

神经细胞培养

理论与实践

郑志耘 林玲 编著



科学出版社

BIO
TECH
SERIES

神经细胞培养

理论与实践

郑志竑 林 玲 编著

科 学 出 版 社

2002

内 容 简 介

细胞培养技术是生物学研究中的基本技术,而神经细胞的培养又与一般的细胞不同,有其特殊性。本书全面系统地介绍了神经细胞培养的基本原理和实验技术以及相关的一些研究方法,包括各种类型神经细胞的培养方案和某些特殊的培养技术,囊括了神经细胞的特征、培养原理、方案、步骤和应用等内容。

本书可供从事神经科学及相关领域的专业研究人员、教学人员、研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

神经细胞培养:理论与实践/郑志竑,林玲编著. —北京:科学出版社, 2002.7

ISBN 7-03-010022-0

I. 神… II. ①郑…②林… III. 神经系统-细胞培养 IV. Q813.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 004331 号

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>

丽源印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002年7月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2002年7月第一次印刷 印张:16 1/4

印数:1—2 000 字数:371 000

定价:36.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

序

20 世纪 90 年代,神经科学包括神经生物学及其在临床上的应用,发展速度惊人,前景广阔,特别值得指出的是:在“脑十年”这段时间里,随着物理、化学和分子生物学科的突飞猛进,使得神经科学在研究手段方面诞生了大量的新技术,包括神经科学研究中常用的一种实验手段——神经细胞培养也取得长足的进展。然而,迄今国内尚无一本关于神经细胞培养的原理和方法的工具书。为了适应时代的要求,跟上神经科学发展的新步伐,福建医科大学分子医学研究中心的郑志竑和林玲两位回国留学生在汇集了国内外大量资料的基础上,结合自己多年的实践经验,在短短的时间内完成了《神经细胞培养——理论与实践》一书。

本书是一部集神经细胞培养技术、基本原理和操作方法之大成的工具书。全书共 23 章,囊括了神经细胞的特征、培养原理、方案、步骤和应用以及特殊的培养方法和一些相关的研究技术。内容新颖实用,理论联系实际,具有较高的学术价值,为从事科研、教学和开发的工作者提供了很有参考价值的资料。我相信本书的出版将会推动我国神经科学的发展,受到我国学术界的热烈欢迎。谨此表示诚挚和热烈的祝贺,是为序。

林建银

2001 年 4 月 1 日

于福州

前 言

神经细胞培养是神经科学研究中一种常用的实验手段,然而,迄今国内尚无有关神经细胞培养理论与技术的专著。我们在工作中经常遇到欲进行神经细胞培养,而又苦于无系统的参考资料,我们的同行或涉足神经科学研究领域的人员,都希望能有一本系统介绍神经细胞培养原理和方法的工具书,这促使我们萌发了编著本书的构想。为此,我们参考了国外有关神经细胞培养的专著和国内外近年的有关研究文献,结合自己从事神经细胞培养研究工作的经验,在较短的时间内完成了本书的编著,作为我们在 21 世纪伊始对我国神经科学发展所尽的绵力。作者诚恳地希望本书的出版将为从事神经科学研究的同行和应用神经细胞培养方法的工作者提供参考,有所裨益。

本书共分 23 章,第一至第七章主要介绍神经细胞的特征、神经细胞培养的基本概念和神经细胞培养的基本条件;第八至第十七章详细介绍了各种常见神经细胞培养的原理、培养方案、步骤以及应用等;第十八至第二十三章侧重介绍了特殊的培养方法和一些相关的研究技术。本书不仅讲求实用、涵盖面广,而且注重于阐述其原理,以期读者能够从中得到启发,结合实际,灵活应用。

编写本书得到了福建医科大学有关领导的大力支持,特别是福建医科大学“分子医学”学科带头人林建银教授的勉励和指教,并承蒙胡建石协助文稿录入等工作,谨此表示诚挚的谢意。

