

# 猫小脑皮质 GABA 能神经元年龄相关性变化

张正亮 张大银 申林 考传超 温波 华田苗\*

(安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000)

**摘要:** 为探讨青年猫和老年猫小脑皮质 GABA 能神经元及其表达的年龄相关性变化,利用 Nssl 染色显示小脑皮质结构及神经元,免疫组织化学 ABC 法标记 GABA 免疫阳性神经元。光镜下观察,采集图像,并利用图像分析软件对分子层、蒲肯野细胞层和颗粒层神经元及 GABA 免疫阳性神经元及其灰度值进行分析统计。结果显示,GABA 免疫阳性神经元、阳性纤维及终末在青年猫和老年猫小脑皮质各层均有分布。与青年猫相比,老年猫分子层、蒲肯野细胞层神经元和 GABA 免疫阳性神经元密度及其 GABA 免疫阳性反应强度均显著下降( $P < 0.01$ ),颗粒层神经元密度和 GABA 免疫阳性强度也显著下降( $P < 0.01$ ),但其 GABA 免疫阳性神经元密度无显著变化( $P > 0.05$ );蒲肯野细胞的胞体萎缩,阳性树突分枝减少。因此认为,衰老过程中猫小脑皮质 GABA 能神经元的丢失和 GABA 表达的下降,可能是老年个体运动协调、精确调速和运动学习等能力下降的重要原因之一。

**关键词:** GABA( $\gamma$ -氨基丁酸);小脑皮质;年龄相关性变化;猫

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)06-34-07

## Age-related Changes of GABA Immunoreactive Neurons in the Cerebellar Cortex of Cat

ZHANG Zheng-Liang ZHANG Da-Yin SHEN Lin KAO Chuan-Chao WEN Bo HUA Tian-Mao\*

(College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

**Abstract:** To investigate age-related changes of GABAergic neurons and GABA expression in the cerebellar cortex of young adult and old cats, we applied Nssl staining to show the structure and neurons in cerebellar cortex. Immunohistochemical method was used to show the GABA immunoreactive neurons. Under light microscope, the numbers of total neurons and GABAergic neurons in the molecular layer, Purkinje layer and granular layer were counted respectively, and the average gray value of GABA immunoreactive neurons was measured with Image-Pro Express Software. The GABA immunoreactive cells, the fibers and their terminals were distributed in each layer of cerebellar cortex in young adult and old cats. Compared to young cats, the number of the neurons and GABA immunoreactive neurons declined significantly in the molecular and Purkinje layers of old cats ( $P < 0.01$ ). However, no difference was observed in the number of GABA immunoreactive neurons in the granular layer of young and old cats ( $P > 0.05$ ). In addition, the intensity of GABA immunoreactivity was visibly weaker in old cats than in young adults ( $P < 0.01$ ). Purkinje cells in old cats showed much less GABA immunoreactive dendrites than in young cats. An evident loss of GABAergic neurons and decline of GABA expression during aging may result in the functional

**基金项目** 安徽省自然科学基金项目(No. 070413138),安徽省重点实验室科研基金项目,安徽师范大学青年基金项目(No. 2004xqn09),安徽师范大学博士启动基金资助课题;

\* 通讯作者, E-mail: htmia@mail.ahnu.edu.cn;

**第一作者介绍** 张正亮, 硕士;研究方向:衰老神经生物学; E-mail: zzliang666@sohu.com。

收稿日期:2007-03-16, 修回日期:2007-09-11

degeneration of motor coordination, accurate timing and motor learning in old individuals.

