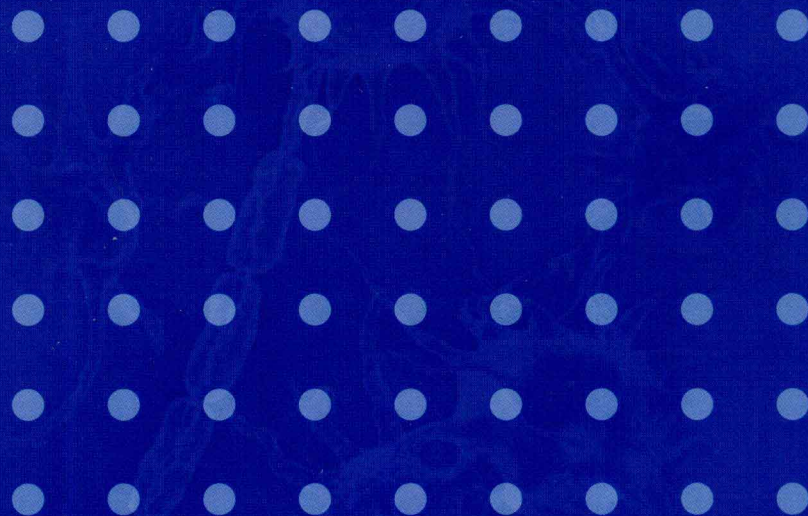


1
高等医学院校教材
供基础、临床、预防及相关专业使用

医学神经生物学基础

(第二版)

阮怀珍 蔡文琴 主编



科学出版社

医学神经生物学基础

(第二版)

阮怀珍 蔡文琴 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

医学神经生物学基础(第二版)从细胞和分子水平系统阐述神经科学的基本概念、基本理论和最新进展。全书共12章,内容包括神经生物学的发展简史、研究方法,神经元和神经胶质细胞的结构与功能及中枢神经系统的组织结构,神经递质,神经元信号转导,神经营养因子,感知觉,神经系统对运动的调控,神经免疫内分泌调节,神经系统的高级功能,中枢神经系统的发育,神经损伤与再生,以及常见神经系统疾病的神经生物学基础等。

本书内容循序渐进,信息量较大,可作为基础医学、临床医学、药学及相关专业本科生的必修课、选修课教材,对从事临床和基础神经科学、生理学及生物学专业的研究生及教师也有参考价值。

图书在版编目(CIP)数据

医学神经生物学基础/阮怀珍,蔡文琴主编.—2版.

—北京:科学出版社,2012.

(高等医学院校教材)

ISBN 978-7-03-034962-0

I. ①医… II. ①阮… ②蔡… III. ①医学-神经生物学 IV. ①R338

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第132818号

责任编辑:王国栋 席 慧 / 责任校对:林青梅

责任印制:阎 磊 / 封面设计:迷底书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码 100717

<http://www.sciencep.com>

北京重文印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2006年5月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2012年6月第 二 版 印张:21

2012年6月第一次印刷 字数:541 000

定价:45.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《医学神经生物学基础》(第二版)

编写人员名单

主 编 阮怀珍 蔡文琴

编 者(按姓氏汉语拼音排序)

蔡文琴 陈鹏慧 邓其跃

范晓棠 郭 强 胡志安

阮怀珍 熊 鹰 杨 萍

杨 忠 袁碧波 张吉强

前 言

神经生物学是近年来发展十分迅速的新兴的边缘学科,已成为生命科学中十分重要的前沿学科。神经生物学应用神经解剖学、神经生理学、神经化学和分子生物学等多学科现代技术,对神经系统进行了多层次综合研究。近代医学从解剖入手,逐步认识脑的结构和功能。随着科学的进步,在研究中不断积累对脑的认识。现在的神经生物学研究已经对脑的结构和功能做出了初步的描绘。组织细胞培养以及组织薄片方法,可使复杂的神经回路还原成简单的单元进行分析。膜片钳技术和重组 DNA 技术等,将使人们对神经信号发生、传递的基本单元——离子通道的结构、功能特性及运转方式的认识完全改观。突触部位发生的细胞和分子事件,如神经递质的合成、维持、释放,以及与相应受体的相互作用的研究进展令人瞩目。对困扰人们已久的若干神经系统疾病的基因定位已经成功,在分子水平对致病原因已进行了细致地分析。因此,将神经生物学作为医学专业学生必修课是十分必要的。我校(第三军医大学)于 1997 年成立了独立的神经生物学教研室,给研究生开设了神经生物学课程,并逐步将其纳入医疗系本科生的课程。2006 年编著出版了本科生神经生物学教材《医学神经生物学基础》。

