

实验研究

用辣根过氧化酶(HRP)法研究家兔“阳陵泉”区的感觉支配节段

北京中医学院

邱树华 许红 郝晓雪 吴海霞

综观对针刺和针麻机制的实验研究,许多工作以家兔为对象,但家兔各穴区的感觉支配节段在国内、外均无报告,而明确此支配节段对阐明针刺和针麻的机制,具有意义。

材料和方法

共用健康家兔24只(雌4、雄20),重量为2.25~4.0kg。其中,1.用3只动物在其一侧“阳陵泉”区注射50%HRP(中国科学院上海生物化学研究所产,Rz:2.0~2.5)10 μ l,注射深度约0.6cm,存活6~7天;2.用3只动物在其一侧“阳陵泉”区包埋HRP(Boehringer, Grad II, 以下同)2mg,切口长约0.5cm,深约0.6cm,存活6~7天;3.用5只动物在其一侧“阳陵泉”区包埋HRP3mg,存活3~5天;4.用11只动物在其一侧“阳陵泉”区包埋HRP3mg,存活6~8天;5.用1只动物由其耳静脉注入50%HRP10 μ l,存活8小时;6.用1只动物在其一侧臀部切断坐骨神经后,在该侧“阳陵泉区”包埋HRP3mg,存活6天。后两只动物用以探讨HRP是否可由静脉或神经以外的道路进入脊神经节。

所有动物都按以前步骤灌注固定^①。灌注后取出腰骶部双侧脊神经节,用同样固定液固定1~2小时,放入含5%蔗糖的磷酸缓冲液中过夜。冰冻切片40 μ m。切片收集入含0.05%3,3'-二氨基联苯胺盐酸盐(3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrochloride)的Tris-HCl缓冲液中,37 $^{\circ}$ C,30分,再入含H₂O₂的上述缓冲液中,室温(17~20 $^{\circ}$ C),30分。然后贴片、烘干、脱水、透明、封片。在明视野和暗视野显微镜下观察。

结 果

一、只是“阳陵泉”区包埋3mg存活6~8天的动

物,在其包埋侧脊神经节内见到标记细胞(图1~6,见插图3),这组实验动物的非包埋侧脊神经节内,以及其他各类实验动物双侧脊神经节内,均不见标记细胞(见表1)。

表1 实验与标记总结表

给 药 方 法	动物数	动 物 号	存活时间	标记否
穴区注射50%HRP 10 μ l	3	1. 2. 3	6~7天	无
穴区包埋 HRP 2mg	3	4. 5. 6	6~7天	无
穴区包埋 HRP 3mg	5	8.10.12.14.15	3~5天	无
穴区包埋 HRP 3mg	11	7.9.11.13.16.17.18.19.20.21.22	6~8天	有
静注50% HRP 10 μ l	1	23	8小时	无
切断坐骨神经加穴区包埋 HRP 3mg	1	24	6天	无

二、出现标记细胞的节段,各动物不同,总括各动物,共为L₆、L₇、S₁、S₂各节(见表2)。

表2 标记细胞的分布(包埋侧)

动物号	7	9	11	13	16	17	18	19	20	21	22
L ₆ 以上	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无
L ₆	有	无	无	无	无	有	有	无	无	无	无
L ₇	无	有	有	无	有	有	无	无	有	有	有
S ₁	无	有	有	有	有	无	有	有	有	有	有
S ₂	无	无	无	无	有	无	有	无	有	有	有
S ₂ 以下	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无	无

每只动物或各动物之间,各节标记细胞的数目也不一致。未作统计处理只以镜下初步计数,以L₇出现

的标记细胞数目较多,但似也不超过该全节细胞总数的 $1/10$ 。因而,推测家兔“阳陵泉”区深层由 $L_6 \sim S_2$ 支配,似以 L_7 为主。

三、初步测量了112个带核轮廓的标记细胞,其中最大径在 $46\mu m$ 以上者为96个,占85.7%; $46\mu m$ 以下者为16个,占14.3%。若以此径值区别细胞之大小,则以大细胞标记最多。

四、对注射或埋药的穴区观察,看到局部的结构主要为肌肉。药物在局部肌肉内,无何扩散。腓神经干在穴区下方距穴区半公分以上斜向前下,与给药部有肌肉隔开,且不见神经近周有浸染现象。故认为施与穴区的HRP,是由该区的神经末梢摄取。

