

雏鸡投射向外侧膝状体腹侧核的视顶盖细胞形态研究

胡 满¹, 陈耀星², 王子旭², 郑世学¹, 崔亚利¹

(1. 河北农业大学动物科技学院, 保定 071001; 2. 中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

摘 要: 鸟类的一些视觉信息经由视顶盖层细胞(I细胞)传递到外侧膝状体腹侧核(nucleus geniculatus lateralis ventralis, GLv), 用于色觉、瞳孔反射和视觉运动。使用羧花青荧光染料 DiI 逆向神经标记技术研究了这些投射向 GLv 核的视顶盖 I 细胞的形态特征。根据标记细胞的胞体和树突野大小及树突分枝特点, 雏鸡投射到 GLv 核的视顶盖 I 细胞可分为“矛状树突 I 细胞”和“叉状树突 I 细胞”, 前者具有小型纺锤状的细胞体和垂直伸延的 1 支尖端树突, 后者具有较大三角形或多角形的细胞体和多支上行性树突。多数标记树突的末端部水平分布于视顶盖 F 层, 和终止于此层的视神经终末部的形态相一致。

关键词: 雏鸡; 视顶盖; 外侧膝状体腹侧核; 视觉

中图分类号: S852.16

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2005)12-1313-05

鸟类的视觉系统非常发达, 是研究动物视觉系统结构和功能的理想材料。鸟类的中脑视顶盖(tectum opticum, TO)接受 90% 对侧视神经的投射, 为非常重要的视觉中枢^[1]。视顶盖的视觉性传出神经主要从中央灰质层(stratum griseum centrale, SGC)投射到同侧和对侧丘脑的圆核(nucleus rotundus, Rt)^[2-4], 一些视觉信息也传递到丘脑的外侧膝状体腹侧核(nucleus geniculatus lateralis ventralis, GLv)^[5-7]用于色觉^[8]、瞳孔反射^[9]和视觉运动^[10, 11]。作者^[7]用 WGA-HRP 逆向追踪法将鸡的这些传出性神经元的胞体定位于表面灰质纤维层(superficial griseous and fibrous stratum, SGFS)的 I 层。然而, 目前未见有关这些神经细胞形态特征报道。本研究使用灌流固定后羧花青荧光染料 DiI (1, 1'-dioctadecyl-3, 3, 3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate) 逆向神经标记技术成功标记出了 I 细胞的胞体和完整树突, 对雏鸡投射向 GLv 核的视顶盖 I 细胞的形态进行了研究。

1 材料与方法

1.1 动物

1~2 日龄白来航鸡 19 羽。

1.2 材料

羧花青荧光染料 DiI 由美国 Molecular Probes 公司提供, 使用前配成 0.5% DiI 悬浮液: 称取 0.8 mg DiI 溶于 8 μ L 二甲基亚砷(dimethyl sulphoxide)后, 悬浮在含有 0.1% Triton X-100 的 150 μ L 生理盐水中制成。

1.3 主要仪器

SR-60 型脑立体定位仪, 日本 Narishige 公司产品。Vibratome 1500 型振动切片机, 美国 Technical International 公司产品。BX51 型荧光显微镜和 DP50-CU 型数码显微摄影装置, 均为日本 Olympus 公司产品。

1.4 DiI 标记

鸡只经戊巴比妥钠腹腔注射(0.06~0.12 mL, 32 mg/kg)深度麻醉后, 用 1% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲固定液(pH 7.4, 4 $^{\circ}$ C)灌流固定, 其中 11 羽固定于脑立体定位仪, 参照 Kuenzel 和 Masson^[12]的鸡脑立体定位图谱, 用连于微量注射驱动装置的 1 μ L 注射器向 GLv 核内缓慢(0.06 μ L/min)注入 0.8 μ L 0.5% DiI 悬浮液, 留针 10 min 后退出针头并切下头部。另 8 羽雏鸡经 1% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲固定液(pH 7.4, 4 $^{\circ}$ C)灌流固定后, 将头部以 45 $^{\circ}$ 角固定于脑立体定位仪, 手术暴露脑背侧面, 在丘脑 GLv 核处将脑横断, 解剖镜下在后部脑断面的 GLv 核植入 DiI 晶粒 2~3 颗。将已注入或植入 DiI 的材料放入密闭避光的容器中, 在容器底部垫上多层纱布, 并用 1% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲固定液浸润, 以刚好浸没组织为度, 放置在 37 $^{\circ}$ C 培养箱内孵育 9 周。

