

养液中未添加血清和胚胎抽提液的条件下,培养鹌鹑胚胎骨骼肌细胞,通过活体观察, H. E. 染色光镜照相和电镜观察,从形态上证明在本试验条件下,骨骼肌细胞能正常生长和发育,形成肌细胞特有的横纹结构和肌丝结构。

血清中的成分复杂,有蛋白质(清蛋白、球蛋白、转铁蛋白等)、多肽生长因子(如血小板生长因子、成纤维细胞生长因子、上皮细胞生长因子、胰岛素样生长因子等)、激素(胰岛素、生长激素、氢化可的松等)及其他营养物、矿物质、代谢物和抑制物。某一类型的细胞培养是否需要添加血清,添加多少血清,与其在体内生活的内环境有关,绝大多数细胞在体内不和血清中的一些成分直接接触^[3]。1971年 Yaffe D.^[4]就发现血清浓度太高对肌细胞生长不利,抑制肌细胞融合,血清中的血小板生长因子能促进成纤维细胞的过度生长。

国外关于肌细胞的无血清培养的报道,均在化学培养液中添加血清中含有的胰岛素、氢化可的松、转铁蛋白、成纤维细胞生长因子等。本实验在培养液中未添加血清,激素或生长因子,但肌细胞却能正常生长和发育,其可能的原

因是:(1)机械性破碎和吸管吸打制成的细胞悬液,未经酶处理和离心分离,保留了肌细胞在体内生活的内环境中存在的少量活性成分和营养物质,在第一次更换培养液之前发挥促肌生长作用。(2)实验中未将肌细胞和成纤维细胞进行分离,成纤维细胞的存在对肌细胞贴壁、生长起着支持、保护和滋养等作用,而且成纤维细胞条件培养液对肌细胞生长有明显促进作用^[2]。

致谢 徐福南教授在电镜工作中给予指导和帮助,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Puri E. C. and D. C. Tumer. Serum-free medium allows chicken myogenic cells to be cultivated in suspension and separated from attached fibroblasts. *Exp. Cell Res.*, 1978, **115**: 159—173.
- 2 周振华. 成纤维细胞对体外培养的骨骼肌细胞早期发育的影响. *生理学报*, 1987, **39**(2): 190—196.
- 3 Barnes D. and G. Sato. Serum-free cell culture: a unifying approach. *Cell*, 1980, **22**: 649—655.
- 4 Yaffe D., Developmental changes proceeding cell fusion during muscle differentiation in vitro. *Exp. Cell Res.*, 1971, **66**: 33—48.

猫丘脑腹后外侧核的超微结构

贺家全 孙文琢

(大连大学医学院 组胚教研室 大连 116622)

张孟良 隋鸿锦 张书琴 官瑾 马晓凯 王荣新

(大连医科大学解剖学教研室)

摘要 采用电镜技术观察了猫丘脑腹后外侧核的超微结构。该核内的神经元可分为大小两种类型,大型直径在15—40 μm ,小型小于15 μm ,其胞质内容无明显差别。树突较多见,直径从1—10 μm 不等。轴突可分为三种类型:含圆形小泡的小终末、终末及扁平小泡的终末。突触类型主要为轴树突突触,此外还可见到轴体、轴轴、轴轴树、树树突突触以及以树突为中心的突触复合体。在树突之间、树突与胞体之间还存在有非突触的丝状连接。

关键词 腹后外侧核 超微结构 猫

丘脑腹后外侧核是重要的躯体感觉中继站。它主要接受内侧丘系、脊丘系的纤维,在一些动物还接受颈丘系的纤维,同时发出纤维投

射到大脑皮质颈、躯干和四肢代表区。60年代后,Boivie等学者^[1-3]在电镜水平研究了猫及

收稿日期:1994-04-26,修回日期:1994-07-04

大鼠丘脑腹后外侧核内内侧丘系及脊丘系传入纤维终末的超微结构, Jones^[4]研究了猫丘脑腹后核内皮质丘脑投射神经元纤维终末的超微结构, Ralston 等^[5-6]研究了猫丘脑腹后外侧核内神经元的超微结构及其突触联系。纵观以往的研究, 结果各有侧重, 对丘脑腹后外侧核的超微结构还缺乏完整的资料, 因此我们对正常猫丘脑腹后外侧核的超微结构进行了研究, 以进一步填补这方面的形态学资料。

