachiasmatic nucleus, the anterior commissural nucleus, the bed nucleus of the stria terminalis, the nucleus circularis, the fornical nucleus, the preoptic areas, the anterior hypothalamic area, the medial and lateral areas of hypothalamus, and the periventricular nucleus. Some were found between the ependymal cells of the third ventricle and around the venous cavity. Several dense dendritic plexuses were found very close to the CSF in the SON, the retrochiasmatic SON, the ependymal layer and subependymal layer of the third ventricle, and around the venous cavity of the hypothalamus. All of nuclei mentioned above, except the suprachiasmatic nucleus, were found projecting fibers to the posterior pituitary. The results indicate that vasopressin may be secreted to: (1) the posterior pituitary, (2) the CSF, (3) the venous cavity of the hypothalamus.

Words; Vasopressin-containing Neuron. HRP Immunocytochemistry

(上接9页)

表1 218例肺癌切除范围及性质

	全肺切除	肺叶切除	肺段或楔形切除	合计
根治性	31	143	5	179
姑息性	6	24	9	39
合计	37	167	14	218

所谓姑息性是指术中见癌瘤直接侵犯或转移至胸膜、胸壁、心包、纵隔淋巴结而无法切除干净(本组共31例)和术后病理检查支气管切端有癌细胞残存(8例)。

### 治疗结果

本组手术切除病例共217例,根治性179例,姑息性39例,手术切除率为79.6%(218/

(下转16页)

加压素神经元在下丘脑的分布及其与垂体后叶的关系 (正文见第 6 页)