收稿日期: 2005-02-21

基金项目: 河北农业大学校长基金; 北京市自然科学基金(6032014); 教育部博士点基金(20040019002)

作者简介: 胡 满(1962), 男, 河北保定市人, 博士, 教授, 主要从事动物神经生物学研究。Tel: 0312-7528348; E-mail: human@mail.hebau.edu.cn

1.5 切片制备

取出孵育标本, 4% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4, 4 °C) 内处理 24~ 48 h。取出脑, 并在 4% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲固定液(pH 7.4, 4 °C) 中卵黄包埋, 用振动切片机制作 200 μm 厚的中脑切片。将切片收集于盛有 4% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲固定液(pH 7.4, 4 °C) 的棕色培养皿, 然后贴于载玻片上, 用 0.04% DAPI(4', 6-diamidino-2-phenylindole) 复染 1 min 显示视顶盖的分层结构。

1.6 观察与统计

切片经 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4) 3 次短时间冲洗后, 荧光显微镜下观察。使用数码显微摄影装置(DP50-CU, 日本 Olympus 公司) 记录标记 I 细胞, 用数据分析软件 Scion Image (Version Beta 4.0.2, 美国 Scion 公司) 进行计测, Microsoft Excel XP 进行生物统计处理。

2 结果

GLv 核内注入或植入 DiI 后, 视顶盖中观察到完整的标记 I 细胞。根据细胞体和树突野的大小及树突分枝特点, 这些细胞可分为“矛状树突 I 层细胞(spear dendritic I cells)”和“叉状树突 I 层细胞(forked dendritic I cells)”。

2.1 矛状树突 I 细胞的形态

这些细胞具有小型纺锤形细胞体和伸向脑表面的 1 支尖端树突。这支树突经常向 SGFS 层发出短的侧枝。根据这些细胞的树突在 SGFS 层的终止层, 可将其主要分为 3 个亚型。

矛状树突 I 细胞的亚型 1 的数量最多, 其树突终止于视顶盖的 F 层(图 1a, 1b)。亚型 2 和亚型 3 的数量较少, 树突末端分别终止于视顶盖的 G 层(图 1c, 1d) 和 A-B 层(图 1e, 1f)。

2.2 叉状树突 I 细胞的形态

这些细胞具有较大三角形或多角形的细胞体, 2~ 5 支上行性和基底树突发出次级和三级分枝。多数上行性树突的末端部终止于视顶盖的 F 层, 有些则终止于 SGFS 的其它层。一些基底树突发出分枝终止于视顶盖的 I 层 J 层和 SGC 层。根据这些细胞的树突在 SGFS 层的终止层, 也可将叉状树突 I 细胞分为 3 个亚型。

叉状树突 I 细胞的亚型 1 最多, 其树突终止于视顶盖的 F 层(图 2a, 2b)。亚型 2 的树突终止于视

顶盖的 D 层(图 2c, 2d)。亚型 3 的树突终止于视顶盖的 D、E 和 F 层(图 2e, 2f)。亚型 2 和亚型 3 叉状树突 I 细胞的数量也较少。

2.3 树突末端的形状和大小

矛状树突 I 细胞的树突显示出 3 种不同形状的末端- 丛状(bush-like ending)(图 2a, 2b)、二分枝(bifurcated ending)(图 2e, 2f) 和棒状(free ending)(图 1e, 1f)。丛状和二分枝末端主要见于视顶盖 F 层, 偶尔也见于 D 层、E 层和 G 层, 水平方向伸延。几乎所有棒状末端见于 A、B 和 C 层, 端部无分枝。丛状末端的频度最高, 为 69.1% (n = 55) (n 为例数, 下同), 平均宽度为(49.6 \pm 25.4) μm (n = 38)。矛状树突 I 细胞树突的棒状末端的频度为 27.2% (n = 15)。仅有少数(3.7%, n = 2) 末端呈二分枝, 其平均宽度为(104.1 \pm 71.1) μm (n = 38)。

叉状树突 I 细胞树突的丛状末端最多, 频度高达 80.5% (n = 62), 这些末端的平均宽度为(57.1 \pm 23.6) μm (n = 60)。一些树突末端为二分枝(15.6%, n = 12) 或棒状(3.9%, n = 3)。有时在同一细胞同时可见丛状末端和二分枝末端。