由于作者的水平有限,编写时间紧促,虽数易其稿,力求无误,但难免仍有欠缺和疏漏之处,恳请读者不吝指正。

郑志竑 林 玲

2001 年 3 月 30 日于福州

目 录

序	
前言	
第一章 概论	(1)
第二章 神经元和神经胶质细胞的结构与功能	(4)
一、神经元	(4)
二、神经胶质细胞	(8)
三、神经元和神经胶质细胞的鉴别	(10)
四、亚细胞定位的特异标志物	(12)
第三章 神经细胞体外培养的基本概念和方案	(14)
一、神经细胞培养的类型	(14)
二、常用的神经细胞培养法	(15)
三、神经细胞系的建立	(19)
四、神经细胞的原代培养	(20)
五、神经胶质细胞的原代培养	(28)
第四章 神经细胞培养的设施与条件	(30)
一、实验室	(30)
二、设备	(31)
三、培养器具	(36)
第五章 常用的培养用液和特殊添加剂	(39)
一、水和平衡盐溶液	(40)
二、天然培养基	(41)
三、合成培养基	(42)
四、其他培养用液	(47)
五、特殊添加剂	(51)
第六章 神经营养因子	(53)
一、神经营养因子	(53)
二、其他营养分子	(59)
三、神经营养因子的协同作用	(61)
第七章 培养用品的清洗与消毒灭菌	(63)
一、培养用品的清洗	(63)
二、培养用品的消毒灭菌	(66)
第八章 大脑皮质神经元的培养	(70)
一、大脑皮质神经元培养方案	(71)
二、培养中皮质神经元的发育	(75)

三、识别神经元类型的形态学方法	(76)
四、兴奋性和抑制性神经元的鉴别	(77)
五、体外培养大脑皮质神经元的应用	(77)
第九章 神经胶质细胞的培养	(78)
一、神经胶质细胞的分类	(79)
二、细胞培养的局限性	(80)
三、神经胶质细胞的培养	(80)
四、培养中神经胶质细胞的特征	(86)
五、神经胶质细胞培养的应用	(88)
第十章 交感神经元的培养	(91)
一、交感神经细胞培养的基本原则	(92)
二、大鼠胚胎交感神经元培养的步骤	(93)
三、交感神经元的形态学分析技术	(98)
四、培养的交感神经元的形态特征	(98)
五、交感神经元培养的应用	(99)
第十一章 大鼠海马神经元的培养	(101)
一、海马神经元的发育	(101)
二、海马神经元的培养	(102)
三、海马神经元培养的应用	(108)
四、常见的问题和解决方案	(109)
第十二章 小脑细胞的培养	(111)
一、小鼠小脑细胞的微孔培养	(113)
二、胚胎小脑细胞的制备	(116)
三、小脑神经元与神经胶质细胞的分离纯化	(116)
四、培养的小脑细胞的特征	(117)
五、培养的小脑细胞的应用	(118)
第十三章 大鼠中脑腹侧多巴胺神经细胞的培养	(120)
一、大鼠中脑腹侧神经细胞培养的方法	(122)
二、星形细胞饲养层的制备	(123)
三、中脑腹侧神经细胞的培养	(126)
四、中脑腹侧多巴胺神经元的特征	(129)
五、培养的中脑腹侧多巴胺神经元的应用	(131)
第十四章 神经干细胞的分离和培养	(135)
一、大鼠胚胎海马神经干细胞培养	(136)
二、成年大鼠纹状体区神经干细胞培养	(137)
三、大鼠胚胎神经嵴干细胞的直接分离和培养	(138)
四、人胚胎组织干细胞的直接分离和培养	(139)
五、成人嗅球神经干细胞培养	(140)
六、神经干细胞培养的应用	(141)

第十五章 大鼠嗜铬细胞瘤株 PC12 的培养和应用	(144)
一、PC12 细胞的常规培养	(144)
二、神经生长因子的处理	(147)
三、PC12 细胞的转染	(149)
第十六章 鸡胚神经节细胞的培养	(154)
一、鸡胚神经节细胞研究的优点	(154)
二、培养的条件和方案	(155)
三、鸡胚神经节细胞的分离和培养	(156)
四、培养的神经节细胞的特征	(159)
五、鸡胚神经节细胞的应用	(159)
第十七章 视网膜神经节细胞的培养	(161)
一、视网膜神经节细胞的组织块培养	(162)
二、视网膜神经节细胞的分离培养	(163)
三、视网膜神经节细胞的鉴别	(164)
四、视网膜神经节细胞培养的应用	(165)
五、视网膜神经节细胞培养的影响因素	(166)
第十八章 神经元的微岛培养和应用	(168)
一、微岛培养的步骤	(169)
二、微岛培养的神经元存活和生长	(174)
三、微岛上不同神经元的共培养	(175)
四、神经元微岛培养的应用	(176)
第十九章 原代培养神经元的转染技术	(177)
一、磷酸钙介导法	(177)
二、脂质介导的转染	(179)
三、显微注射法	(182)
四、生物弹道法	(182)
五、病毒转染法	(182)
第二十章 培养的神经细胞数量和活力的检测	(188)
一、细胞数量的确定	(189)
二、细胞生长能力分析	(192)
第二十一章 培养细胞凋亡研究的常用方法	(198)
一、细胞凋亡的形态学检测方法	(199)
二、细胞凋亡的琼脂糖凝胶电泳检测方法	(204)
三、细胞凋亡的末端标记检测方法	(206)
四、细胞凋亡的流式细胞仪检测方法	(209)
第二十二章 免疫染色技术在神经细胞培养中的应用	(214)
一、抗体	(215)
二、细胞的固定	(217)
三、细胞免疫染色	(218)