1 材料与方法

健康猫 14 只, 体重 1.5—4.0kg, 雌雄不拘。1%戊巴比妥钠(40mg/kg 体重)腹腔内注射麻醉, 经颈总动脉以生理盐水 200ml 冲洗后, 用含 4%多聚甲醛及 1.25%戊二醛的 0.1mol/L 的磷酸缓冲液(pH7.4) 500ml 灌流固定, 立即取脑, 切取含丘脑腹后外侧核小块组织入 1%锇酸后固定 2h, 50%—100%梯度酒精脱水, Epon 812 包埋, LKB 超薄切片机切片, 片厚 50nm, 经醋酸铀、枸橼酸铅双重染色, JEM-2000EX 透射电镜观察与摄片。

2 结果

2.1 神经元胞体和树突 丘脑腹后外侧核内的神经元可见到两种类型: 一种胞体较大, 多为椭圆及圆形, 直径从 15—40 μ m 不等。胞浆丰富, 含有大量的游离核糖体、粗面内质网及线粒体, 较多的 Golgi 氏器、滑面内质网。细胞核较大, 圆形或椭圆形, 核仁清晰, 多为一个, 常为偏位, 核膜常有凹陷, 核内常染色质较多, 异染色质较少。胞体与胞核的直径比大约为 2:1。此种细胞较多见。另一种胞体较小, 直径一般小于 15 μ m; 胞浆欠丰富, 线粒体也较多, 但游离核糖体、粗面内质网及 Golgi 氏器不如前一种丰富。胞核内结构与前一种相似, 但较大, 胞体与胞核比大约为 1.2:1。神经元胞体形成的突触较少。

神经毡内可见大量各种大小的树突, 直径从 1—10 μ m 不等, 近端树突的胞质与胞体的无大区别。所有树突都含有糖原颗粒、微管和线

粒体, 偶见微丝。树突附器(棘)较少见。各种大小的树突都可与轴突形成突触。近端树突形成的突触较少, 中等大小(4—6 μ m)的树突形成的突触较多(图 1, 见封 3, 下同)。

2.2 轴突及其终末 神经毡内可见较多的轴突, 有髓与无髓者都可见。轴突横切面直径在 0.5—2.0 μ m 之间, 其内可见线粒体及微丝。轴突终末很多见, 根据大小和所含突触小泡的形态可大致分为三类: (1)含圆形小泡的小型终末, 最为多见, 直径 1—2 μ m, 一般不含线粒体, 偶可见含 1—2 个者。含有密集的圆形小泡, 多为无颗粒型, 直径 40—50nm, 少数也可含有少量的大颗粒小泡, 直径 80—100nm。此型终末主要做为突触前成分与树突及含扁平小泡的轴突形成非对称型突触(见图 2、3); (2)含圆形小泡的大型轴突终末, 也较为多见, 直径 3—5 μ m, 含有疏松的圆形无颗粒小泡, 直径 40—50nm, 线粒体较多, 可在 3—5 个或更多。此型终末亦做为突触前成分与树突或胞体形成非对称型突触(见图 4); (3)含扁平小泡的轴突终末, 多较大, 直径 2—5 μ m, 含有松散的扁平小泡, 小泡直径 20—50nm, 其内可混有少量的圆形小泡, 线粒体 1—5 个。此型终末多与树突形成对称型突触(见图 5)。

2.3 突触类型 该核内可见到下列突触联系: (1)轴树突触, 最为多见。根据轴突大小及含小泡的不同又可分为三型: ①含圆形小泡的小型轴突终末与树突形成的突触, 多为非对称型, 突触点只有一个, 与其形成突触的树突为各种大小(见图 2); ②含圆形小泡的大型轴突终末与树突形成的突触, 多为非对称型, 突触点可为一个, 亦可有多个, 与其相突触的树突多为中等以上(见图 4); ③含扁平小泡的轴突终末与树突形成的突触, 多为对称型, 突触点可为一个或多个(见图 5)。(2)轴体突触, 很少见。与其形成突触的轴突多为含圆形小泡的小型轴突终末及含扁平小泡的轴突终末, 可为对称型亦可为非对称型(见图 6)。(3)轴轴突触。突触前成分多为含圆形小泡的小型轴突终末, 突触后成分多为含扁平小泡的轴突终末, 多为非对称型(见图