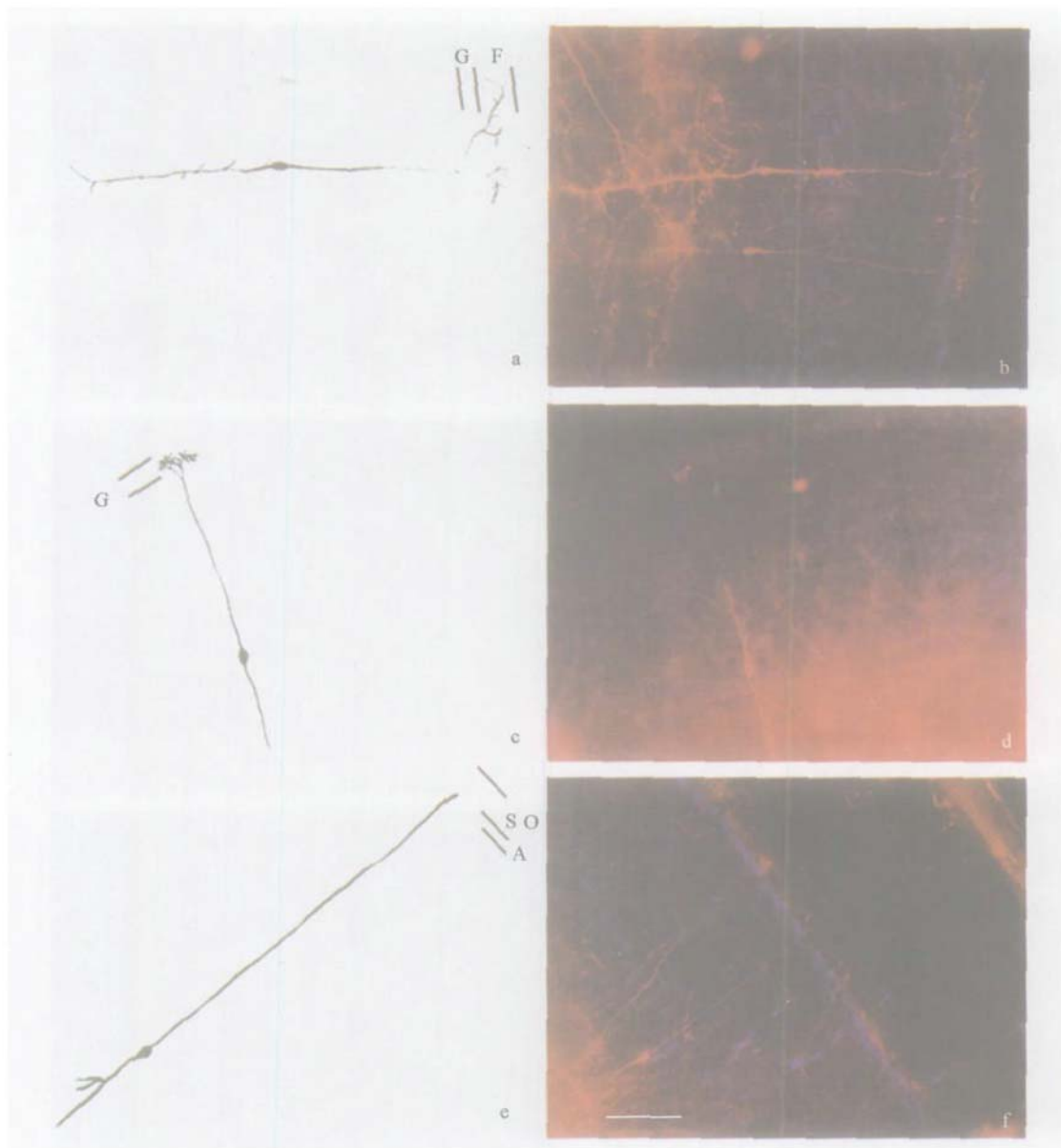
2.4 细胞体和树突野的大小

矛状树突 I 细胞: 细胞体的面积为 87.1~ 335.9 μm^2 , 平均为(149.9 \pm 55.7) μm^2 (n = 55), 树突野为 11.9~ 162.4 μm , 平均为(56.0 \pm 35.2) μm (n = 42)。