在《医学神经生物学基础》6 年多的使用过程中,得到师生们的好评,但在这 6 年里,神经科学领域出现了许多新成果、新方法、新概念、新理论,迫切需要收入。因此,结合教学实践和卫生部 21 世纪教学改革的要求,对其进行了补充和修订。本书针对本科生教学内容过多与教学时数有限的矛盾,坚持少而精的原则,突出基础理论、基本知识,不盲目、片面地求新求多。力求既能较系统地介绍神经生物学的基础知识,又能适当反映本学科的最新进展。全书共 12 章,在保持第一版结构框架和特色的前提下,着重充实和改写了神经元信号转导、神经免疫内分泌调节、神经系统的高级功能、中枢神经系统发育和神经损伤与再生等内容。首先从神经元和神经胶质细胞、神经递质、神经元信号转导及神经营养因子 5 个方面较系统地介绍细胞和分子神经生物学中的有关内容和新进展,其次再以这些新进展为基础,按专题的形式从感知觉、躯体运动、神经免疫内分泌调节、认知和生物节律及发育 6 个方面择要介绍有关研究新进展,重点讨论各种生理、病理性行为的神经机制,旨在给本科生和研究生打好现代医学神经生物学基础。最后介绍神经损伤与再生、以及常见神经系统疾病的神经生物学基础。在编写中既注意到神经生物学的完整性,又突出了我校在中枢神经系统的发育与再生、学习和记忆以及痛觉的调制等研究领域的优势及部分研究成果,具有自身的特色。

本书的编委有从事神经生物学教学及研究多年的老专家,也有在神经生物学教研工作中崭露头角的中、青年科技工作者,由于知识水平的限制,疏漏和不当之处在所难免,敬请读者批评指正。

最后,衷心感谢全体编者的辛勤努力和通力合作,衷心感谢第三军医大学学校领导、教务处及教保处对本书的出版所给予的支持。

阮怀珍

第三军医大学神经生物学教研室

2012 年 4 月 15 日

目 录

前言

第一章 绪论	1
第一节 概述	1
一、神经科学与神经生物学的概念.....	1
二、神经生物学的研究领域.....	1
三、神经生物学的发展简史.....	2
第二节 常用神经生物学研究方法	5
一、形态学方法.....	6
二、生理学方法.....	12
第二章 中枢神经系统的组织结构	17
第一节 神经元	17
一、神经元的形态与分类.....	17
二、神经元的结构与特性.....	17
第二节 突触	19
一、突触的概念.....	19
二、化学性突触的基本结构.....	20
三、化学性突触的分类.....	20
四、化学性突触的超微结构.....	21
五、电突触.....	23
第三节 神经胶质细胞	23
一、星形胶质细胞.....	24
二、少突胶质细胞.....	25
三、小胶质细胞.....	26
四、嗅神经被膜胶质细胞.....	26
五、辐射状胶质细胞.....	26
第四节 中枢神经系统组织学	27
一、大脑皮质.....	27
二、海马结构.....	29
三、下丘脑.....	31
四、小脑.....	37
五、脊髓.....	39
第三章 神经递质	42
第一节 神经递质概述	42
一、神经递质.....	42
二、神经肽.....	45

三、神经调质	49
第二节 神经递质各论	50
一、乙酰胆碱	50
二、去甲肾上腺素	54
三、多巴胺	58
四、5-羟色胺	63
五、兴奋性氨基酸——谷氨酸	66
六、抑制性氨基酸—— γ -氨基丁酸	68
七、嘌呤类神经递质	72
八、一氧化氮	75
九、阿片肽	79
十、脑肠肽	82
第四章 神经元信号转导	87
第一节 神经元电信号转导	87
一、电压门控性离子通道	87
二、化学门控离子通道	90
三、信号转导过程细胞膜的电位变化	92
第二节 跨突触的神经元信号传递	93
一、突触的结构	93
二、突触传递	93
第三节 神经细胞内的信号转导	94
一、第一信使和受体	94
二、G 蛋白与跨膜信号转导	96
三、酪氨酸蛋白激酶介导的信号转导	99
四、第二信使介导的信号转导途径	100
五、蛋白质的磷酸化	103
六、核内信号转导	105
第五章 神经营养因子	110
第一节 神经营养素家族	110
一、神经生长因子	111
二、脑源性神经营养因子	112
三、其他神经营养素	113
四、神经营养素受体及其信号转导	114
第二节 其他神经营养因子	117
一、睫状神经营养因子	117
二、胶质细胞源性神经营养因子	118
三、成纤维细胞生长因子	120
四、胰岛素样生长因子	122
五、其他类神经营养因子	123
第三节 神经营养因子的作用及应用	125

