

猕猴下丘脑-垂体-肾上腺轴组织结构学特征观察

董婷玉^{1,2,3}, 郭梦慧^{1,2,3}, 许昌勇^{1,2,3}, 蒋海峰^{1,2,3}, 张磊^{1,2,3},
许振^{1,2,3}, 刘潇一^{1,2,3}, 严尚学^{1,2,3}, 常艳^{1,2,3}, 魏伟^{1,2,3}

摘要 目的 观察猕猴下丘脑-垂体-肾上腺轴组织结构形态学特征,为模拟人的下丘脑-垂体-肾上腺轴的生理功能、病理反应提供参考。方法 猕猴安乐死后,完整取出下丘脑、垂体、肾上腺组织,经多聚甲醛(PFA)固定,制作石蜡切片及冰冻切片;HE染色观察基本结构及细胞分布状态;免疫组化法检测分泌的激素及受体;比较冰冻切片和石蜡切片染色的效果,对下丘脑组织的部分细胞组成进行鉴定。结果

下丘脑区域呈中空漏斗状,垂体状似豌豆,左右肾上腺位于两侧肝肾之间;HE染色显示下丘脑区域主要分布神经元和小胶质细胞,垂体分神经垂体、腺垂体,肾上腺由皮质和髓质构成;免疫组化检测到下丘脑分泌促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)并表达糖皮质激素受体(GR),垂体分泌促肾上腺皮质激素(ACTH)并表达促肾上腺皮质激素释放激素受体1(CRHR1)和GR,肾上腺表达促肾上腺皮质激素受体(ACTHR);冰冻切片免疫荧光的结果更好的显示出下丘脑中包含神经元和小胶质细胞。结论 本研究成功制作了猕猴下丘脑、垂体、肾上腺组织切片,并观察了其相关解剖学、形态学特征,为模拟人类下丘脑-垂体-肾上腺轴生理和病理反应提供参考方法。

关键词 猕猴;下丘脑-垂体-肾上腺轴;组织切片;HE染色;免疫组化;免疫荧光

中图分类号 R 331

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)07-1094-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.07.015

下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis,HPAA)由下丘脑、垂体、肾上腺组成,调节机体能量代谢,维护内环境^[1]。生理应激时,下丘脑分泌促肾上腺皮质激素释放激素(corticotro-

phin releasing hormone,CRH)促进垂体释放促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone,ACTH),使肾上腺分泌糖皮质激素(glucocorticoid,GC),GC又负反馈作用于下丘脑和垂体^[2]。HPAA异常时,体内稳态失衡,如自身免疫病患者长期使用GC,肾上腺皮质功能不全,皮质醇缺乏,炎症加重^[3]。库欣综合征表现为HPAA亢进,皮质醇分泌过多,诱发骨质疏松和感染^[4]。治疗此类疾病多为恢复HPAA功能,因此对HPAA生理及病理反应研究尤为重要。目前对HPAA的研究集中于啮齿动物^[5]或临床病例分析^[6],也有对麋鹿^[7]、水牛^[8]、树鼯^[9]等动物HPAA部分组织病理的特征观察,对非人灵长类HPAA全面系统性的组织结构特点却鲜有报道。与其他动物相比,非人灵长类具有与人类相近的基因序列和神经解剖结构,是进行脑部研究最理想的实验动物^[10]。本研究探讨了猕猴HPAA几种病理切片的制作方法,对组织结构做了详细描述,为更好的模拟人类HPAA生理和病理特征提供了技术方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级实验猕猴(雄性,年龄3~5岁),由旌德县皖南猕猴驯养繁殖基地提供[SCXK(皖)2020-001],饲养于安徽医科大学临床药理研究所普通级猴饲养中心,湿度:(40~70)%;温度:(21~26)℃;7:00 am~7:00 pm光照,自由摄取维持饲料和水,额外补充瓜、果、蔬、蛋、奶等食物来满足猕猴的营养需要,严格按照动物伦理福利规定的标准开展实验。所有实验方案均经安徽医科大学临床药理研究所动物伦理委员会审查批准同意(批号:PT-2020-001)。