四、培养的神经细胞免疫染色方案	(222)
五、疑难解析	(225)
第二十三章 培养细胞的电镜样本制备	(227)
一、培养细胞常规电镜样品的制备	(227)
二、培养细胞的免疫电镜研究	(231)
参考文献	(237)
附录 1 国内外已建立的部分神经细胞株或细胞系	(241)
附录 2 英(拉)汉词汇对照表	(243)

第一章 概 论

神经科学(neuroscience)是现代科学中进展最为迅猛的研究领域之一,它成为生命科学的发展前沿已是众多科学家的共识。神经科学的研究目的在于了解神经系统内分子水平、细胞水平及细胞之间的变化过程,以及这些过程在中枢功能控制系统内的综合作用。神经科学的许多研究,如对神经元、神经细胞膜、神经递质和受体等方面的研究,早已突破形态、生理、生化、药理等学科的界限,出现互相渗透甚至融为一体的现象。神经网络的研究成果更是拓展到生物领域之外,与电子学、信息学等学科交汇渗透。神经科学的快速发展引起了人们对探索人脑自身奥秘的极大兴趣,也引起了全球各国政府和有关机构的普遍重视。1989年美国国会参众两院将20世纪90年代定为“脑的十年”,提出了在该10年内所要解答的神经科学50个重要课题,这是美国历史上第一次将某个学科领域定为国家的“科学年”,标志着脑的研究已受到全社会更大的重视,脑的科学已出现一个蓬勃发展的时期。成立于1969年的美国神经科学学会,到目前为止已有3万多会员,成为美国生物科学界最庞大的学术组织之一。1995年国际脑研究组织(International Brain Research Organization, IBRO)提议将本世纪(21世纪)称为“脑的世纪”。世界各国都加大了神经科学研究经费的投入,研究机构和人员队伍也日益壮大,同时也取得了巨大的成就。三十多年来,已有十几位神经科学家荣获诺贝尔医学和生理学奖,2000年度的诺贝尔医学和生理学奖就是由三位神经科学家所分享。

神经系统由中枢神经系统(central nerve system, CNS)与外周神经系统(peripheral nerve system, PNS)组成,中枢神经系统由脑和脊髓组成,外周神经系统包括颅神经和脊神经。中枢神经系统可将外周神经系统所收集的信息进行处理、整合,然后再发出指令指导所支配的各个部分协调行动。除此之外,大脑还具有学习、记忆、情感和思维等高级神经活动的功能,而外周神经系统则负责信息的感受、收集和指令的下达。神经系统,特别是高等动物和人的脑是自然界最复杂的一种系统,是最为复杂和高度有机构成的器官。人体的许多生理功能都不如某些动物,但人却能成为万物之灵,就在于人具有创造性思维的大脑,有了人类的创造性思维和劳动,世界才会如此多姿多彩。随着物理学、化学和分子生物学等基础学科的进展,以及由它们引伸出的各学科与技术的建立并取得长足进步,神经这个自然界最复杂的系统必然成为越来越多研究者关注的对象,揭示人脑奥秘是生命科学飞速发展的必然,社会的发展要求人类更明智地控制自己的行为,最大程度地发挥聪明才智,现代神经科学的崛起体现了人类社会继续发展和生存的需要。

现代人面临着种种社会、环境压力,竞争意识,以及工作、生活方式等导致身心经常处于高度应激、疲劳、紧张的状态,与物质文明相伴而生的“富贵病”、精神沉沦以及各种危及精神健康因素的增加,都使神经、精神性疾病,包括忧郁症、脑血管病变等医学问题显得更为突出。社会、经济和生活状况的不断改善,也使得世界性人口老龄化趋向逐渐突显,不论发达国家或发展中国家,人口老龄化都将成为一大社会难题,随着老龄化所出现的神经