**Key words** :GABA( $\gamma$ -Aminobutyric acid);Cerebellar cortex;Age-related change;Cat

小脑是重要的运动调节中枢,通过其复杂的调节和反馈机制来维持身体平衡、调节肌张力及协调随意运动等,而这些功能的完成都与小脑皮质有着密切关系。衰老引起的小脑皮质形态结构、细胞构筑、纤维联系和神经递质等方面的变化已有较多报道<sup>[1]</sup>。 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)是哺乳动物中枢神经系统主要的抑制性神经递质,由谷氨酸脱羧酶(GAD)催化而成<sup>[2]</sup>。GABA及GAD在动物和人小脑皮质中的分布已有报道,但是小脑皮质中的GABA在衰老过程中的相关性变化未见报道。本实验以传统模式动物猫为研究对象,结合近年来有关小脑皮质的形态学研究,定量分析了青年猫和老年猫小脑皮质中各层GABA免疫阳性反应神经元及其表达的年龄相关性变化。以期为探讨老年个体运动协调性、身体平衡能力、精细调节和运动学习等能力下降的神经机制提供参考。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料及组织准备** 取健康的青年猫(1~3龄,体重2~2.5 kg)和老年猫(11~13龄,体重3~3.5 kg)各4只。盐酸氯胺酮(40 mg/kg 体重)深麻醉后开胸,用0.9%生理盐水经左心室灌注,开腹并观察肝至发白后,灌注含4%多聚甲醛和2.5%戊二醛的0.1 ml/L磷酸缓冲固定液(200 ml/kg 体重),接着开颅取出小脑,切取蚓部(脊髓小脑部分),将其切成1 cm×1 cm×1 cm组织块,置于2.5%戊二醛中后固定20~24 h,PBS(0.1 ml/L,pH 7.4)冲洗、脱水、透明、石蜡包埋,作6  $\mu$ m连续矢状切片,裱片于APES处理的载玻片上。隔10片取1片用于Nssl染色,相邻切片用于免疫组织化学染色及阴性对照实验。

**1.2 Nssl 染色** 石蜡切片脱蜡至水,常温下放入0.1%的焦油紫染液中30~40 min,自来水冲洗,脱水,透明,封片。

**1.3 ABC 法染色** 取2套切片分别进行anti-

GABA和阴性对照染色。石蜡切片脱蜡至水,3% $H_2O_2$ 室温孵育5 min,以消除内源性过氧化物酶活性;蒸馏水冲洗,PBS浸泡5 min;滴加正常山羊血清,室温孵育10 min,封闭非特异性反应部位;倾去血清,滴加一抗(兔抗人GABA多克隆抗体1:3 000),37℃孵育1 h;PBS冲洗5 min×3次;滴加生物素标记二抗(羊抗兔IgG抗血清),37℃孵育10 min;PBS冲洗5 min×3次;滴加辣根酶标记三抗(链酶卵白素,ABC),37℃孵育10 min,PBS冲洗5 min×3次;DAB显色,自来水冲洗,脱水,透明,封片。阴性对照实验采用正常山羊血清代替一抗,其余步骤同上。

实验所用焦油紫购自美国Sigma公司,GABA兔抗人血清及配套的免疫组织化学试剂盒及DAB购自美国Labvision公司。

**1.4 数据统计与分析** 从青年组和老年组中分别随机取20张染色后的切片在Olympus BX-51型显微镜下观察,并利用Image-Pro Express 5.1图像分析软件采集图像,定量分析相关形态学参数,包括计数细胞数目和测量蒲肯野细胞直径及其免疫阳性反应神经元的灰度值。Nssl染色切片计数神经元密度,免疫组织化学染色切片计数GABA免疫阳性神经元密度及其灰度值(均以胞体清晰计)。

Nssl染色切片和免疫组织化学染色切片在光镜下(100×),分别随机取5个区域,计数采集区域内蒲肯野层神经元和GABA免疫阳性蒲肯野细胞数目,换算成单位宽度内的细胞数量即线密度( $n/mm$ ),并测量其免疫阳性反应神经元灰度值;再置于光镜下(200×),分别随机取5个分子层区域,计数采集区域内的神经元、GABA免疫阳性神经元数目,测得区域面积,取平均值后换算成细胞密度( $n/mm^2$ ),并测量其免疫阳性反应神经元灰度值;最后于光镜下(400×),分别随机取5个分子层区域,计数采集区域内颗粒层神经元、GABA免疫阳性神经元数目,测得区域面积,取平均值后换算成细胞密度