1.2 实验试剂 注射用盐酸替来他明盐酸唑拉西泮(舒泰50)购自上海维克有限公司(批号:20082612C BN 82T7A)安徽公司;DAPI染色液、Triton-X、EDTA抗原修复液购自北京Solarbio公司;DAB显色试剂盒、通用型试剂盒(小鼠/兔聚合物法检测系统)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;苏木精染液、HE染液套装、抗荧光淬灭剂购自武汉Service-

2022-05-23 接收

基金项目:安徽高校重点科研平台协同创新项目(编号:GXXT-2020-065)

作者单位:¹安徽医科大学临床药理研究所,合肥 230032

² 抗炎免疫药物教育部重点实验室,合肥 230032

³ 安徽医科大学类风湿关节炎研究中心,合肥 230032

作者简介:董婷玉,女,硕士研究生;

常艳,女,博士,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: yychang@ahmu.edu.cn;

魏伟,男,博士,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: wwei@ahmu.edu.cn

bio 公司; 兔抗 CRH 抗体、小鼠抗 ACTH 抗体、兔抗 MAP2 抗体购自美国 Proteintech 公司; 兔抗 GR 抗体、兔抗 ACTH-R 抗体、兔抗 CRFR1 抗体购自美国 Immunoway 公司; 兔抗 iba-1 抗体购自日本 Wako 公司; 荧光标记山羊抗小鼠 IgG AF 488 购自武汉 Elab-science Biotechnology 公司; 荧光标记山羊抗兔 IgG AF 594 购自美国 Jackson 公司。

1.3 实验仪器 组织脱水机购于湖北康龙电子科技有限公司; 组织摊烤片机、包埋机购于湖北亚光医用电子技术有限公司; 石蜡切片机、冰冻切片机购于 Thermo Scientific 公司; 脱色摇床购于武汉 Servicebio 公司; 恒温烘箱购于上海福玛实验设备有限公司; 微波炉购于广东 Galanz 公司; 正置荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、全自动免疫组化染色仪购于德国 Leica 公司。

1.4 猕猴下丘脑 - 垂体 - 肾上腺组织取材与保存

在猕猴情绪平稳的状态下, 按 6 mg/kg 肌肉注射盐酸替来他明盐酸唑拉西泮至深度麻醉, 采用股动脉放血进行安乐死。在解剖台上分离躯干和头颅, 去除头部皮肤和附着肌肉, 用电锯从眉骨、颞骨、枕骨上方环状锯开, 揭开颅顶骨和软脑膜, 暴露并剥离出大脑, 冰上迅速取出下丘脑(图 1A), 从垂体窝中挑出垂体(图 1B), 同时打开腹部, 于肝肾之间取出左、右肾上腺(图 1C), 固定于预冷 4% 多聚甲醛溶液(PFA)中。

1.5 猕猴下丘脑 - 垂体 - 肾上腺组织石蜡切片制作 新鲜组织用 4% PFA 固定 24 h 以上, 修剪目标组织, 放入自动脱水机: 70%、80%、90%、95%、100% I、100% II 乙醇各 1 h, 二甲苯 I、II、III 各 30 min, 55 °C 融化石蜡 I、II、III 各 1 h。从脱水盒内取出组织放入包埋框内, -20 °C 冷却凝固, 修齐表面后用切片机切片, 厚 4 μm, 于摊片机 40 °C 温水上摊平, 载玻片捞片, 烘箱 60 °C 烤干取出, 室温保存。

1.6 猕猴下丘脑组织冰冻切片制作 4 °C 冰箱内, 新鲜组织用 4% PFA 固定 24 h 以上, 转入 20% 蔗糖溶液, 沉底后换 30% 蔗糖溶液, 再次沉底即可。脱水完成后取出, 修齐组织, 用 OCT 包埋剂将组织固定在样本托上速冻, 待 OCT 变白变硬即可进行切片。先粗切修齐组织面, 再细切, 厚度 8 ~ 10 μm, 粘附载玻片贴切片, -20 °C 保存。