退行性疾病的增多,以及老年人的心理和精神障碍,都对医疗保健事业提出严峻的挑战。脑的老化能否推迟?受损的神经元能否再生?缺失的神经功能如何修复?神经营养因子能否促使神经细胞再生并防止其退行性变?神经药物如何更好地发挥其作用?能否明确定位遗传性神经疾病的致病基因?如何进行神经疾病的基因诊断和基因治疗?等等。要解决这些问题,归根结底就是要更好地保证神经系统的健康发育,更有效地发挥神经系统的正常功能和防治它的各种病变,减少病人的痛苦,减轻家庭和社会的负担。因此,探讨神经性疾病的发病机理和预防对策是现今社会日益迫切的需要,也是神经科学研究者的责任。

神经系统主要由两类细胞组成,即神经元(neuron)和神经胶质细胞(glia),正是这些神经细胞之间千丝万缕的有机联系,构成高度复杂的神经网络。神经系统的任务是接收、发放、处理、贮存和提取信息,这些任务都是通过其基本单位——神经细胞来完成的。因而,要研究神经系统及其功能、病变及修复的机制等,就必须研究神经细胞的生物学特性、它们之间的通讯联系等等,而神经细胞培养(nerve cell culture),就是一种进行神经科学研究非常有用的实验手段。细胞培养就是在体外模拟体内生理环境,在无菌、适当温度和一定营养条件下,使细胞生存和生长并维持其形态和功能的方法。通过相对简单的体外培养系统,研究者能够在体外控制细胞的培养条件,如在培养液内加入某些物质或从培养液中撤除某些物质,就可以较准确地了解、分析引起细胞发生反应的事件和原理。而且,通过分离培养体内不同神经组织区域、不同发育时期的细胞,可了解这些事件的发生在时间、空间上的联系。采用细胞培养进行研究具有明显的几个优点:①研究的对象是维持于生命活动状态,它能够真实地反映活细胞形态、结构和生命活动的情况;②可以并且容易对研究的条件进行人为地控制,并能保持其相对恒定,利用培养的细胞能够进行一些在体内无法实施的研究内容;③研究的样本可以具备较高的均一性,如采用细胞系进行研究,各自独立的实验有统一的判定标准;④研究的内容便于直接观察和检测,并能维持较长时间的动态观察;⑤研究的费用相对较低,可同时获得大量生物性状相似的实验对象。当然目前体外培养的条件尚无法完全模拟体内的状况,培养的细胞与体内相应者存在一定的差异,因此要利用体外培养的神经细胞进行研究,必须了解神经细胞在体外培养的生物学特点,比较它们在培养条件下与在原位组织时的一致性和不同点,对所获得的实验结果应进行客观的分析和评价。

神经细胞具有与其他体细胞明显不同的生物学特点与形态特征。神经元是形态各异,功能复杂,所含化学性递质繁多的特化细胞。在一般的体外培养条件下,成熟的神经元不再分裂增殖,并需要神经胶质细胞支持、营养和参与其功能活动。因此神经细胞的培养与其他体细胞的培养有所不同,具有其特殊性。不同类型的神经细胞所适应的培养条件可能不同,而且,不同发育阶段的神经细胞,以及不同组织区域的神经细胞所需要的培养条件,所采用的分离、培养方案也都有所差别。为了维持神经元的存活、生长和分化,除了常规的培养基外,往往还必须考虑底物、特殊添加成分、生物因子等等,这些因素在神经细胞培养中尤为重要。随着愈来愈多有关生物因子的发现和它们作用机制的明了,以及它们的商品化产品的出现,神经细胞培养,特别是一些特异神经元的培养将会变得相对容易和简化。神经细胞培养有许多不同的方案,应根据不同的研究目的,选用不同的培养方法,例如,采用分离培养的细胞,通过形态学和电生理学检测可从单个细胞中获得相互关

联的生物化学、形态学和电生理学的资料。而采用重聚集培养能够更近似模拟体内细胞生长和发育的环境,能够形成以三维结构生长的细胞群体,细胞无论在形态学还是生物化学方面的性质都更相似于体内的情况,更适用于研究细胞之间、细胞群体之间的相互联系和作用。