一、神经营养因子的生物学作用	125
二、神经营养因子在神经系统疾病中的作用及应用研究	130
三、神经营养因子的临床应用策略	132
四、临床应用神经营养因子存在的某些问题	134
第六章 感知觉	135
第一节 视觉	135
一、光感受与信息处理	135
二、视觉中枢的神经机制	141
第二节 听觉	150
一、声音信息的感受与传递	150
二、声音的分析	153
三、听觉的中枢分析	155
第三节 痛觉及其调制	156
一、痛觉与伤害性感受器的激活	156
二、躯体痛觉的初级整合——脊髓背角	159
三、伤害性信息的上行传导路径	162
四、脑高级中枢对痛觉的调制	163
第七章 神经系统对运动调控	166
第一节 脊髓反射行为及其控制	166
一、脊髓运动神经元	167
二、脊髓中间神经元的整合作用	169
三、脊髓反射行为	171
四、高位中枢对脊髓反射性行为的调控	172
五、节律性行为——行走与奔跑	174
第二节 脑干对运动的控制	175
一、网状结构	175
二、中枢前庭系统	178
第三节 大脑皮质对随意运动的控制	180
一、皮质运动区的定位和感觉传入	181
二、初级运动皮质对简单运动的控制	183
三、次级运动区在运动计划中的作用	184
四、顶后叶皮质在运动调制中的作用	185
第四节 小脑对运动的调节	186
一、小脑的解剖学分部及结构特征	187
二、小脑皮层神经元环路的组成及活动	187
三、小脑的神经联系、起源和功能	187
第五节 基底神经节对运动的调节	189
一、基底神经节的组成	189
二、纹状体运动纤维与大脑皮层的回路	190
三、神经回路中的递质关系	191

第八章 神经免疫内分泌调节	194
第一节 神经系统、免疫系统和内分泌系统的共同特性	194
一、细胞组成的相似性	194
二、共同的生物活性物质	195
三、具有周期性变化	195
四、与性别和衰老的关系	196
五、作用途径	196
六、正负反馈调节性机制	196
第二节 神经系统对内分泌系统的调节作用	196
一、神经内分泌	196
二、下丘脑对神经内分泌的调节	197
三、脑垂体对神经内分泌的调节	198
第三节 内分泌系统对神经系统功能调节	199
一、激素对脑的作用机理	199
二、甲状腺素与神经系统	200
三、类固醇激素与神经系统	200
第四节 神经-内分泌系统对免疫系统的调节	203
一、神经系统对免疫系统的调节	203
二、内分泌系统对免疫功能的调控	204
三、神经递质、神经调质与激素对免疫功能的调节	206
四、神经和内分泌系统调节免疫功能的机制	209
第五节 免疫系统对神经-内分泌的调控	210
一、免疫功能在神经及内分泌组织中的体现	211
二、免疫应答对神经-内分泌的影响	213
三、细胞因子对神经-内分泌的影响	214
第九章 神经系统的高级功能	217
第一节 学习与记忆	217
一、学习与记忆的类型	217
二、学习记忆的解剖基础	219
三、学习记忆的神经机制	221
四、学习记忆与突触可塑性	226
第二节 语言和思维	232
一、语言和思维脑功能一侧化概念的形成与发展	232
二、语言、思维脑功能一侧化的电生理学研究	233
三、右脑和语言思维活动	233
四、语言脑功能一侧化和第二语言的获得	234
第三节 生物节律与睡眠	235
一、生物节律	235
二、睡眠与觉醒	237
第十章 中枢神经系统的发育	243

第一节 中枢神经系统的发生与分化	243
一、神经管的形成和早期分化	243
二、脊髓的发育	246
三、脑的发生	247
第二节 中枢神经系统发育的特点	250
一、神经诱导	250
二、神经细胞的分化	251
三、神经细胞的迁移	251
四、突触的发育	253
五、神经细胞的程序性细胞死亡	254
六、神经系统发育过程中的性分化	255
第三节 神经干细胞	256
一、干细胞概述	256
二、神经干细胞的生物学特性与应用前景	260
第四节 脑发育异常及发育中的脑损伤	264
一、脑发育异常	265
二、发育脑的易损性	266
第十一章 神经损伤与再生	267
第一节 神经系统损伤后的反应	267
一、周围神经损伤	267
二、中枢神经系统损伤	270
第二节 神经损伤后的再生	274
一、周围神经的再生	274
二、中枢神经系统再生	277
第三节 神经干细胞与脊髓损伤的修复	281
一、脊髓损伤的病理生理学改变	282
二、神经干细胞与脊髓损伤的修复	282
第十二章 常见神经系统疾病的神经生物学基础	285
第一节 老化相关的神经退行性疾病	285
一、概述	285
二、阿尔茨海默病	286
三、帕金森病	296
第二节 神经系统其他常见疾病	301
一、亨廷顿病	301
二、肌萎缩侧索硬化症	303
三、抑郁症	305
四、癫痫	306
专业名词中英文对照	308
主要参考文献	325

第一章 绪 论

第一节 概 述

一、神经科学与神经生物学的概念

神经科学是生命科学的重要支柱学科,也是生命科学发展最迅速的前沿学科。它是一门从生物医学、化学、物理学、心理学、数学和计算机科学等多学科的角度研究脑的构筑、演化和工作的边缘学科和综合学科。神经科学的研究目标是:认识脑,阐明认知、情感和意识等脑区的结构和功能,搞清脑的通信功能;保护脑,控制脑发育及老化的进程及神经、精神性疾病的康复和预防;创造脑,设计和开发仿脑型计算机和信息处理系统。它的重点在脑,所以也把神经科学称为脑科学(brain science)。