1.7 猕猴下丘脑 - 垂体 - 肾上腺组织苏木精 - 伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色 石蜡切片首先经 60 °C 烘至蜡融化, 而后二甲苯 I、II 各 20 min, 100% I、100% II、95%、85%、75% 乙醇各 5 min,

流水冲洗进行脱蜡; 苏木精染色 5 ~ 10 min, 分化液分化 20 s, 返蓝 5 min, 流水冲洗后 85%、95% 酒精各 5 min, 行伊红染色 3 min; 最后经 75%、85%、95%、100% I、100% II 乙醇各 5 min, 二甲苯 I、II 各 20 min 脱水, 中性树胶封片。

1.8 猕猴下丘脑 - 垂体 - 肾上腺免疫组织化学染色 石蜡切片脱蜡后, 经 0.5% Triton-X 室温 30 min 通透; 用沸腾的 EDTA 抗原修复液余温修复切片 10 min; 内源性过氧化物酶阻断剂室温避光 10 min; 5% BSA 室温封闭 1 h; 滴加稀释后的一抗: CRH、ACTH、CRFR1(1 : 100); ACTH-R(1 : 200); GR(1 : 50), 湿盒内 4 °C 过夜; 次日拿出切片复温, 洗去一抗, 滴加与一抗相应种属的二抗, 室温 20 min; 滴加新配制的 DAB 显色液, 镜下控制显色时间, 流水冲洗终止显色; 苏木素染色 20 s, 分化, 返蓝, 流水冲洗后脱水封片。

1.9 猕猴下丘脑组织石蜡切片免疫荧光染色 切片同上述方法脱蜡、通透、抗原修复、封闭后, 滴加稀释的一抗: iba-1(1 : 500)、MAP2(1 : 100), 湿盒 4 °C 过夜; 第二日拿出切片复温, 洗去一抗, 滴加与一抗相应种属的荧光二抗, 室温避光 1 h 后 DAPI 染液室温避光 10 min 染细胞核; 自发荧光淬灭剂室温避光 5 min; 抗荧光淬灭封片剂封片, 盖玻片四角用中性树胶固定, 4 °C 避光保存。切片于激光共聚焦显微镜下观察采集图像。

1.10 猕猴下丘脑组织冰冻切片免疫荧光染色 冰冻切片于 37 °C、(10 ~ 20) min, 4% PFA 固定 30 min 后, 用 5% BSA 和 0.5% Triton-X 混合液室温封闭通透 1 h; 而后同上述 1.9 的方法进行一抗、二抗孵育、DAPI 染核、淬灭组织荧光、封片、镜检。

2 结果

2.1 猕猴下丘脑、垂体、肾上腺组织解剖形态学观察 从脑底面观, 下丘脑位于丘脑沟以下, 前方是视交叉, 呈现中空漏斗状, 重量约为 2 g, 主要包括乳头体、结节部和视上部(图 1A、B)。揭开全脑, 断开视交叉, 可见垂体陷于颅骨蝶鞍垂体窝内, 剥离硬脑膜, 挑出垂体, 形似直径 5 mm 的碗豆状结构(图 1C、D)。肾上腺左右各一, 位于两侧肾脏的上方, 被肾筋膜和脂肪组织所包裹, 左肾上腺稍大, 如半月形, 右肾上腺稍短, 为锥形(图 1E、F)。