( $n/\text{mm}^2$ ), 并测量其免疫阳性反应神经元灰度值; 同时于光镜下( $400\times$ ) 观察神经元形态结构, 并测量出蒲肯野细胞的胞体直径(以垂直于长轴计), 取平均值( $\mu\text{m}$ )。

采集的所有数据最终均以平均值 $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示, 并用 *t*-test 检验各指标的差异显著性。

## 2 结果

**2.1 Nssl 染色** 小脑皮质三层结构清晰可见, 由表及里为分子层、蒲肯野细胞层和颗粒层, 其内的神经元胞体及树突为紫色或浅蓝色, 细胞形态、大小各异。分子层有星形细胞和篮状细胞, 蒲肯野细胞层主要为形体较大的梨形蒲肯野细胞构成, 颗粒层除了含有大量小的颗粒细胞外, 还有一些散在的、形体较大的圆形高尔基细胞等(图版 I:1-2)。统计结果表明, 老年猫小脑皮质分子层神经元、颗粒层神经元和蒲肯野细胞的密度及蒲肯野细胞胞体直径较青年猫显著下降( $P < 0.01$ )。分子层神经元密度下降 21.61%, 颗粒层神经元密度下降 16.34%, 蒲肯野细胞密度下降 30.21%, 蒲肯野细胞的胞体直径下降 8.95%(表 1)。

表 1 青年猫和老年猫小脑皮质神经元形态学参数比较 (Mean  $\pm$  SD,  $n = 4$ )

Table 1 Morphological parameters of the neurons in cerebellar cortex of young and old cats

	青年猫 Young cats	老年猫 Old cats
分子层神经元密度( $n/\text{mm}^2$ ) Density of neurons in molecular layer	552.32 $\pm$ 97.03	432.96 $\pm$ 64.72 *
蒲肯野细胞线密度( $n/\text{mm}$ ) Linear density of Purkinje cells	15.56 $\pm$ 3.36	10.86 $\pm$ 2.38 *
颗粒细胞密度( $n/\text{mm}^2$ ) Density of granular cells	14 011.35 $\pm$ 1 862.32	11 722.46 $\pm$ 1 402.65 *
蒲肯野细胞直径( $\mu\text{m}$ ) Diameter of Purkinje cells	20.67 $\pm$ 1.96	18.82 $\pm$ 2.33 *

\*  $P < 0.01$

**2.2 GABA 免疫组织化学染色** 青年、老年猫小脑皮质各层中均可见 GABA 免疫阳性神经元、阳性纤维和阳性斑点, 免疫阳性反应呈棕黄色或黄褐色(图版 I:3-4)。与青年猫相比, 老

年猫小脑皮质分子层和蒲肯野层阳性反应明显减弱(图版 I:5-8)。分子层中 GABA 免疫阳性神经元胞体较小, 清晰, 数目较多, 分布于整层, 主要为星形细胞和篮状细胞; 蒲肯野细胞层主要为一层形体较大的梨形蒲肯野细胞, 其树突大多伸向分子层, 部分蒲肯野细胞胞体和突起着色明显; 颗粒层有散在的、形体较大的 GABA 免疫阳性神经元, 主要为圆形的高尔基细胞。统计结果表明, 老年猫分子层 GABA 阳性神经元密度和 GABA 阳性蒲肯野细胞密度及其胞径较青年猫显著下降( $P < 0.01$ )。分子层 GABA 免疫阳性神经元密度下降 37.66%; GABA 免疫阳性蒲肯野细胞密度下降 63.21%, 其胞体直径下降 8.63%; 老年猫颗粒层 GABA 免疫阳性细胞密度变化不显著( $P > 0.05$ )(表 2)。各层 GABA 能神经元免疫阳性反应强度均显著减弱(免疫阳性反应强度与平均灰度值成反比), 老年猫较青年猫分子层 GABA 免疫阳性神经元平均灰度值上升 25.16%, 免疫阳性蒲肯野细胞平均灰度值上升 28.79%, 颗粒层免疫阳性神经元平均灰度值上升 10.25%(表 3)。另外, 光镜下可见老年猫蒲肯野细胞阳性树突分支较青年猫也有减少现象。阴性对照组未见阳性反应。