神经科学(neuroscience)可以分为基础神经科学和临床神经科学两大部分,前者侧重基础理论,后者以研究与神经系统有关的病症为主。

基础神经科学的主干是神经生物学(neurobiology),它是一门从分子细胞和整体水平研究神经系统的结构、功能与发育等问题的综合性科学。自1966年美国哈佛大学成立了世界上第一个神经生物学系以来,这门仅有40多年历史的学科已取得了突飞猛进的发展。神经生物学的内容涉及神经解剖、生理、药理、病理、生物化学、细胞生物学及分子生物学等。其任务是研究神经系统内分子水平、细胞水平和系统水平的变化过程,以及这些过程的整合作用,直至最复杂的高级功能,如学习、记忆等。其最终目的在于了解人类神经系统的结构和功能,以及行为与心理活动的物质基础,为改善人类感觉与运动效率,提高对神经系统疾病的防治水平、增进健康服务。神经生物学进行的是跨学科的基本理论研究,它体现了多学科的互相联系和渗透。

基础神经科学中还有一门极为重要的计算神经科学(computational neuroscience),它与神经生物学有密切关系,但其独立的研究方法和内容超出了生物医学范围,和电脑、人工智能及信息科学关系密切。

二、神经生物学的研究领域

神经生物学的主要研究领域包括神经生物化学、神经解剖学、神经生理学、细胞神经生物学、分子神经生物学、发育神经生物学、比较神经生物学、系统神经生物学、行为神经生物学等。神经生物学虽然包罗了基础神经科学的诸多学科,但是它并不是若干传统学科简单和机械的组合。神经生物学是在科学发展的进程中,在传统神经科学的基础之上成长和发展起来的一门新兴的综合性边缘学科。

1) 分子神经生物学

分子神经生物学(molecular neurobiology)是神经系统研究的一个层次,是在分子水平研究与神经细胞或神经活动有关的化学物质。它着重研究神经系统内各种分子的结构、功能、种类、多样性和来源,如受体蛋白、离子通道蛋白和神经营养性物质等的结构与功能。神经系统遗传性

疾病的基因定位和变异的研究等都属于分子神经生物学的研究范畴。

2) 发育神经生物学

发育是最基本的生命现象。发育神经生物学(developmental neurobiology)主要研究神经细胞的发育过程,包括神经细胞谱系的追踪,神经元的发生、诱导、迁移、分化,轴突和树突的发育,突触的发生,神经网络的形成,神经系统的生长、发育、成熟、退变、老化,以及神经系统的可塑性等。在脑发育中,神经生物学要解决的问题颇多。例如,神经系统的区域化形成,不同种类的神经细胞和神经胶质细胞的产生,神经细胞的迁移,以及神经诱导、发育过程中的轴突到达靶组织的分子机制,神经系统中种类各异、数量庞大的神经元和胶质细胞是如何组构成一个完美的神经系统等。

3) 细胞神经生物学

细胞神经生物学(neurocytology)在细胞或亚细胞水平上研究神经系统及其组成成分。如神经细胞骨架成分,线粒体等的结构和功能,细胞水平的各种信号调控,神经递质、调质,神经营养因子及各种细胞因子在神经系统的分布和作用机制,神经细胞凋亡的发生机理及基因调控等。

4) 比较神经生物学

比较神经生物学(comparative neurobiology)从种系发生上研究神经系统从低级到高级的进化进程及进化规律。某些低等动物如线虫、海兔、乌贼、水蛭等,其神经元总数很少,神经系统组成较简单,是研究神经细胞迁移、突触形成、学习与记忆、各种神经化学物质对神经活动影响的良好实验动物。例如秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)是细胞定数动物,成虫体细胞一共有1090个,其中103个注定要发生程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),线虫虫体透明,在相差显微镜下,可利用核折光率的不同观察细胞凋亡的过程,PCD的基因调控机制最先也是从线虫研究突破的。

5) 系统神经生物学

系统神经生物学(systematic neurobiology)以功能系统为研究对象的分支,如躯体运动系统,各种感觉系统,以及对内脏活动调控的肠神经系统(enteric nervous system),心血管及免疫系统等的神经调控。

6) 行为神经生物学

行为神经生物学(behavioural neurobiology)在活着的完整动物上,应用行为学或心理学方法研究神经系统的学习记忆、情感、睡眠与觉醒的机制,各种内外环境改变对动物行为的影响等。转基因动物及基因敲除(knock out)技术的应用,使基因功能和动物行为的研究得到了很大的进展。