2.2 猕猴下丘脑、垂体、肾上腺组织病理切片 HE 染色

2.2.1 下丘脑组织病理切片 HE 染色 主要分布着神经元细胞和小胶质细胞(图 2B▲), 正常神经元

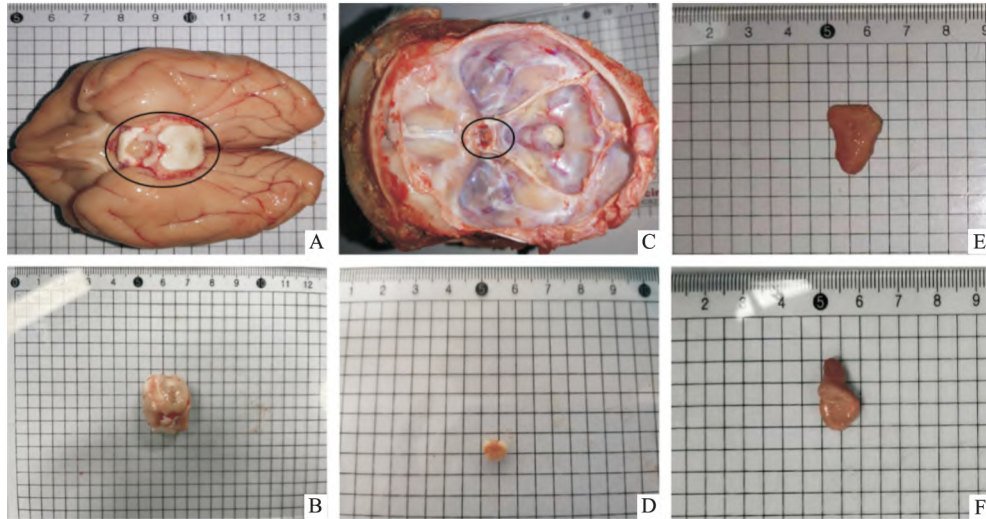


图1 猕猴下丘脑、垂体、肾上腺组织解剖形态学

A: 全脑底面观; B: 下丘脑; C: 颅底垂体窝; D: 垂体; E: 左肾上腺; F: 右肾上腺

胞体呈锥形 核大居中 胞质中均匀分布强碱性尼氏体(图 2B 黑色箭头) 深色神经元即坏死神经元 细胞核固缩 胞体缩小变形 尼氏体消失不见 被增生的胶质细胞吞噬(图 2C 白色箭头)。

2.2.2 垂体组织病理切片 HE 染色 由腺垂体 (anterior lobe) 和神经垂体 (posterior lobe, PL) 组成, 两部分之间界限清楚 腺垂体又可分为远侧部 (pars distalis, PD) 和中间部 (pars intermedia, PI) (图 2D); 远侧部主要分布着嫌色细胞(图 2E 黑色箭头)、嗜酸性细胞(图 2E 白色箭头) 及嗜碱性细胞(图 2E ▲) 细胞集成团索状; 中间部(图 2F*) 是位于远侧部与神经垂体之间的狭窄部分, 主要分布嗜碱性细胞和嫌色细胞; 神经垂体主要由无髓神经纤维和神经胶质细胞组成, 也纵横毛细血管, 高倍镜下神经垂体内的嗜酸性团块为神经轴突内的分泌物, 称为赫令体(图 2G 黑色箭头)。

2.2.3 肾上腺组织病理切片 HE 染色 由周边皮质和中央髓质 (medulla, M) 构成, 表面包以结缔组织被膜 (capsule, C), 皮质由外向内分别为球状带 (zona glomerulosa, ZG)、束状带 (zona fasciculata, ZF) 和网状带 (zona reticularis, ZR) (图 2H); 球状带较薄, 细胞为卵圆形 胞质少 核深染呈球形 细胞排列成球状 团块或拱形(图 2I)。束状带位于球状带深面, 是皮质中最厚的部分, 细胞大, 多边形, 部分有双核, 核圆形, 染色淡, 胞质有嗜酸性大脂滴, 细胞排列成束, 呈放射状伸向髓质(图 2J); 网状带细胞相互排列成网, 胞浆少, 内含脂褐素和脂滴, 核深染(图 2K); 髓质由排列成团的髓质细胞、结缔组织和