现代组织培养技术的建立和发展已走过近一个世纪的历程,神经细胞培养技术在 20 世纪 70 年代开始推广应用,目前组织、细胞培养已成为一种在医学和生物科学研究中普遍应用的手段,在神经科学研究中尤为突出。细胞培养是一种程序较复杂、条件要求严格的实验性工作,细胞培养的质量将直接影响到研究工作的进展,首先它是实验的对象、基本材料,细胞培养不好将导致“无米之炊”,而且,细胞培养的质量也将影响实验结果的真实性和可靠性。因此细胞培养并非仅仅是一种操作性技术,要达到一定的水平,还需要了解、掌握其基本原理,具备许多与之相关的理论知识,才能培养出高质量的细胞,并有所发现、有所创造。

后续各章将介绍与神经细胞培养有关的理论知识和具体的实践方案,它不仅可供已从事神经细胞或组织培养的人员参考,而且将引导初学者入门。其中包括常用的各种神经细胞的培养方法,以及相关的一些实验技术,除了其可操作性外,还注重于介绍这些培养方案的基本原理,以及注意事项,使读者不但能够培养好神经细胞,获得有关的理论知识,而且还可在在此基础上灵活应用,或对这些方案进行改良使之更适合于不同的研究目的。

第二章 神经元和神经胶质细胞的结构与功能

一、神经元	4	(五)神经元的细胞骨架	8
(一)神经元胞体	6	二、神经胶质细胞	8
(二)轴突	6	三、神经元和神经胶质细胞的鉴别	10
(三)树突	6	四、亚细胞定位的特异标志物	12
(四)突触	7		

神经组织主要由神经元和神经胶质细胞组成,人脑内神经元的总数估计为 $10^{10} \sim 10^{12}$ 个,神经胶质细胞数为神经元数量的 10~50 倍。正是这些大量的神经细胞之间错综复杂的联系,决定着神经系统的结构和功能。神经元是神经系统的基本构件,能产生、感受、扩布神经冲动,并将神经冲动传递给其他神经元或效应细胞,并且能合成和释放信息分子(如神经递质、神经调质等)以及其他维持细胞生命活动所需的活性物质。神经胶质细胞是神经系统的间质细胞或支持细胞,分布于神经元之间,神经胶质细胞在神经系统的发育、神经冲动的传递、神经组织的修复与再生,以及神经免疫等方面都起着重要的作用。

一、神经元

神经元具有两个明显不同于体内其他类型细胞的特性。第一,神经元可感受刺激并传导神经冲动,可远距离传导生物电信号,而且信号的强度不会随距离的增加而减弱;第二,神经元与其他神经细胞以及所支配的组织,如肌肉和腺体等均有特殊的联系,这些联系决定了一个神经元所能接受信息的类型,以及它能产生反应的范围。

根据神经突起的数量基本上可将神经元分为三大类:(1)单极或假单极神经细胞,先从胞体伸出一根突起,然后再分为轴突和树突,它们是位于背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)和大脑神经节以及脑干三叉神经中脑核的感觉神经元。(2)双极神经细胞,从胞体两端各发出一根轴突和一根树突,位于前庭耳蜗神经的前庭和耳蜗神经节、视网膜和嗅上皮的神经元均为双极神经细胞。(3)多极神经细胞,它们具有一根轴突和一根以上的树突,是神经系统中数量最多的一类神经细胞,包括运动神经元、中间神经元、大脑皮层的锥体细胞和小脑皮层的浦肯野细胞等。

一个典型的神经元有四个形态学上的特定区域:细胞体(soma,由细胞核和核周体组成)、轴突(axon)、树突(dendrits)和突触前末梢(presynaptic terminal)(图 2-1)。不需要高分辨率的电子显微镜就可识别代表神经细胞特征的这些结构。神经元的胞体虽然只是