以上只是就研究层次为主题的分支范围,但实际各学科领域间常有交叉和重叠,如神经系统发育的基因调控,是既包括发育神经生物学又包括分子神经生物学的多层次的研究,不能决然分开。

三、神经生物学的发展简史

上古时代,人们认为“心”为“思”之器官。直至17世纪Willis才把思维及人体主宰功能定位于大脑。古希腊的哲学家在描述精神和灵魂的概念时,认为思想依靠脑,最早述及脑的功能。中国古代医学也有“脑为诸髓之海”的描述。

尽管思维、意识、学习、记忆等脑的高级功能最容易引起人们的研究兴趣,但人类对脑的认识

都是从最基本的结构与功能活动开始研究的。神经解剖的研究早在 16 世纪就开始了,1543 年, Vesalius 精确描述了人体神经系统的大体解剖结构。但是真正用科学方法来研究神经生理学则始于 18 世纪末。19 世纪中后叶,关于神经的基本组织单位、先天的反射活动和后天建立起来的反射行为等已经成为生理学家感兴趣的问题。到 20 世纪,神经生理学获得了长足的发展,从结构、组织、生理、生化、胚胎、药理和病理等许多方面开展了大量研究。神经生理学这一名称遂扩大而被称为神经生物学。

1. 神经系统结构研究

19 世纪末叶,在显微镜发明之后,解剖学家 Golgi 发明了选择性显示神经细胞的银染法,即使用至今的 Golgi 氏法。该法可在神经组织切片上显示出少量完整的神经细胞,包括其胞体与突起。生活在同一时代的西班牙神经组织学家 Cajal 用此法作了大量的系统观察,1891 年确认神经系统由独立的边界清楚的细胞组成,这些细胞可有不同的类型并相互联系,但非胞质借突起相互通连的一大合体细胞。Cajal 等的工作是对脑认识的一个非常重要的进展,初步确定了神经系统结构的细胞(即神经元)学说。神经元理论的建立取代了过去不是建立在细胞基础上的网络理论,为研究神经传导奠定了科学基础。

19 世纪和 20 世纪交替之际,英国生理学家 Sherrington 在 Cajal 的基础上继续进行这方面的研究。他在 1897 年出版的生理学教科书中首次把神经细胞之间的连接点定名为“突触”,这是继神经元学说之后,神经科学研究中的又一个重要里程碑,成为研究神经传递的一个重要概念。1910 年,Sherrington 进一步提出,由于有突触存在,神经脉冲不是随机地在神经细胞间传入、传出,而是通过突触的单向传导。经过许多人的工作,到 20 世纪初已经明确突触是有结构的。

20 世纪 20~50 年代,电子显微镜的发明,极大地促进了人们对神经元和突触细微结构的认识,进一步支持并巩固了神经元学说。通过高倍电子显微镜的观察表明,突触前和后有两个分开的膜,分属突触前后两个神经元,中间的 200\AA 间隙,称为突触间隙。这样的结构普遍存在于神经系统中。电镜观察还表明,突触前靠近膜处有突触小泡等其他结构。突触小泡后来被证明是神经递质储存的场所。

2. 神经兴奋的电传导

1791 年,意大利解剖学家 Galvani 发现了生物电现象。19 世纪有更多的生理学家从事电生理的研究,取得了测定神经电传导的速度、发现“全或无”定律等许多成果。20 世纪有了示波器和电子放大器,特别是在 30 年代,英国生理学家 Young 以乌贼大神经纤维作为研究材料,对神经电传导的电阻、电位及其在刺激前后的变化等都进行了定量的测量。40 年代,英国生理学家 Hodgkin、Huxley 和 Katz 进而研究 Na^+ 、 K^+ 与神经传导的关系,提出了神经元质膜的离子学说,建立了一套可兴奋膜理论。发现在静止状态时神经纤维膜为“钾膜”, K^+ 可以通透,趋向于钾的平衡电位;在活动时则为“钠膜”,对 Na^+ 有极大的通透性,趋向于钠的平衡。因此动作电位的产生,本质上是“钾膜”转变为“钠膜”,而且这种转变是可逆的。1957 年 Eccles 用微电极技术对中枢神经元及突触传递的机制进行了研究,为阐明中枢神经系统的功能做出了突出的贡献。

3. 神经化学递质研究

1905 年,英国生理学家 Elyot 发现用电刺激交感神经的结果同肾上腺素引起的反应类似,

并认为这很可能是当电脉冲到达肌肉联结点时释放了肾上腺素。这项工作当时并未引起重视。

1921年,奥地利的 Loewi 用蛙心做实验,直接证明在心肌上的交感神经末梢和副交感神经末梢释放出两种不同的化学物质,一种使心跳减速,另一种使心跳加速。后来 Loewi 认为副交感神经对心肌的作用同乙酰胆碱类似。1926年,在英国生理学家 Dale 建议下,Loewi 用毒扁豆碱抑制乙酰胆碱酶的活性,使乙酰胆碱能保持一定量,同时也观察到副交感神经作用加强和延长的效果。在此基础上神经末梢释放化学物质的概念逐步得到了建立。1932年前后,Dale 又做了一系列的实验,取得了乙酰胆碱存在于内脏器官神经末梢的直接证据。此后,乙酰胆碱作为神经递质的研究扩大到横纹肌神经末梢,交感、副交感神经节和中枢神经系统中的某些神经细胞的末梢。这项开创性的研究为此后神经递质的研究打下了良好的基础。逐步证明神经递质是作用于受体的信使,将化学传递理论由神经肌肉接头扩大到神经接点——突触上。