大量血窦组成 胞体较大 呈卵圆形(图 2L)。

2.3 猕猴下丘脑、垂体、肾上腺免疫组织化学染色

2.3.1 下丘脑组织病理切片免疫组化染色 图 3A 是对下丘脑区域分泌的 CRH 进行免疫组化染色, 可见下丘脑室旁核神经元胞质有棕黄色阳染; 对 CRH 分泌起负反馈调节作用的糖皮质激素受体 (GR) 多表达在细胞质中, 也有部分表达于细胞核, 图 3B 神经元胞核中 GR 阳性颗粒明显。

2.3.2 垂体组织病理切片免疫组化染色 腺垂体合成释放 ACTH, 图 3C 中垂体嗜碱性细胞质中充盈着阳染的 ACTH 黄色颗粒; 接受下丘脑释放的 CRH 的 CRHR1 表达于胞膜(图 3D); GR 主要位于垂体中间部细胞核和细胞质中(图 3E)。

2.3.3 肾上腺组织病理切片免疫组化染色 腺垂体释放的 ACTH 与肾上腺皮质束状带细胞上的 ACTHR 结合, 如图 3F 所示, ACTHR 表达于胞膜上。

2.4 猕猴下丘脑免疫荧光染色 图 4、图 5 是对猕猴下丘脑区域离子钙接头蛋白 1 (ionized calcium binding adapter molecule 1, iba-1) 和微管相关蛋白 2 (microtubule associated protein 2, MAP2) 进行免疫荧光染色。从 merge 图上可以清楚的观察到 iba-1 在小胶质细胞核中表达, MAP2 在神经元胞质中表达。通过比较冰冻切片和石蜡切片的荧光染色效果, 可以看出, 脑组织石蜡切片在经过脱水脱蜡等步骤后, 组织中抗原的性质易受到破坏, 且操作过程较繁琐, 染片背景较深较杂, 出现较多的非特异性染色, 反观冰冻切片染色图, 背景清晰明亮, 细胞形态结构易于辨认, 效果优于石蜡切片。