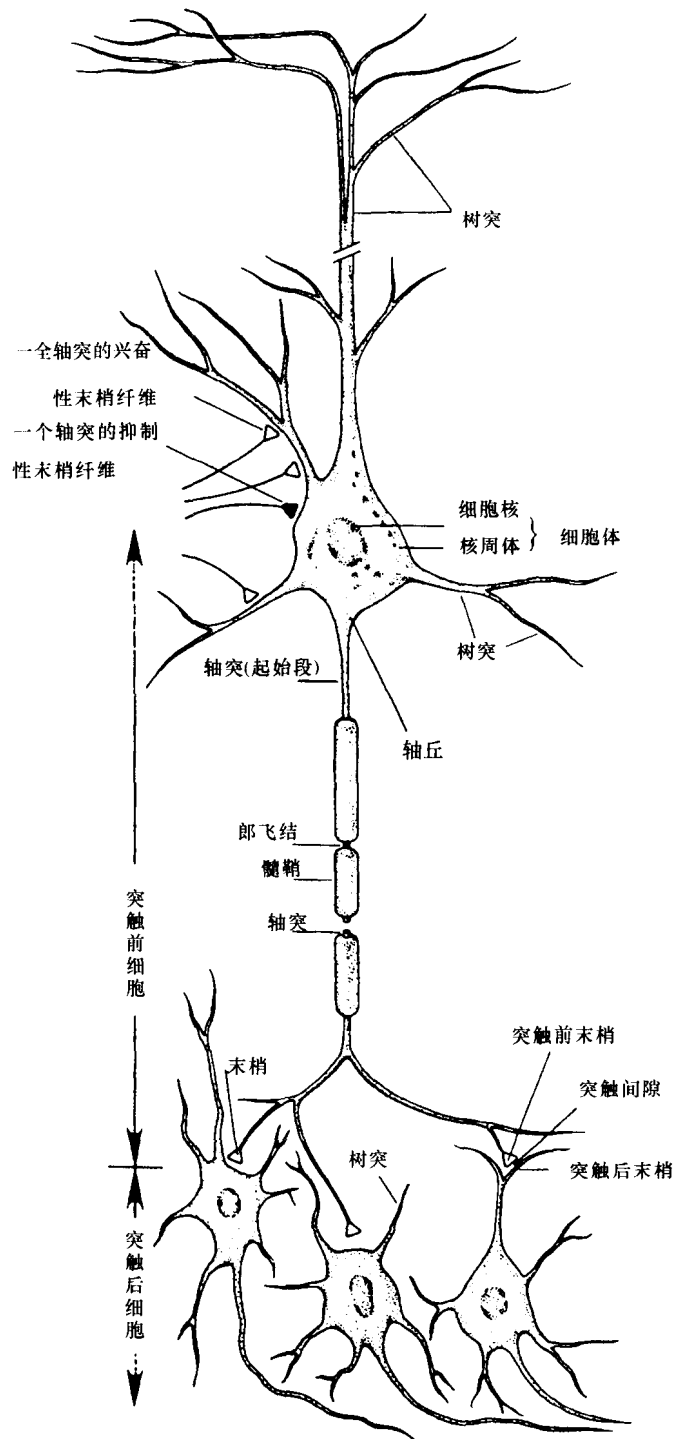


图 2-1 典型脊椎动物神经元的主要特征

(引自 Kandel ER et. al., Principles of Neural Science, 1991)

神经元的一小部分(在容积和表面积上),但它却是维持和指导整个神经元代谢和功能活

动的中心。胞体延伸出来的突起(process),包括轴突和树突是形成细胞间相互联系的结构。神经元的突起之间、突起与胞体之间、或轴突与效应细胞之间均可形成信息传递的特化结构——突触(synapse)。在一个完整的神经系统中,神经元相互联系的形式相当复杂,它们之间复杂而有机的联系是神经系统精确实现各种信息调节和整合的基础。

(一) 神经元胞体

神经元胞体的大小、形状差异很大,其结构组成与其他体细胞基本一致,包括细胞核、胞质和质膜等。一般来说,神经元含有一个大而圆或卵圆形的核,常位于胞体的中心,有部分神经元的核常偏于胞体的一侧。在光学显微镜下,神经细胞的核染色较浅,核内有1~2个深染的核仁,核膜轮廓清晰。生活状态神经元的胞质呈胶体状,位于细胞核周围的胞质称为核周体(perikaryon),位于轴突内的胞质称为轴浆(axoplasm)。神经元胞质内含有丰富的核糖体、粗面内质网,表明神经元蛋白质合成与代谢的机能特别旺盛。神经元突起中代谢和功能活动所需的蛋白质和酶类,绝大部分是在胞体合成之后,再运送到突起的相应部位。在普通光学显微镜下,可见胞质中有大量被碱性染料着色的尼氏体,它的大小及分布随神经元的不同而异。在电镜下观察,尼氏小体是由大量平行排列的粗面内质网和夹杂其间的核糖核蛋白体构成。当神经元受到损害时(如轴突断裂),尼氏小体即逐渐分解以致消失,这种现象称为染色质溶解。神经元膜除了进行信息传递、物质运输、代谢调控、识别与结合等生物学功能外,还具有神经冲动的发生和扩布等许多独特的生理功能。神经元的胞体可接受来自各方面信号的影响,通过其整合之后做出兴奋性或抑制性的反应。