总体上看, 老年猫小脑皮质 GABA 能神经元有丢失现象, GABA 表达下降, 分子层和蒲肯野细胞层尤为显著。

## 3 讨论

哺乳动物小脑皮质由表及里依次为分子层、蒲肯野细胞层和颗粒层。分子层主要含有星形细胞和篮状细胞两种中间神经元, 蒲肯野细胞层主要由一层形体较大的蒲肯野细胞构成, 颗粒层含有大量形体较小的颗粒细胞与甚少形体较大的高尔基细胞两种中间神经元。颗粒细胞释放兴奋性递质谷氨酸(Glu), 其余 4 种神经元释放抑制性递质 GABA。5 种神经元在小脑皮质内形成复杂的神经回路, 通过其递质行使功能。因此, 神经回路中的任何一种神经元受损或丢失, 以及神经递质表达的变化, 都将

表2 青年猫和老年猫小脑皮质 GABA 免疫阳性神经元形态学参数比较 (Mean ± SD, n = 4)

Table 2 Morphological parameters of GABA immunoreactive neurons in cerebellar cortex of young and old cats

	青年猫 Young cats	老年猫 Old cats
分子层 GABA 免疫阳性神经元密度 (n/mm <sup>2</sup> ) Density of GABA immunoreactive neurons in molecular layer	439.77 ± 56.18	274.13 ± 44.05 *
GABA 免疫阳性蒲肯野细胞线密度 (n/mm) Linear density of GABA immunoreactive Purkinje cells	7.72 ± 2.54	2.84 ± 1.80 *
颗粒层 GABA 免疫阳性神经元密度 (n/mm <sup>2</sup> ) Density of GABA immunoreactive neurons in granular layer	7.56 ± 4.852	7.24 ± 3.89 **
GABA 免疫阳性蒲肯野细胞直径 (μm) Diameter of GABA immunoreactive Purkinje cells	20.52 ± 1.08	18.75 ± 2.12 *

\* P &lt; 0.01, \*\* P &gt; 0.05

表3 青年猫和老年猫小脑皮质 GABA 免疫阳性神经元平均灰度值比较 (Mean ± SD, n = 4)

Table 3 Comparison of average gray value of GABA immunoreactive neurons in cerebellar cortex of young and old cats

	青年猫 Young cats	老年猫 Old cats
分子层 GABA 免疫阳性神经元 GABA immunoreactive neurons in molecular layer	116.52 ± 18.34	145.84 ± 21.37 *
GABA 免疫阳性蒲肯野细胞 GABA immunoreactive Purkinje cells	123.76 ± 20.15	159.38 ± 19.43 *
颗粒层 GABA 免疫阳性神经元 GABA immunoreactive neurons in granular layer	149.07 ± 23.14	164.35 ± 22.39 *

\* P &lt; 0.01

影响到小脑功能的正常完成。

**3.1 神经元的年龄相关性变化** 衰老过程中神经元的变化是脑功能降低的主要结构基础。神经元数量与信息分析和存储有关,其数量减少可导致神经系统信息传输能力下降<sup>[3]</sup>。本实验 Nssl 染色结果显示,在衰老过程中猫小脑皮质分子层神经元密度显著下降,这与在大鼠小脑皮质的观察结果一致<sup>[4]</sup>。此外,GABA 免疫组织化学染色显示,分子层 GABA 免疫阳性神经元密度也显著下降。此层神经元与蒲肯野细胞形成抑制性突触,当蒲肯野细胞接受平行纤维传来的神经冲动而兴奋时,其周围的蒲肯野细胞同时由 GABA 能中间神经元(主要为分子层星形细胞、篮状细胞)的介导而抑制,从而进行精确调节。所以,星形细胞、篮状细胞等分子层中间神经元丢失导致其周围抑制能力下