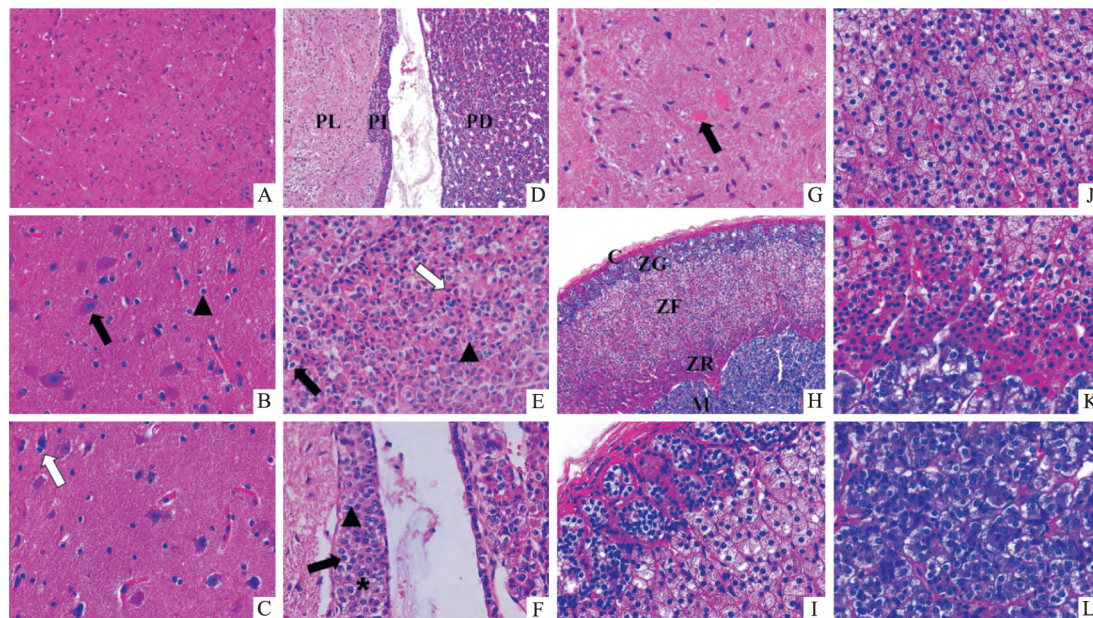


图2 猕猴下丘脑、垂体、肾上腺组织 HE 染色图

A: 下丘脑 HE ×100; B: 下丘脑神经元细胞(黑色箭头)和小胶质细胞(▲) ×400; C: 下丘脑坏死神经元(白色箭头) ×400; D: 垂体(神经垂体、中间部、远侧部) HE ×100; E: 垂体远侧部嫌色细胞(黑色箭头)、嗜酸性细胞(白色箭头)及嗜碱性细胞(▲) ×400; F: 垂体中间部(★)、嫌色细胞(黑色箭头)、嗜碱性细胞(▲) ×400; G: 神经垂体赫令体(黑色箭头) ×400; H: 肾上腺 HE ×100; I: 球状带 ×400; J: 束状带 ×400; K: 网状带 ×400; L: 髓质 ×400

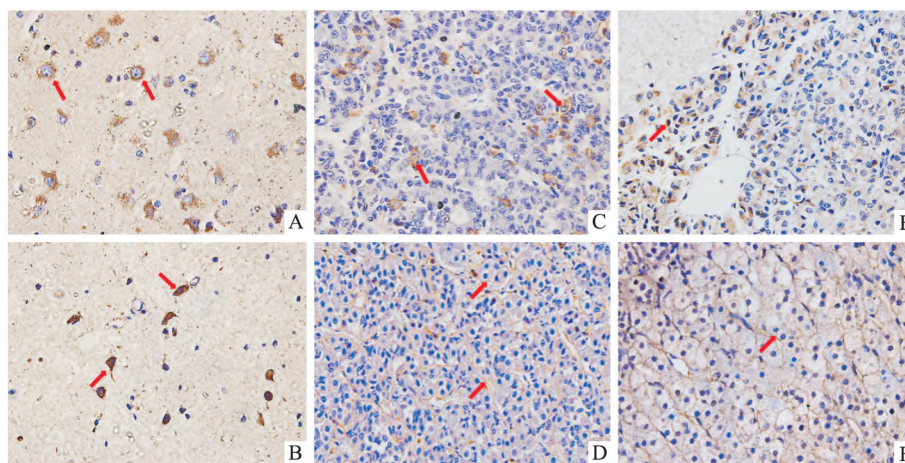


图3 猕猴下丘脑、垂体、肾上腺免疫组织化学染色图 ×400

A: 下丘脑 CRH 染色; B: 下丘脑 GR 染色; C: 垂体 ACTH 染色; D: 垂体 CRHR1 染色; E: 垂体 GR 染色; F: 肾上腺 ACTHR 染色

3 讨论

HPAA 作为“神经 - 内分泌 - 免疫”(neuro-endocrine-immune, NEI) 调节网络的三大轴之一, 当受到刺激时, 大脑发出信号, 以适应环境。下丘脑最先接收到信息, 兴奋 CRH 神经元, 兴奋投射至正中隆起, 释放 CRH 到垂体门脉系统到达垂体前叶, 与 CRH 受体(CRHR1) 结合, CRHR1 是一种 G 蛋白偶联受体, 激活腺垂体 ACTH 生成细胞释放 ACTH 入

血到达肾上腺, 与肾上腺皮质束状带细胞上 ACTH 受体(ACTHR) 结合, 刺激其分泌 GC(人类合成皮质醇, 啮齿动物合成皮质酮) [11]。皮质醇进入体循环后, 与分布于机体各组织器官的核受体 GR 结合, 参与包括压力反应、糖代谢、炎症反应及情绪改变等多个调节过程[12]。皮质醇又可与位于下丘脑及腺垂体上的 GR 结合, 负反馈抑制 CRH 及 ACTH 的合成, 其中任何一个环节发生异常都会影响 HPAA 的功能, 导致 NEI 网络失调, 对机体造成不可逆转的