1934~1935年美国生理学家 Cannon 等提取去甲肾上腺素,当时命名为“交感素”(sympathin),到1946年瑞典生理学家 Eule 才证明其为去甲肾上腺素。1960年以来,对脑内递质开展了不少研究。除了上述已知的两种递质外,还发现了约30种不同的递质,各存在于一定的部位,各有不同的作用。它们有些是氨基酸,如甘氨酸、丙氨基丁酸等;有些是胺类,如儿茶酚胺类的多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素等;还有些是多肽类。20世纪70年代脑啡肽的发现为神经系统内镇痛机制的研究开辟了新的前景。

4. 脑功能研究

英国生理学家 Sherrington 的工作是同“反射”活动联系在一起。他于1893年从膝跳开始,研究感觉神经元、运动神经元,以及由一个或多个中间神经元连接起来共同协作所形成的反射弧。后来他提出抑制的概念,并认为抑制过程同兴奋过程同等重要。他还研究了不同类型的协调反射,以及大脑或小脑对脊髓反射中枢的影响。

俄国生理学家 Pavlov 在20世纪初建立起“条件反射”的概念,这是他长期以精巧瘿管技术对消化生理进行研究的成果。他证明条件反射是大脑活动的结果,可以由后天训练得来。他利用条件反射对大脑的兴奋与抑制做了大量研究,其结果不仅对生理研究而且对心理、精神以及教育等研究都有一定影响。把原来属于“心理”领域的脑的高级功能纳入神经生理学的研究范围。

19世纪有学者提出关于脑功能区的定位,即大脑主司感觉与思考,延髓为生命中枢,小脑主协调躯体运动。对人大脑皮层功能区的研究,开始于19世纪对尸体解剖的观察,如失语症与额叶中央前回底部之前的损伤有关等。在人脑上用电刺激研究功能定位,开始于20世纪30年代。德国神经外科医生 Foerster 和加拿大神经生理学家 Penfield 进行外科手术时,在清醒的患者身上,用电刺激大脑的不同部位引起不同反应。根据这种结果绘制出人的大脑皮层功能区域图表明,感觉区集中在中央后回,运动区集中在中央前回,这些区域的每一处都同身体的一定部位相联系。

19世纪70年代,英国生理学家 Caton 用兔、猫和猴等40头动物作为实验对象,发现它们的大脑普遍存在着电的变化。进入20世纪后开始做脑电记录。1925年,德国精神病学家 Berger 用灵敏度高的电极插在他儿子的头上做脑电测定,发现有心理活动时(如注意等)脑电波发生变化。他还记录了脑损伤时的脑电图,为后者用于临床诊断奠定了基础。1929~1938年,他每年出一本《关于人的脑电图》,为从事这方面工作的人们提供了丰富的资料。神经元的综合电活动,虽然可以对癫痫或脑内重大病变提供信息,却不能揭示感知的过程。从20世纪50年代开始,脑电的研究向着探索与特定知觉有关的信号方向发展,开展了诱发电位的研究工作。英国的 Daw-

son 于 50 年代初建立起世界上第一个记录瞬态诱发电位的装置。随后,由美国两位科学家将该机械装置全部加以电子化并同专用计算机相连。60 年代,又引入傅里叶(Pourier)分析仪,使研究工作取得新进展。到了 70 年代,对人的视觉、听觉、甚至婴儿的感觉都有了灵敏的检查指标,不仅在临床上得到广泛应用,也为进一步探索脑功能提供了条件。80 年代以后,正电子发射断层扫描技术和磁共振成像技术的应用,可以无损伤地研究活动状态下的脑,以了解脑在正常活动状态下的功能,也可用于脑疾病或损伤的诊断。