降,将会影响到小脑的精确调速等能力。老年猫蒲肯野细胞密度比青年猫显著减小,这与在其他老年动物小脑皮质中观察结果一致<sup>[4-6]</sup>。另外,在本实验中还观察到老年猫蒲肯野细胞的胞体显著萎缩,其树突分枝有丢失现象。蒲肯野细胞是小脑皮质唯一的传出神经元,它通过庞大的树突野接受分子层神经元、平行纤维等传来的信息并进行整合,传出信息投射至小脑髓质的深部核团<sup>[7]</sup>。因此,衰老过程中蒲肯野细胞丢失、胞体萎缩、阳性树突分支减少,必然会导致信息输入量的减少和抑制能力的下降,可能会导致老年个体肌张力和平衡等能力的下降。小脑与运动学习有关,其蒲肯野细胞参与形成长时程抑制(LTD),而 LTD 现象实际上是一种突触活动的可塑性变化和记忆痕迹的保存,即 LTD 可能是小脑运动学习的一种细胞生理学基础<sup>[8]</sup>,所以蒲肯野细胞的丢失及其形态结构等年龄性变化可能还会降低老年个体的运动学习能力。对于颗粒层神经元密度的年龄性变化存在不同的观点,有学者认为显著下降<sup>[9]</sup>,也有学者认为无明显变化<sup>[4]</sup>,这可能与取材有关,因为小脑各部分的功能有差异。本实验 Nssl 染色显示,老年猫颗粒层神经元密度显著下降,这与在老年人小脑中的观察一致<sup>[7]</sup>,但免疫组化染色显示,其中的 GABA 能神经元(为高尔基细胞)密度无显著变化,可能是因为衰老过程中颗粒层星形胶质细胞大量增生的结果,其起到营养保护作用<sup>[10,11]</sup>,从而延缓了衰老。颗粒细胞的轴突上行到分子层后,形成平行纤

维,与蒲肯野细胞树突远端的末梢分枝形成兴奋性突触。因此,颗粒细胞的丢失将会减弱对蒲肯野细胞的兴奋性作用,小脑的信息输入可能会发生丢失。

**3.2 GABA 表达的年龄相关性变化** GABA 作为小脑皮质最重要的抑制性神经递质,通过与突触后膜上的 GABA 受体结合,引起突触后膜超极化而发生抑制作用。GABA 由  $\text{Gu}$  (谷氨酸) 经 GAD 催化合成,在神经元胞体(由 GAD67 催化)和轴突终末(由 GAD65 催化)都有合成<sup>[12]</sup>。因此,GAD 在一定程度上反映了 GABA 的存在与分布。本实验的 GABA 免疫组织化学染色结果显示,老年猫小脑皮质 GABA 表达显著下降,这与老年鼠小脑皮质中的 GAD 变化一致<sup>[13]</sup>。另据报道,在衰老过程中 GABA 受体表达下降<sup>[14,15]</sup>,GABA 转氨酶(GABA-T)活性也降低<sup>[16]</sup>,这可能与 GABA 的表达下降相适应。与青年猫相比,老年猫分子层和蒲肯野细胞层不但 GABA 能神经元密度均下降,而且免疫阳性反应强度也显著减弱,这将进一步降低分子层神经元对蒲肯野细胞以及蒲肯野细胞对小脑中央核神经元的抑制作用,可能会导致小脑的信息输出减少。颗粒层 GABA 能神经元密度虽无显著变化,但其免疫阳性反应强度也显著减弱。高尔基细胞接受到平行纤维、爬行纤维和苔藓纤维的兴奋性传入时,随即反馈抑制周围颗粒细胞的活动,造成颗粒细胞的兴奋性反应在空间上局限起来。即由苔藓纤维直接兴奋的颗粒细胞处在兴奋状态,而其外围的颗粒细胞则处在抑制状态。因此,高尔基细胞的 GABA 表达下降,调控能力减弱,可能对小脑的精确调控产生影响。

GABA 除了作为小脑内神经元环路的抑制性神经递质外,还具有神经保护等作用,能抑制 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体偶联的离子通道和电压依赖的  $\text{Ca}^{2+}$  通道的开放,最终使神经元处于“稳态”,平衡神经元的兴奋性异常<sup>[17]</sup>。有研究发现衰老神经元内 NMDA 含量过高,对其受体会产生过度刺激,使  $\text{Ca}^{2+}$  通道持续开放,从而导致神经元内钙稳态失调或钙超