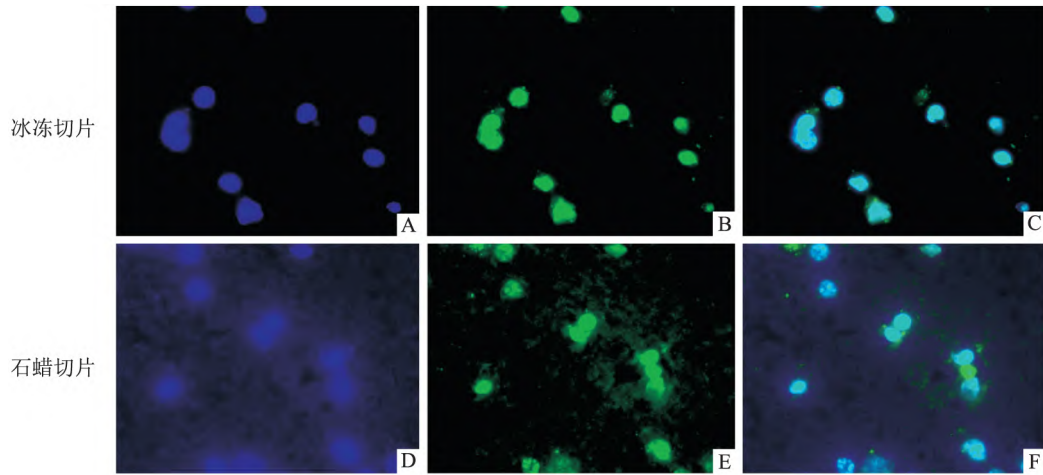


图4 猕猴下丘脑 iba-1 免疫荧光染色图 ×1 000

A: 下丘脑冰冻切片 DAPI 染色图; B: 下丘脑冰冻切片 iba-1 染色图; C: 下丘脑冰冻切片 DAPI、iba-1 的 Merge 图; D: 下丘脑石蜡切片 DAPI 染色图; E: 下丘脑石蜡切片 MAP2 染色图; F: 下丘脑石蜡切片 DAPI、iba-1 的 Merge 图

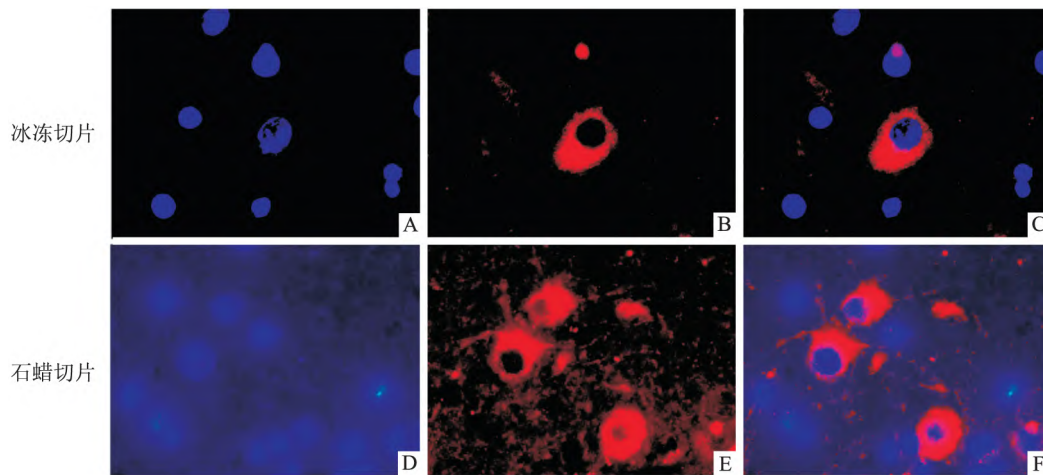


图5 猕猴下丘脑 MAP2 免疫荧光染色图 ×1 000

A: 下丘脑冰冻切片 DAPI 染色图; B: 下丘脑冰冻切片 MAP2 染色图; C: 下丘脑冰冻切片 DAPI、MAP2 的 Merge 图; D: 下丘脑石蜡切片 DAPI 染色图; E: 下丘脑石蜡切片 MAP2 染色图; F: 下丘脑石蜡切片 DAPI、MAP2 的 Merge 图