讨 论

一、关于“阳陵泉”穴区的感觉支配节段:在针灸文献中,关于人“阳陵泉”区的神经分布已有研究⁽²⁾。但家兔此穴区的神经支配及其支配节段,尚无报道。据杨安峰等之记载⁽³⁾,在家兔,由第7腰神经和第1、2骶神经的腹支组成坐骨神经。后者下行到大腿下 $1/3$ 处分为两主干,即腓神经和胫神经。依腓神经之行径,它的分支可能支配“阳陵泉”区。惟腓神经的组成的纤维来自 $L_7 \sim S_2$,可是,本研究发现在 L_6 脊神经节内亦有少数标记细胞。推测有两种可能:一是 L_6 节可能亦有感觉纤维参与腓神经之内;二是 L_6 节之纤维可能亦有经股神经分布到“阳陵泉”区的。

在针灸专著中,谓针刺“阳陵泉”可治下肢痿痹、膝肿痛等。“阳陵泉”穴区的感觉支配节段,正是发出神经支配下肢肌肉和关节之节段,因此,其治疗机制可能包括同节反射之效应。在文献中亦有提及针刺“阳陵泉”也可治疗胆囊疾病,但近年有研究指出针刺狗“阳陵泉”穴,未见对胆囊有何影响⁽⁴⁾。

二、从标记细胞之大小,看“阳陵泉”穴区传入纤维之粗细:从我们的实验可知,在“阳陵泉”区包埋HRP后,标记细胞以大细胞为主。据记载⁽⁵⁾,胞体大者,其突起亦粗,胞体小者,其突起亦细,因此,可推测“阳陵泉”区内分布的神经纤维以粗者为主。依吕国蔚等之研究⁽⁶⁾,电针刺激具有显著镇痛作用的“足三里”穴,主要兴奋I、II类粗纤维。我们在“阳陵泉”穴区的结果,对他们的观察是一间接的支持。

三、关于HRP的逆传速度相差很大。这与所用动物、注射部位以及纤维之不同等有关。Corvaja等⁽⁷⁾

谓在两栖类每天大约10~12mm。LaVail等⁽⁸⁾认为在雏鸡视系统每天至少72mm。我们在包埋HRP 3mg存活3~5天的动物,不见标记细胞,而同样包埋但存活6~8天,即可见标记细胞。因此,我们倾向认为HRP在家兔周围神经内的逆传速度似乎较慢。

四、关于HRP的浓度:在文献中有用80%者⁽⁹⁾,也有用1%者⁽¹⁰⁾,相差甚殊。我们在实验中看到,向穴区注射50%HRP或包埋HRP 2mg存活6~7天,均不见标记细胞,而包埋HRP 3mg亦相似的存活时间,即可见标记细胞,因此,我们倾向认为,为了得到标记细胞,以用较高的浓度为宜。

小 结

1. 家兔“阳陵泉”穴区的感觉支配节段为 L_6 、 L_7 、 S_1 、 S_2 ,似以 L_7 为主;
2. 共测量了112个带核轮廓的标记细胞,其中最大径在 $46\mu m$ 以上者96个,占85.7%;以下者16个,占14.3%,从而推测“阳陵泉”穴区的神经分布以粗纤维为主。

参 考 文 献

1. 邱树华:用辣根过氧化酶法研究大白鼠尾核头部自皮质下核团的传入联系.解剖学报10(1):62,1979
2. 江凯采等:十二经循行部位及其穴位与人体结构关系的解剖观察.上海中医学院学报1(1):57,1960
3. 杨安峰等:兔的解剖,133页,科学出版社,1979
4. 孙福立等:针刺胆经穴位对狗胆囊收缩功能的影响.新医药学杂志6:57,1979
5. 王有琪主编:组织学,104页,人民卫生出版社,1965
6. 吕国蔚等:“足三里”穴针刺镇痛点的传入纤维速度谱.动物学报27(1):28,1981
7. Corvaja N, et al: Slow rate transport of HRP in toads. Brain Res 128: 537, 1977
8. LaVail J H, et al: Retrograde axonal transport in the central nervous system. Science 176(2): 1416, 1972
9. Edwards S B: The commissural projection of the superior colliculus in the cat. J Comp Neur 173: 23, 1977
10. Lynch G, et al: Horseradish peroxidase histochemistry: a new method for tracing efferent projections in the central nervous system. Brain Res 65: 373, 1974