载<sup>[18]</sup>。因此,衰老过程中 GABA 表达的下降可能是神经元钙稳态失调或超载的重要原因之一。Benagiano 等<sup>[19,20]</sup>的研究发现,GABA 和 GAD 也分布于小脑微血管的周围,可能调节小脑皮层的微血管系统。另外有研究表明,注射 GABA 或 GABA 受体激动剂能提高脑的血流量<sup>[21]</sup>。因此,衰老过程中小脑 GABA 表达下降时,小脑的血流量减少,将会导致物质供给能力下降和代谢废物不能及时运走,这可能会进一步促进小脑的衰老。

综上所述,小脑皮质 GABA 能神经元的丢失和 GABA 表达的下降,导致小脑皮质神经元总体抑制能力的下降,兴奋性调节与抑制性调节之间的平衡将被打破,并可能会对其生理作用有重要影响。当然,GABA 能神经元的丢失和 GABA 含量的降低可能只是老年性小脑功能衰退的部分原因,其他因素如 GABA 受体、 $\text{Gu}$  递质和神经生长因子等的作用亦不能排除,这些都有待进一步研究。

**致谢** 中国科学技术大学视觉研究实验室为本研究提供珍贵的老年猫材料,谨致谢忱!

## 参 考 文 献

- [1] Jernigan T L, Archibald S L, Fennema N C, *et al*. Effects of age on tissues and regions of the cerebrum and cerebellum. *Neurobiol Aging* 2001 **22**(4) 581 ~ 594.
- [2] Watanabe M, Meamura K, Kanbara K, *et al*. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *Int Rev Cytol* 2002 **213**: 1 ~ 47.
- [3] 张兵,侯家骥. 大鼠海马 CA1 区神经元在衰老过程中的形态学变化. *动物学报*, 1994 **40**(4) 412 ~ 418.
- [4] Sturrock R R. Changes in neuron number in the cerebellar cortex of the ageing mouse. *J Hirnforsch*, 1989 **30**(4) 499 ~ 503.
- [5] Hara H, Onodera H, Kato H, *et al*. Effects of aging on signal transmission and transduction systems in the gerbil brain: morphological and autoradiographic study. *Neuroscience*, 1992, **46**(2) 475 ~ 488.
- [6] Hadj-Sahraoui N, Frederic F, Zanjani H, *et al*. Progressive atrophy of cerebellar Purkinje cell dendrites during aging of the heterozygous staggerer mouse (Rora (+/sg)). *Developmental Brain Res* 2001 **126**(2) 201 ~ 209.