5. 神经系统感知研究

感觉系统能够快速接受各种外界刺激,通过特异的传导通路进行信号的传递、分析和整合,产生认知和相应的行为。因此,感觉系统不仅是接受外界信息的关键环节,而且也是人和动物做出行为应答的重要基础。20 世纪在感觉生理学上最受重视、发展最快的是中枢神经系统对外界感觉的加工,在如何识别信号、如何形成感知方面已取得了一些阶段性成果。①神经网络上侧抑制的发现。出生在匈牙利的美国生理学家 Bekesy 发现,在视觉系统中有互相抑制的作用,有助于加强视觉中的反差效应。他还发现,在听觉系统中也存在侧抑制。这一作用原理已被应用于通信系统和工程技术系统的信号检测。②神经纤维的感受域。这是英国生理学 Adrian 在 1930 年前后提出的概念。他的实验发现许多感受器都会引起同一根神经纤维的反应,因此他把这一纤维所联系的许多感受器的区域称为感受域。③大脑皮层存在着“粒”状细胞群的“功能结构”。60~70 年代的研究初步表明,大脑有 $10^9 \sim 10^{11}$ 个细胞,它们是有序的,在感知外界事物的信息加工过程中遵循一定的规则,而且各种感觉都有共同规律。

20 世纪 60 年代以后,各种新技术、新方法大量出现并迅速地应用到实际研究中去,如辣根过氧化物酶法、荧光染料等束路追踪技术和免疫组织化学技术、免疫电镜技术、放射免疫测定法、电子计算机显微图像分析技术、脱氧葡萄糖法及神经细胞的体外培养法等。70 年代以后,出现了显示神经细胞内 mRNA 的原位杂交法, DNA 重组技术,研究神经递质受体分布的定位法,研究神经元质膜离子通道的膜片钳技术等。特别是分子生物学的发展和分子生物学方法在脑研究中的应用,使许多神经系统结构和功能的研究进入了分子水平研究阶段。

20 世纪 90 年代神经生物学有了飞跃的发展,更新了许多传统的观念,对脑的结构和功能有了进一步深入的理解,对神经系统疾病的发病机理及防治更前进了一步。以发育神经生物学而言,除神经系统发育及再生的基因调控外,对胶质细胞的功能已赋予了新的内容。胚胎干细胞、神经干细胞以及嵌合体的建立,为神经细胞的发育、诱导、分化提供了新的研究手段,也为脑内移植等展示了光辉的前景。中枢神经的再生过去认为是不可能的,现在应用综合手段如胚胎组织脑内移植,应用抗抑制因子抗体和神经营养因子等都能不同程度地促进中枢神经系统的再生。这些为神经损伤,特别是脊髓截瘫的患者带来一丝曙光。虽然如此,解释、破译脑的奥秘并使之对人类健康服务,将是 21 世纪的重大课题,任重而道远。

第二节 常用神经生物学研究方法

神经生物学是一门典型的综合性学科,包含众多研究领域,且发展极快。多学科、多层次的研究是神经科学研究的一个显著特点,因而其所涉及的研究方法与手段也是纷繁复杂、包罗万象的,其中既包括了传统生物形态学科的研究方法,同时生物机能与代谢的研究手段也被广泛采用。近几年来,分子生物学技术正被引入这一领域,一些新近发展起来的新技术如计算机模拟网

络,无创脑成像技术及单个活细胞分析技术等,也已显示了既往研究方法所不具有的优势。

一、形态学方法

(一) 神经束路示踪法

1. 轴浆运输法

轴浆运输是神经细胞的特性之一,神经元有长短不等的轴突,需要从细胞体不断地将各种成分运输至轴突及其分枝以维持神经元代谢;在神经末梢释放的神经肽及合成经典递质的酶也需在胞体合成;影响细胞代谢的物质,如神经营养因子,从末梢逆向传送至胞体,这些运输现象称为轴浆运输(axoplasmic transport)。根据运输速度分快轴浆运输和慢轴浆运输。快轴浆运输又有顺行和逆行之分,快的顺行运输速度为 50~500mm/d,快逆行运输速度为 50~80mm/d。慢轴浆运输则全为顺行,速度约为 5~8mm/d。中枢神经系统内轴浆运输的速度约为周围神经系统的一半。轴浆运输是个耗能的过程,其机制尚不完全清楚,研究显示微管(microtubule)在轴浆运输中起关键作用。树突也有类似的运输现象。

1) 辣根过氧化物酶法

辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)法是应用最广泛的神经束路示踪法。HRP 是一种含血红素基的植物糖蛋白,将其注入动物体内,可沿轴浆运输线路示踪神经束路。HRP 在 H_2O_2 存在条件下,可催化外加联苯胺的氧化反应,反应产物具有特定颜色,如与二氨基联苯胺(DAB)反应呈黄色,与四甲基联苯胺(TMB)反应呈蓝黑色,从而可将标记神经元及其突起显现出来。HRP 肌肉注射,可由肌肉神经末梢吸收,沿轴突逆行运至胞体,标记运动神经元及其树突;HRP 神经元胞体区注射,可沿顺行轴浆运输至其传出纤维分布区。

HRP 法具有许多优点:①方法简便,实验周期仅数天;②HRP 细胞内注射,可显示神经元胞体、树突及轴突全貌,形态细节优于 Golgi 银染法;③DAB-HRP 反应产物具有较高的电子密度,既适于光镜也适宜电镜观察;④HRP 也可经神经纤维束内注射或经神经断端浸泡吸收。