(二) 轴突

轴突是神经元的主要传导单位,通常一个神经元只有一根轴突,它多由细胞体一个呈锥形隆起的特殊区域——轴丘(axon hillock)发出,但也可从主干树突的基部发出。轴丘在形态上是一个缺乏粗面内质网和游离核糖体的锥形或扇形区域,光镜下呈浅染,电镜下可见大量的神经细丝和微管。轴突一般较细长,呈管状,直径为 $0.2\sim 20\mu\text{m}$,表面光滑而均匀。轴突主干的粗细基本一致,在途中分支很少,其分支常自主干呈直角发出,构成侧支(collateral branch)。通常将外包有神经胶质细胞(髓鞘)的长轴突称为神经纤维,根据有无髓鞘而分为有髓鞘神经纤维和无髓鞘神经纤维。多数轴突都外被有髓鞘,在轴突的末端常分为纤细的终末,失去髓鞘。一些神经元的轴突末梢出现大量分支,并且形成串珠样膨大,这些在纤细的神经末梢上间隔出现的膨大部分,称为曲张体(varicosity)。轴浆内不含有核蛋白体(常作为电镜下鉴别轴突的标志),不能合成蛋白质,轴突末梢所需的蛋白质和活性物质是从胞体通过轴浆运输(axoplasmic transport)而来。

(三) 树突

树突是神经元从其他神经细胞接受输入的主要装置,可看作神经元胞体的延伸部分。

树突从胞体发出的部分呈光滑的锥体状,树突干一般呈锐角反复分支、越分越细,在银染光镜检查时,树突的分支看上去就像冬季叶子落光的树枝。各类神经元的树突分支变化很大,而且一个神经元通常有几种不同的树突,长短不一,有分支或无分支,并可发出反馈到轴突起源的神经细胞的侧支,它们的不同主要与神经元感受性的程度和大小有关。当神经元的树突较多时,可形成树突树,有些神经元的树突细支可呈念珠状,有不规则的膨大部 and 细窄部。多数树突干表面可发出多种形态的细小突起,称为树突棘(dendrite spine)。树突全长各点都可与其他神经元的轴突末梢形成突触。由于树突是胞体的延伸部,所以核周体所含的细胞器——尼氏体、高尔基器、游离核糖体、微管、神经微丝等皆可进入树突内。但是,从树突的近侧到远侧,随着树突分支越来越多,越来越细,一些细胞器逐渐减少,如高尔基器消失最早,很难逾越过第一级分支,尼氏体也只见于树突的起始段,而粗面内质网和核糖体则始终贯穿于树突全长,这是在电镜下辨认树突和轴突的要点。轴突和树突的主要区别点见表 2-1。

表 2-1 轴突和树突的主要特点

轴 突	树 突
一般为单根	多为一根以上
从胞体或树突主干的基部发出	从胞体发出
从胞体发出的起始部为轴丘	无轴丘样的区域
起始段较细,轴膜内面衬有薄层致密的内衣 较细长,长度不一,最长可达数米	起始段的主干树突最粗,细胞质成分与核周体相似 一般较轴突短得多
外形光滑,主干均匀呈圆柱状	分支逐渐变细,一般不均匀或表面有树突棘
通常有髓鞘	无髓鞘
分支常呈直角从轴突主干发出	树突主干呈锐角反复分支
一般近侧段微丝多于微管,远侧段少于微管	主干树突及其分支皆以微管为主
小轴突均匀细小成束分布	小树突多单个分布,外形不规则,最小树突皆比小轴突粗
轴浆不含有核蛋白体和 RNA	树突全长含有核蛋白体和 RNA
含微管聚合蛋白(tau protein)	含 MAP2