- [ 7 ] Renovell A ,Gner J ,Portoles M.Loss of granule neurons in the ageing human cerebellar cortex .*Int J Dev Biol* ,1996 ,**40**(suppl 1) :193 ~ 194.
- [ 8 ] Kandel E R ,Schwartz J H ,Jessell T M.Essentials of neural science and behavior .*Surgical Neurology* ,1996 ,**45**(2) :206.
- [ 9 ] 惠玲,侯家骥,张让.大鼠小脑皮质厚度及神经元数量的年龄性变化.解放军医学高等专科学校学报,1999 ,**27**(1) :5 ~ 8.
- [ 10 ] Sabbatini M ,Barili P ,Bronzetti E ,*et al* .Age-related changes of glial fibrillary acidic protein immunoreactive astrocytes in the rat cerebellar cortex .*Mech Ageing Dev* ,1999 ,**108**(2) :165 ~ 172.
- [ 11 ] Kirchhoff F ,Dtingen R ,Gaume C .Pathways of neuron-astrocyte interactions and their possible role in neuroprotection .*Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* ,2001 ,**251**(4) :159 ~ 169.
- [ 12 ] Benagiano V ,Lorusso L ,Coluccia A ,*et al* .Glutamic acid decarboxylase and GABA immunoreactivities in the cerebellar cortex of adult rat after prenatal exposure to a low concentration of carbon monoxide .*Neuroscience* ,2005 ,**135**(3) :897 ~ 905.
- [ 13 ] Laura F ,Elena B ,Francesco A .Enzyme histochemistry of glutamate dehydrogenase in ageing rat cerebellar cortex .*Mechanisms of Ageing and Development* ,1989 ,**47**(3) :199 ~ 205.
- [ 14 ] Ishige K .Age-related changes in [<sup>3</sup>H] baclofen binding in mouse cerebellum .*General Pharmacology* ,1995 ,**26**(6) :1 229 ~ 1 235.
- [ 15 ] Gutierrez A ,Khan Z U ,Mralles C P ,*et al* .GABA<sub>A</sub> receptor subunit expression changes in the rat cerebellum and cerebral cortex during aging .*Molecular Brain Res* ,1997 ,**45** :59 ~ 70.
- [ 16 ] Sherif F ,Eriksson L ,Oreland L .GABA-transaminase activity in rat and human brain :regional ,age and sex-related differences .*J Neural Transm Gen Sect* ,1991 ,**84**(1 - 2) :95 ~ 102.
- [ 17 ] 要航,万勤,黄燕华等.γ-氨基丁酸抑制缺氧所致神经元钙超载.中国应用生理学杂志,1998 ,**14**(1) :5 ~ 9.
- [ 18 ] Sorimachi M ,Nishimura S ,Morita Y .N-methyl-D-aspartate and aspartate raise the cytosolic free calcium concentration by acting upon receptors transiently expressed on immature cerebellar Purkinje cells .*Neurosci Lett* ,1991 ,**132**(1) :89 ~ 92.
- [ 19 ] Benagiano V ,Roncali L ,Virgintino D ,*et al* .GABA immunoreactivity in the human cerebellar cortex :a light and electron microscopical study .*Histochem J* ,2001 ,**33**(9 - 10) :537 ~ 543.
- [ 20 ] Vincenzo B ,Virgintino D ,Rizzi A ,*et al* .Glutamic acid decarboxylase-positive neuronal cell bodies and terminals in the human cerebellar cortex .*Histochem J* ,2000 ,**32**(9) :557 ~ 564.
- [ 21 ] Fergus A ,Lee K S .GABAergic regulation of cerebral microvascular tone in the rat .*J Cereb Blood Flow Metab* ,1997 ,**17**(9) :992 ~ 1 003.

## 图 版 说 明

1 2. Nissl 染色,示青年猫和老年猫小脑皮质结构,蒲肯野细胞(→),高尔基细胞(→),×200(标尺=50 μm); 3 4. GABA 免疫染色,示青年猫和老年猫小脑皮质免疫阳性结构的分布,蒲肯野细胞(→),×200(标尺=50 μm); 5 6. 示青年猫和老年猫小脑皮质分子层 GABA 免疫阳性神经元(→),×400(标尺=25 μm); 7 8. 示青年猫和老年猫小脑皮质蒲肯野细胞层和颗粒层 GABA 免疫阳性神经元,蒲肯野细胞(→),高尔基细胞(→),×200(标尺=50 μm)。  
ml. 分子层; pc. 薄肯野细胞层; gl. 颗粒层。