3)。(4)轴轴树系列突触:即含圆形小泡的小型轴突终末与含扁平小泡的轴突终末形成非对称型轴轴突触,后者又继之与树突形成对称型轴树突触(见图7)。(5)树树突触,很少见,多为对称型,突触前树突内含有少量圆型及扁平突触小泡,多聚集于突触前膜处(见图8)。(6)突触复合体,多为以树突为中心的汇聚型突触复合体。中央树突多为中等大小的树突,周围的突触前成分可分为含圆形小泡的大轴突终末,含扁平小泡的小轴突终末,有时也可见含圆形小泡的小轴突终末(见图1)。以轴突为中心的放射型突触复合体很少见。

2.4 非突触接触 在神经毡内树突之间、树突与胞体之间还常见到非突触的丝状连接(见图9、10)。丝状连接两相对膜下可见有致密的丝状物质,连接区可长可短,多为对称型,少数为非对称型,两膜之间有的无中间丝(图9),有的有中间丝(见图10)。最主要特点为接触区周围无突触小泡。

2.5 其它成分 除上述结构外,神经毡内还存在神经胶质细胞和毛细血管。神经胶质细胞可见星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞。胶质细胞及毛细血管的结构与其它中枢神经组织内的相同。

3 讨论

3.1 猫丘脑腹后外侧核内的神经元 本文研究发现丘脑腹后外侧核内的神经元有两种,一种较大而胞浆丰富,一种较小而胞浆欠丰富。作者已完成的工作发现将HRP注射于皮质体感I区大而胞浆丰富的神经元被标记,证实为丘脑皮质投射神经元,而小而胞浆少的神经元则不被标记,可能为中间神经元^[7]Anderson^[8]用电生理方法研究表明,猫丘脑腹基底核内按功能性质确实存在两种神经元,一种为丘脑皮质投射神经,一种为中间神经元。本文则进一步从形态学上提供了证据。至于这两种神经元胞质内的细胞器无区别而核质比不同的原因很难定论,我们认为可能是由于其合成蛋白质的速率不同。

3.2 猫丘脑腹后外侧核内的突触联系 本文

发现在丘脑腹后外侧核内主要的突触类型为轴树突触,少量为轴体、树树、轴轴及轴轴树系列突触。构成突触的轴突包括三种类型,即含圆形小泡的小终末、含圆形小泡的大终末及含扁平小泡的终末。有资料表明丘脑腹后核内含圆形小泡的小终末来源于犬脑皮质^[4,9],含圆形小泡的大终末来源于内侧丘系、脊丘系及颈丘脑束^[2,3,10,11],而含扁平小泡的终末则来自于丘脑网状核或中间神经元^[10,12]。本研究还发现这些轴突终末可以同时与中央树突以突触复合体的形式构成突触联系,这表明丘脑腹后外侧核内的神经元可以接受多种传入来源的信息。在轴轴突触中含圆形小泡的小终末总是作为突触前成分,而含扁平小泡的终末常作为突触后成分,而后者有时又继之与树突构成轴树突触,这表明中间神经元或其它传入终末在将信息传入到丘脑内的神经元之前可能接受大脑皮质反馈信息的调控。关于丘脑腹后核树树突触的突触前树突 Ralston^[13]证明主要来源于中间神经元,Spreatico认为丘脑腹后核内的中间神经元是GABA能的,属抑制性神经元。树树突触的存在说明猫丘脑腹后外侧核内存在神经元间的微回路,这种微回路的作用可能是核内中间神经元对信息的整合进行反馈抑制。该核内轴体突触明显少于轴树突触说明神经元接受的信息主要是通过树突获得的。

3.3 猫丘脑腹后外侧核内的非突触接触 Ralston^[5]在丘脑腹后核内只发现了树突之间的非突触接触,并且在接触的两膜间未见到中间丝,他将其称为桥粒样连接。我们不但在树突之间,在树突与胞体之间也发现了同样的连接,并且两接触膜间有的无中间丝,有的有中间丝。这种接触方式是纯机械性的连接还是一种特殊的突触方式目前尚不能定论。我们趋向Jones^[14]的观点,即这种接触是不同于突触的一种特殊的接触方式,具有不同于突触的一些其它功能。因为从结构上看,相互接触的两相对膜下呈斑点状致密物质附着,且致密物质比突触下致密物厚得多,尽管有些接触相对膜间有中间丝,像似突触,但由于两膜下都无突触小泡,也不能认为是