(四) 突触

突触是神经元与神经元、神经元与效应器及神经胶质细胞之间的一种特殊联系结构。每个神经元都有影响其他神经元的能力,这种复杂的神经联系就是由突触来传递的。按功能可将其分为两大类:电突触和化学性突触。前者的突触前电信号可直接传导到突触后神经元;后者是通过分泌神经递质使突触前、后神经元之间产生相互联系,由突触前神经元释放的化学物质通过激活特异的受体分子,在突触后神经元产生继发电流。神经递质的分泌是通过电压门控的 Ca^{2+} 通道使突触前末梢内 Ca^{2+} 浓度升高而触发的。 Ca^{2+} 浓度的升高引起贮藏神经递质的突触囊泡(synaptic vesicle)与浆膜融合,并释放递质到突触前与突触后神经元之间的突触间隙(synaptic cleft)。

突触是具有特征性的细胞接触带,在电镜下观察,化学性突触包括突触前部、突触后部和突触间隙。突触前部较显著的结构是轴突末梢膨大的区域(曲张体),其中聚集有大

量的突触囊泡。这些突触囊泡有大小两种:小而清亮的突触囊泡和大的致密核心囊泡,前者含有经典的神经递质,后者主要含有肽类物质。小囊泡形态可为圆形、扁平及不规则形,囊泡的形状及染色特性与它们含有的神经递质的成分有关。突触后膜的胞浆面有一层电子密度很强的致密物质附着,称为突触后膜致密区。不同种类的突触,其突触后膜致密区的厚度不一,约为 50~60 nm。突触后膜致密区的化学成分包括 70 多种蛋白,其中肌动蛋白、脑血影蛋白和钙调蛋白等以大分子复合物的形式存在,起着结构基质的支架作用;突触后膜致密区还含有其他蛋白,如离子通道蛋白、受体蛋白、各种糖蛋白、微管蛋白、微管结合蛋白,以及与第二信使有关的酶类,如各种蛋白激酶、腺苷酸环化酶等。突触前后膜之间的突触间隙的宽度在不同类型的突触中并不完全相同,一般为 20~40 nm,这也是电镜下判断突触结构的指标之一。

(五) 神经元的细胞骨架

神经元的细胞骨架由丝状结构组成,包括微丝、微管、中间丝等,虽然其他类型的细胞也含有这些成分,但在神经元,细胞骨架的某些特性与神经元复杂的形状有关。

微管(microtubule)是包括神经元在内的所有真核细胞中存在的一种具有蛋白质性质的细胞器,是由许多蛋白亚单位装配成的长管。电镜下,微管中心是电子透明的圆柱状空腔。在神经元内,微管的长度变化很大,最长可达数米,微管的基本化学成分是微管蛋白。此外,神经元的微管还存在一种非微管蛋白的蛋白质,称为微管相关蛋白(microtubule associated protein, MAP),这种蛋白质的功能是促进微管的装配,并与微管的定位有关。在树突中的微管含有高分子质量的微管相关蛋白 2(MAP2),而轴突则缺乏 MAP2,但含有一种 50~60 kDa 低分子质量的 MAP,称为微管聚合蛋白(tau protein)。微管与轴浆内运输的快相物质运输直接相关。

微丝(microfilament)为直径 5~6 nm 的双股螺旋的细丝,主要由肌动蛋白组成,微丝还含有肌球蛋白、原肌球蛋白和辅肌球蛋白。在肌动蛋白与肌球蛋白丝结合过程中,激活了肌球蛋白的 ATP 酶活性,使肌动蛋白分子上的 ATP 水解,提供能量引起微丝收缩。在神经元中活动较活跃的部分,如轴突的生长锥和树突棘均含有较多的微丝。

神经微丝(neurofilament)是由分子质量分别为 70 kDa、140 kDa 和 220 kDa 的三种蛋白质组成。神经微丝在神经元内以树突的近端及轴丘最多,而在轴突的生长端和树突棘中均不存在。神经微丝主要起支持作用,也可能与微管、微丝一起担负着神经细胞内物质运输的任务。

二、神经胶质细胞

神经系统的间质细胞或支持细胞有许多种,它们统称为神经胶质细胞(neuroglia),分布在神经元之间,其数量为神经元的几十倍,有特定的形态和功能。分布在外周神经系统的神经胶质细胞主要为施万细胞,中枢神经系统的神经胶质细胞有星形胶质细胞(astrocyte)、少突胶质细胞(oligodendrocyte)、小胶质细胞(microglia)、室管膜细胞(ependymocyte)、小脑的 Bergman 细胞和视网膜的 Muller 细胞等。