## Explanation of Plate

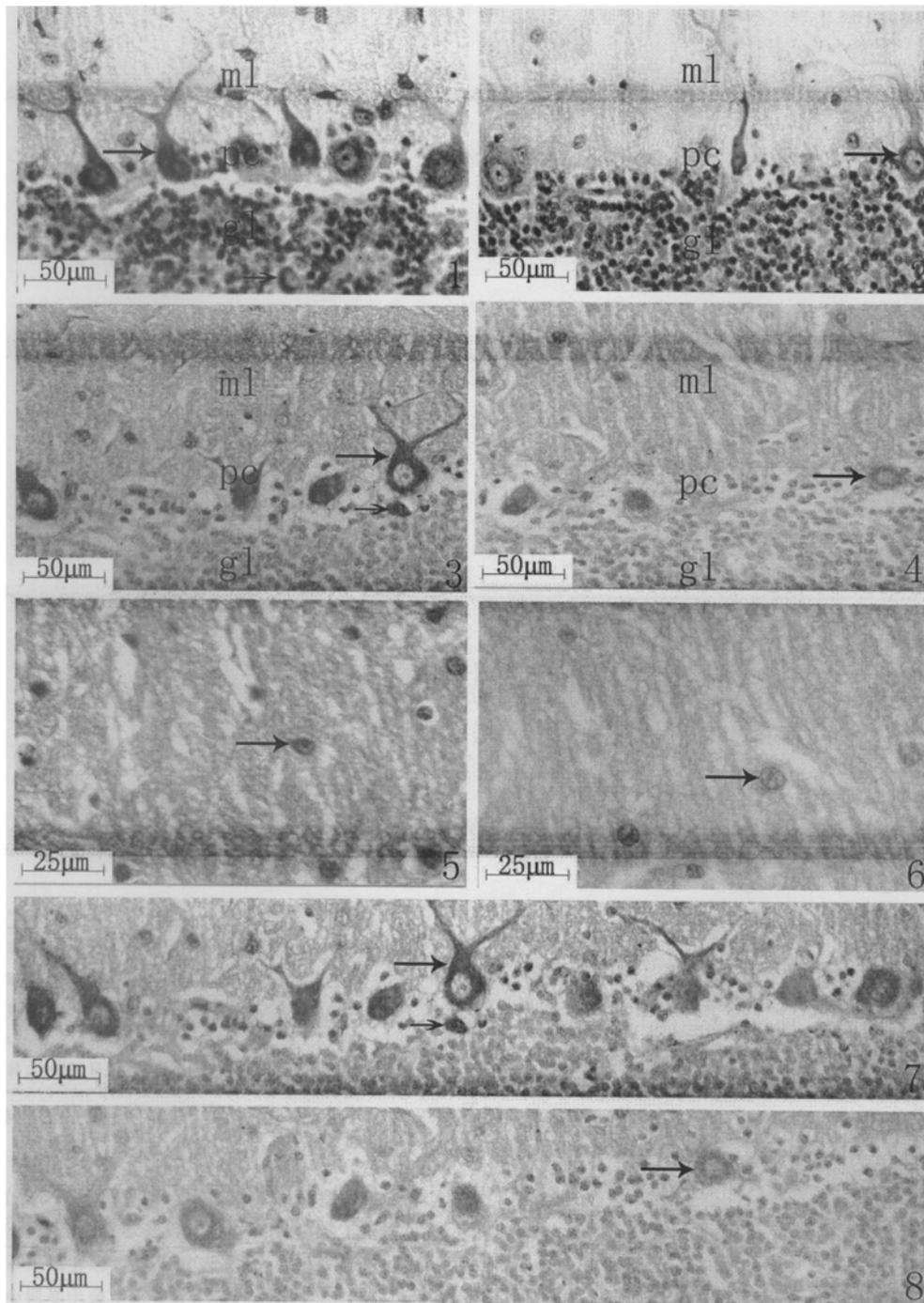
1 and 2. Structure of cerebellar cortex stained by Nissl's method in young cat and old cats :Purkinje cell (→) ,Golgi cell (→) ,×200(Bar = 50 μm) ; 3 and 4. GABA immunoreactive structure in cerebellar cortex of young and old cats as revealed by immunohistochemical method :Purkinje cell (→) ,×200(Bar = 50 μm) ; 5 and 6. GABA immunoreactive neurons (→) in molecular layer of young cat and old cat ,×400(Bar = 25 μm) ; 7 and 8. GABA immunoreactive neurons in Purkinje cell and granular layer of young and old cats .Purkinje cell (→) ,Golgi cell (→) ,×200(Bar = 50 μm) .  
ml .molecular layer ; pc .Purkinje cell layer ; gl .granular layer .

张正亮等:猫小脑皮质 GABA 能神经元年龄相关性变化

图版 I

ZHANG Zheng-Liang *et al.*: Age-related Changes of GABA Immunoreactive Neurons  
in the Cerebellar Cortex of Cat

Plate I



图版说明见文后