HRP 法的缺点主要有:①标记过路纤维,既有顺行轴浆运输标记,又有逆行轴浆运输标记,故解释实验结果应审慎;②有效注射范围较难确定,一般认为,中心深染而不能辨认其结构的区域为有效区,而其他可辨认结构的周边区为无效区。

2) 植物凝集素和细菌毒素束路示踪法

示踪物是通过神经细胞膜上特定受体的介导而被胞饮吸收入神经元。菜豆凝集素(*Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin, PHA-L)主要用于顺向追踪,其显示的纤维末梢形态非常细致,且基本没有过路纤维标记问题。麦芽凝集素(wheat germ agglutinin, WGA)除偶联成 WGA-HRP 外,也可单独使用,作顺、逆向传送标记。凝集素可用 PHA-L 抗体或 WGA 抗体的免疫组织化学法显示。霍乱毒素(cholera toxin, CTX)除形成 CTX-HRP,也可单独使用,是一种很灵敏的顺、逆向示踪剂。但用霍乱毒素抗体的免疫组织化学法及凝集素组织化学示踪法,成本比 HRP 法高且步骤多。

3) 放射自显影术

放射自显影术(autoradiography, ARG)应用于神经系统,研究神经元投射的径路示踪法称为放射自显影神经追踪法(autoradiographic nerve tracing method, ARNT);也可用于研究神经

元内的化学物质成分。ARG可在光镜或电镜水平进行。

ARNT法的原理也是根据轴浆运输的现象发展起来的,即将放射性同位素(如 ^3H 、 ^{14}C)标记的氨基酸注入神经组织,它们被神经元胞体吸收后参与神经细胞的蛋白质合成,然后合成的物质随轴浆运输至末梢,借助放射性同位素发出的 β 射线使胶片或乳胶感光,经显影、定影后产生黑色的银粒,从而确定神经元的纤维投射区,ARNT法一般都是顺行追踪,不存在过路纤维摄取干扰的问题。但若用放射性同位素标记神经递质或由神经元合成的蛋白质则仍可通过轴浆逆行运输。

4) 病毒示踪技术

活的神经病毒也可用作束路追踪剂,尤其有利于跨突触的多级追踪(跨神经元追踪)。活病毒能在神经元中增殖,即使在第二级神经元中最初病毒数很少,经一定时间也可以有很强的标记,并可以顺次标出以下各级神经元。这是活病毒作追踪剂所独具的特点。病毒用免疫组织化学方法显示。

目前常用的有两种疱疹病毒(单纯疱疹病毒I型及猪疱疹病毒,又称伪狂犬病毒)及弹状病毒,可作顺向或逆向追踪。两个方向均能跨突触标记。例如,将I型单纯疱疹病毒注入小鼠舌下神经3天后,舌下神经核内可发现大量病毒。再经3天后,脑干内各终止于舌下神经核的核团均出现明显标记。

2. 变性法

变性法是利用神经元胞体受损或神经轴突离断后远侧轴突的变性,或轴突切断后细胞的反应,来研究神经纤维联系。

目前主要在两个方面利用神经纤维变性来进行束路研究:一是切断束路,或破坏起源核团后观察靶核区神经纤维及其末梢组织化学变化;另一种用途是微环路研究。

1) 损毁方法

破坏方法有物理性、化学性两大类。物理性破坏的共同问题是选择性差,在损毁核团时途经此核团的纤维也被损。化学性破坏的特异性较强,主要有两类试剂:兴奋性氨基酸及单胺类神经毒。

(1) 兴奋性氨基酸:用做化学损毁的兴奋性氨基酸有红藻酸(或称海人酸, kianic acid)及鹅膏蕈氨酸(ibotenic acid),它们在化学结构上均与谷氨酸有共同之处。兴奋性氨基酸神经毒剂仅损伤神经细胞而不破坏轴突,因此无过路纤维受损问题,这是其在束路研究中的主要优点。

(2) 单胺类神经毒:可选择性地损毁儿茶酚胺或5-HT能神经元。6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)能引起交感神经肾上腺素能末梢的急性选择性溃变。5,6-双羟色胺和5,7-双羟色胺(dihydroxytryptamine, DHT)能选择性地破坏5-HT能神经元。现在,这些神经毒素已成为中枢和周围单胺神经元系统选择性损毁的有效手段。

2) 银染被毁损的纤维束

这种方法使其与正常纤维束形成染色反差,可研究神经纤维束的行程。以Nauta和Ryna方法为代表,首先切断某个纤维束或毁损某个神经核团,造成退行性变。接着以银浸法染出变性纤维,基本步骤包括:①硝酸银浸染;②氨银液处理;③在还原液内将银盐还原。被浸染的变性纤维呈棕黑色,与正常纤维的尼氏染色(蓝色)形成对照,从而显示出变性纤维束的行程和分布区。Fink-Heimer法也属银染法,主要显示溃变的神经纤维终末。