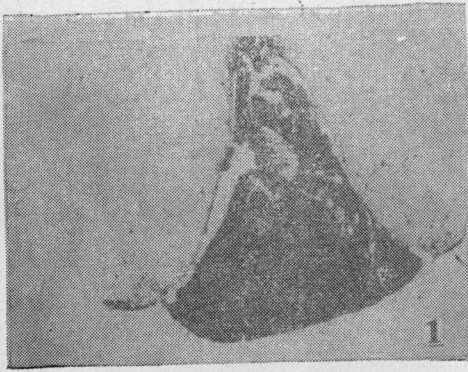


图 1 HRP注射部位 × 20

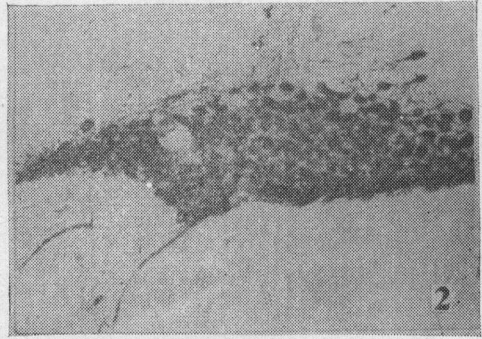


图 2 视上核 HRP 标记情况



图 3 室旁核 HRP 标记情况 × 100

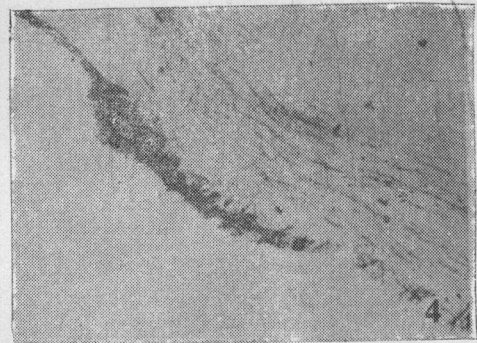


图 4 视上核后部 HRP 标记情况 × 100

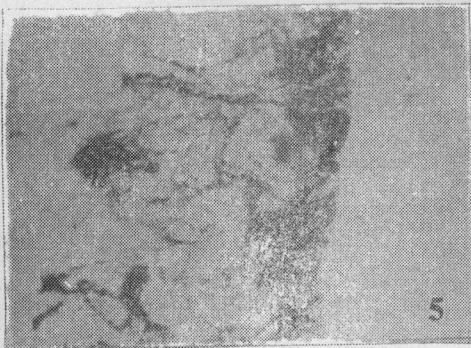


图 5 室管膜层神经元及突起 × 400

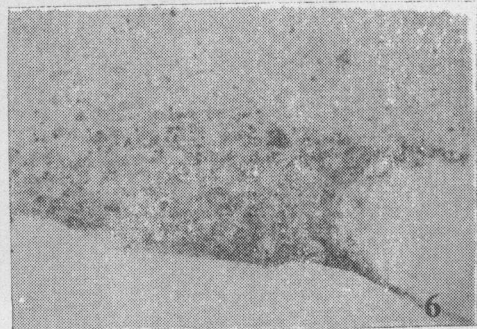


图 6 视上核加压素神经元 × 100

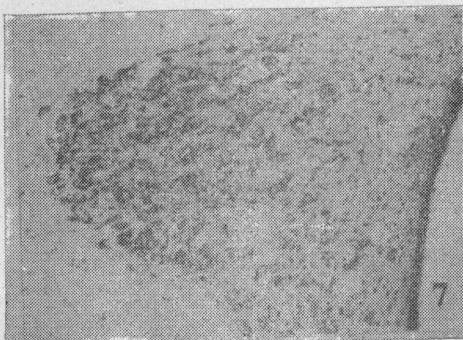


图 7 室旁核加压素神经元 × 100

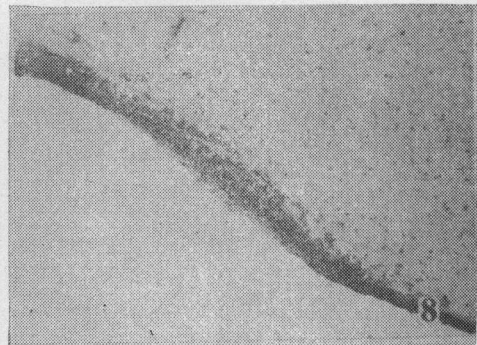


图 8 视上核后部加压素神经元 × 100

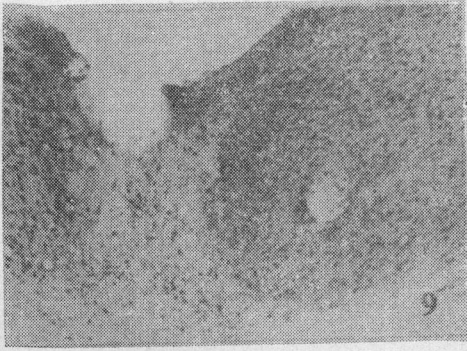


图9 视交叉上核加压素神经元 ×100

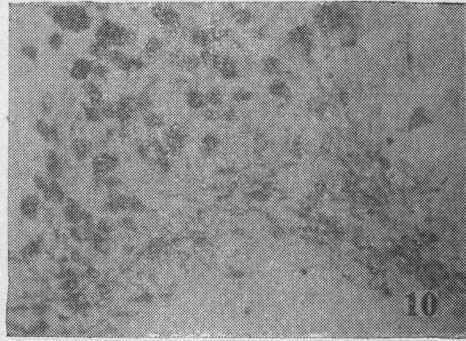


图10 视上核的双标记神经元 ×200

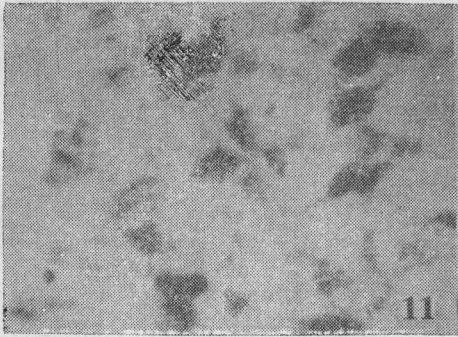


图11 室旁核的双标记神经元 ×400



图12 室管膜层的双标记神经元 ×1000



图13 血管周围的神经元及末梢 ×200



图14 室管膜层的圆形多树突神经元 ×400



图15 室管膜层的梭形双极神经元 ×400