叉状树突 I 细胞: 细胞体的面积为 112.5~ 513.3 μm^2 , 平均为(282.9 \pm 98.7) μm^2 (n = 43)。树突野为 92.6~ 536.1 μm , 平均为(224.1 \pm 99.6) μm (n = 43)。两树突末端间的距离平均为(35.9 \pm 45.3) μm (n = 29)。

3 讨论

鸟类的视顶盖由多种形态的细胞组成。通过尼氏体染色和高尔基染色, O' Flaherty^[13] 根据胞体的特征和突起的分枝方式, 将鸭视顶盖细胞分为锥形细胞、双极细胞、节细胞和卫星细胞 4 种。Stone 等^[14] 将鸽视顶盖高尔基染色标本中的细胞分为浅层卫星细胞、径向细胞、非径向细胞和节细胞。本研究观察到的投射向 GLv 核的“矛状树突 I 细胞”似乎对应于 O' Flaherty^[13] 视顶盖 I 层的双极细胞或 Stone 等^[14] 的径向细胞; “叉状树突 I 细胞”似乎对应于 O' Flaherty^[13] 视顶盖 I 层的节细胞或 Stone 等^[14] 的非径向细胞。这些神经元的上行性树突多数以水平分布的丛状末端或二分枝末端终止于视顶



A camera lucida drawing (a) and its photomicrograph (b) of subtype 1 cells in the spiny dendritic I cells;
 A camera lucida drawing (c) and a photomicrograph(d) of subtype 2 cells in the spiny dendritic I cells;
 A camera lucida drawing (e) and a photomicrograph(f) in subtype 3 cells in the spiny dendritic I cells;
 Scale bar in f indicates 100 μm for a-f; A-G indicate different layer in SGFS; SO, stratum optium

图 1f 中的标尺示 100 μm , 适用于 1a-f

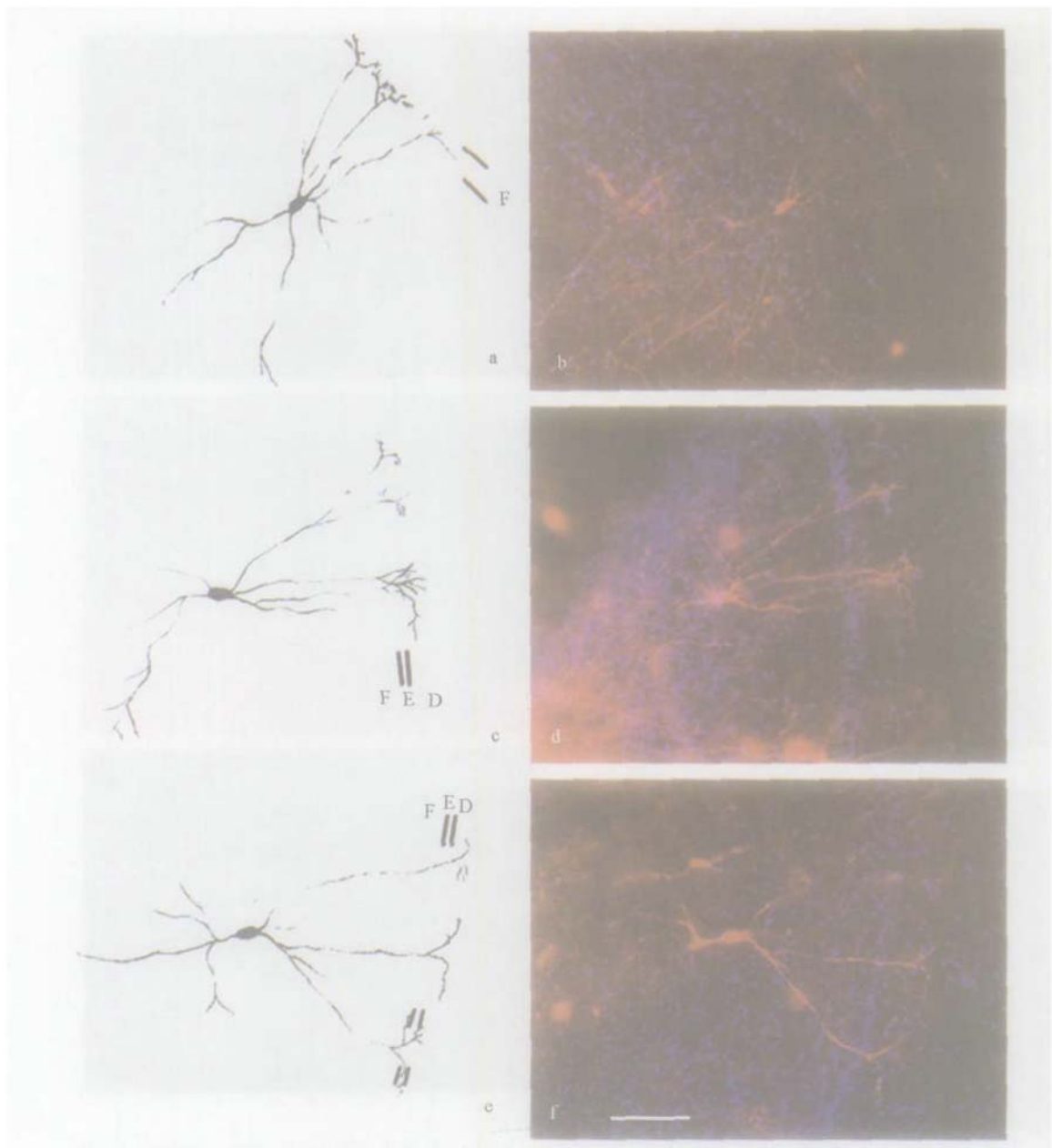
图 1 矛状树突 I 细胞的显微照片(右)及其拓图(左)