突触。吕国蔚^[15]认为非突触接触的相互作用可以破坏邻近神经细胞的绝缘传导,这也许会为脑内神经元的信息传递提供一种新的途径,以某种更为精细的方式影响邻近神经元的活动。但其确切的功能意义尚需进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 Boivie J. and J. Westman. Electron microscopy of medial lemniscal terminal degeneration in the ventral posterolateral thalamic neurons of the cat. *Experientia* 1968, **24**: 159—160.
- 2 Ma W., M. Peschanski and H. J. Ralston III. The differential synaptic organization of the spinal and lemniscal projections to the ventrobasal complex of the rat thalamus. Evidence for convergence of the two system upon single neurons. *Neuroscience* 1987, **22**(3): 925—934.
- 3 Ralston H. J. III. The synaptic organization of lemniscal projections to the ventrobasal thalamus of the cat. *Brain Res* 1969, **14**(1): 99—115.
- 4 Jones E. G. and T. P. S. Powell. An electron microscopic study of the mode of termination of cortical-thalamic fibers within the sensory relay nuclei of the thalamus. *Proc Roy Soc B* 1969, **172**: 173—185.
- 5 Ralston H. J. III. and M. M. Herman. The fine structure of neurons and synapses in the ventrobasal thalamus of the cat. *Brain Res* 1969, **14**(1): 77—97.
- 6 Spreafico R., D. E. Schmechel, L. L. Ellis Jr et al. Cortical relay neurons and interneurons in the N. ventralis posterolateralis of cats: a horseradish peroxidase, electron microscopic, Golgi and immunocytochemical study. *Neuroscience* 1983, **9**(3): 491—509.
- 7 张孟良,张书琴.猫丘脑腹后外侧核内皮质投射神经元超微结构及其突触联系. *神经解剖学杂志* 1993, **9**(2): 237—240.
- 8 Andersen P., J. C. Eccles and T. A. Sears. The ventrobasal complex of the thalamus: types of cells, their responses and their function organization, *J Physiol* 1964, **174**: 370—399.
- 9 Peschanski M., C. L. Lee and H. J. Ralston III. The structural organization of the ventrobasal complex of the rat as revealed by the analysis of physiologically characterized neurons injected intracellularly with horseradish peroxidase. *Brain Res* 1984, **297**(1): 63—74.
- 10 Flink R. and J. Westman. Convergence on the same neurons in the feline ventrobasal thalamus of terminals from the dorsal column and the lateral cervical nuclei: an ultrastructural study combining orthograde degeneration and anterograde axonal transport of lectin conjugated HRP. *Neurosci Lett* 1985, **61**(1): 243—248.
- 11 Ralston H. J. III., M. Peschanski and D. D. Ralston. Fine structure of spinothalamic tract axons and terminals in the rat, cat and monkey demonstrated by the orthograde transport of lectin conjugated to HRP. *Pain* 1984, **2**(Suppl): 282.
- 12 Peschanski M., H. J. Ralston III. and F. Roudier. Reticularis thalamic afferents to the ventrobasal complex of the rat thalamus: an electron microscope study. *Brain Res* 1983, **270**(2): 325—329.
- 13 Ralston H. J. III. Evidence for presynaptic dendrites and a proposal for their mechanism of action. *Nature* 1971, **230**(30): 585—587.
- 14 Jones E. G. and T. P. S. Powell. Electron microscopy of synaptic glomeruli in the thalamic relay nuclei of the cat. *Proc Roy Soc B* 1969, **172**: 153—171.
- 15 吕国蔚.中枢神经元间非突触接触的相互作用.首都医学院学报 1990, **11**(1): 63—64.

ULTRASTRUCTURE OF THE VENTROPOSTEROLATERAL THALAMIC NUCLEUS IN CAT

HE Jiaquan SUN Wenzhou

(Department of Histology & Embryology Medical College Dalian Medical University Dalian 116622)

ZHANG Mengliang SUI Hongjin ZHANG Shuqin GONG Jin MA Xiaokai WANG Rongxin

(Department of Anatomy Dalian Medical University)

ABSTRACT Ultrastructure of the neurons and synapse in the ventroposterolateral thalamic nucleus of the cat were investigated with the electron microscope.

I The neurons in this nucleus were of large and small types. The diameter of the large neurons were