Fig. 1 Photographs of three subtypes in the spiny dendritic I cells labeled with DiI

盖的 F 层。这些树突末端与水平分布于 F 层的板状视神经终末^[15]的形状相一致。这种结构可能有助于视顶盖 I 细胞将一些来自视网膜节细胞的视觉信息向 GLv 核的传递。这些 I 层细胞树突末端与视网膜节细胞的轴突(视神经)终末在 F 层内是否形成直接形态学联系及联系方式, 还需要进一步研

究证实。

Hunt 和 Künzle^[5]从视顶盖注入氩标 γ -氨基丁酸(gamma-aminobutyric acid, GABA)后标记出了视顶盖 I 细胞, 认为 I 细胞构成视顶盖抑制系统的一部分。I 细胞的一部分是投射向 GLv 核的传出神经元, TO-GLv 投射系统可能作为抑制系统参与



A camera lucida drawing (a) and a photomicrograph (b) of subtype 1 cells; A camera lucida drawing (c) and a photomicrograph (d) of subtype 2 cells; A camera lucida drawing (e) and a photomicrograph (f) of subtype 3 cells; Scale bar in f indicates 100 μm for $2\sigma 2f$

图 2f 中的标尺示 100 μm , 适用于 $2\sigma 2f$

图 2 叉状树突 I 细胞的显微照片(右)及其拓图(左)

Fig. 2 Photographs of three subtypes in the forked dendritic I cells labeled with DiI

视觉过程。鸟类 GLv 核接受视网膜节细胞和视顶盖的双重投射^[6,7], 参与色觉、瞳孔反射和视觉运动。Maturana 等^[8]报道, 鹤鹑 GLv 核的 80% 细胞对颜色刺激有反应; GLv 核投射向前顶盖区 (area pretectalis, AP)^[9], AP 构成瞳孔反射通路的主要中继核^[9], 且 Pateromichelakis^[10]报道一些细胞只

对照明度变化有反应, 因而 GLv 核可能在调节瞳孔反射过程中起作用; 此外, GLv 核内许多细胞具有大感受野、对慢速运动敏感等特性^[10], 提示 GLv 核可能参与视觉运动功能。GLv 核的这些功能活动可能受视顶盖 I 细胞连接的抑制性调节。

4 结 论

4.1 雏鸡投射到 GLv 核的视顶盖 I 细胞可分为“矛状树突 I 细胞”和“叉状树突 I 细胞”。前者具有小型纺锤状的细胞体和垂直伸延的 1 支尖端树突, 后者具有较大三角形或多角形的细胞体和多支上行性树突。

4.2 投射到 GLv 核的视顶盖 I 细胞的树突末端部多以丛状或二分岐状水平分布于视顶盖 F 层, 和终止于此层的视神经终末部的形态相一致。

参考文献:

- [1] Naito J, Chen Y. Morphologic analysis and classification of ganglion cells of the chick retina by intracellular injection of lucifer yellow and retrograde labeling with DiI[J]. *J Comp Neurol*, 2004, 469: 360~ 376.
- [2] Karten H J, Cox K, Mpodozis J. Two distinct populations of tectal neurons have unique connections within the retinotectoretinal pathway of the pigeon (*Columba livia*)[J]. *J Comp Neurol*, 1997, 387: 449~ 465.
- [3] 唐宗湘. 鸟类离顶盖通路的结构和电生理特性[J]. 吉首大学学报(自然科学版), 2000, 21: 21~ 25.
- [4] Hu M, Naito J, Chen Y, et al. Afferent and efferent connections of the nucleus rotundus demonstrated by WGA-HRP in the chick[J]. *Anat Histol Embryol*, 2003, 32: 335~ 340.
- [5] Hunt S P, Künzle H. Selective uptake and transport of label within three identified neuronal systems after injection of 3H-GABA into the pigeon optic tectum: an autoradiographic and Golgi study[J]. *J Comp Neurol*, 1976, 170: 173~ 189.
- [6] Crossland W J, Uchwat C J. Topographic projections of the retina and optic tectum upon the ventral lateral geniculate nucleus in the chick[J]. *J Comp Neurol*, 1979, 85: 87~ 106.
- [7] Hu M, Naito J, Chen Y, et al. Afferent and efferent connections of the nucleus geniculatus lateralis ventralis demonstrated by WGA - HRP in the chick[J]. *Anat Histol Embryol*, 2004, 33: 192~ 195.
- [8] Maturana H R, Varela F J. Color-opponent responses in the avian lateral geniculate: a study in the quail (*Coturnix coturnix japonica*) [J]. *Brain Res*, 1982, 247: 227~ 241.
- [9] Gamlin P D, Reiner A, Erichsen J T, et al. The neural substrate for the pupillary light reflex in the pigeon (*Columba livia*)[J]. *J Comp Neurol*, 1984, 226: 523~ 543.
- [10] Pateromichelakis S. Response properties of units in the lateral geniculate nucleus of the domestic chick (*Gallus domesticus*)[J]. *Brain Res*, 1979, 167: 281~ 296.
- [11] Gioanni H, Palacios A, Sansonetti A, et al. Role of the nucleus geniculatus lateralis ventralis (GLv) in the optokinetic reflex: a lesion study in the pigeon[J]. *Exp Brain Res*, 1991, 86: 601~ 607.
- [12] Kuenzel W J, Masson M. A stereotaxic atlas of the brain of chick (*Gallus domesticus*)[M]. Baltimore and London: Johns Hopkins University Press, 1988.
- [13] O'Flaherty J J. A Golgi analysis of the optic tectum of the mallard duck[J]. *J Hirnforsch*, 1970, 12: 389~ 404.
- [14] Stone J, Freeman J A. Synaptic organisation of the pigeon's optic tectum: a Golgi and current source density analysis[J]. *Brain Res*, 1971, 27: 203~ 221.
- [15] Tömböl T. Golgi and electron microscopic Golgi-GABA immunostaining study of the avian optic tectum [J]. *Acta Anat (Basel)*, 1998, 162: 209~ 225.

Morphological Studies on the Tectal Neurons Which Project to Nucleus Geniculatus Lateralis Ventralis (GLv) in the Chick

HU Man¹, CHEN Yao-xing², WANG Zhi-xu², ZHENG Shi-xue¹, CUI Ya-li¹

(1. College of Animal Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China;

2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Some visual information is sent to the nucleus geniculatus lateralis ventralis (GLv) via the cells in layer I (I cells) of the tectum in birds and is used for color vision, pupillary reflex, and kineoptic functions. To reveal the morphological features of 'I cells' which project to GLv, they were retrogradely labeled with cyanine perchlorate DiI in chicks. Two different types of neurons, "spear dendritic I cells" and "forked dendritic I cells" were identified. The former had small spindle soma and an apical dendrite extending to the tectal surface, and the latter had somewhat larger triangular or polygonal soma and plural ascending dendrites. Most of the labeled dendritic endings distributed horizontally in layer F, and showed ending patterns similar to the terminals of optic nerve fibers.

Key words: chick; tectum; nucleus geniculatus lateralis ventralis; vision