损伤^[1]。该实验以猕猴为实验动物,探讨了多种有效病理染色方法,系统性地研究 HPAA 各级组织器官的组织结构学特征,并做了详细描述,也检测了各组织水平上分泌的激素及表达的激素受体,细化到了各蛋白的表达位置。其中 iba-1 是中枢神经系统中的小胶质细胞特异性标记蛋白,小胶质细胞是脑固有巨噬细胞,在脑损伤时快速感测神经障碍并被活化,迁移到损伤部位,发挥吞噬死细胞、产生促炎因子等功能^[13]。MAP2 存在于神经元中,构成细胞骨架,塑形神经元,其缺失会导致神经功能障碍^[14]。这两种蛋白的表达情况可以作为下丘脑神经元发生炎症病理损伤的评价指标。以上研究从组织结构形态学的角度更清晰直观的表现出 HPAA 通过各激素和激素受体发挥调节机体内环境的作用,为更好

的模拟人类 HPAA 各环节的生理和病理特征提供了方法参考。

由于实验时间限制,该研究只观察了正常猕猴的 HPAA 组织形态学,接下来将聚焦到某一疾病模型,观察病理状态下的 HPAA 轴功能改变。

参考文献

[1] DeMorrow S. Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 986.
 [2] Keller-Wood M. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis-feedback control. *Compr Physiol*, 2015, 5(3): 1161-82.
 [3] Prete A, Bancos I. Glucocorticoid induced adrenal insufficiency [J]. *BMJ*, 2021, 374: 1380.
 [4] Lacroix A, Feelders R A, Stratakis C A, et al. Cushing's syndrome[J]. *Lancet*, 2015, 386(9996): 913-27.

- [5] Ramot A, Jiang Z, Tian J B, et al. Hypothalamic CRFR1 is essential for HPA axis regulation following chronic stress [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(3): 385–8.
- [6] Kritikou I, Basta M, Vgontzas A N, Pejovic S, et al. Sleep apnoea and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in men and women: effects of continuous positive airway pressure [J]. *Eur Respir J*, 2016, 47(2): 531–40.
- [7] 韩利方, 梁宏德, 王平利, 等. 麋鹿肾上腺的组织学观察[J]. *动物医学进展*, 2005(04): 98–100.
- [8] 潘琼, 杨炳壮, 李瑞明, 等. 广西本地水牛垂体的形态学与组织学观察[J]. *基因组学与应用生物学*, 2009, 28(6): 1097–100.
- [9] 匡德宣, 孙晓梅, 陆彩霞, 等. 实验树鼯主要内分泌器官的组织学观察[J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(6): 35–9+85–6.
- [10] Bachevalier J. Nonhuman primate models of hippocampal development and dysfunction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(52): 26210–6.
- [11] Lee S H, Lee M, Yang H, et al. Bioelectronic sensor mimicking the human neuroendocrine system for the detection of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones in human blood [J]. *Biosens Bioelectron*, 2020, 154: 112071.
- [12] Kadmiel M, Cidlowski J A. Glucocorticoid receptor signaling in health and disease [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34(9): 518–30.
- [13] Rizzo F R, Guadalupi L, Sanna K, et al. Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 98: 13–27.
- [14] Hu W, Zhang Y, Wu W, et al. Chronic glucocorticoids exposure enhances neurodegeneration in the frontal cortex and hippocampus via NLRP1 inflammasome activation in male mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 52: 58–70.

Detection of structural characteristics of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in macaques

Dong Tingyu^{1,2,3}, Guo Menghui^{1,2,3}, Xu Changyong^{1,2,3}, Jiang Haifeng^{1,2,3}, Zhang Lei^{1,2,3},
Xu Zhen^{1,2,3}, Liu Xiaoyi^{1,2,3}, Yan Shangxue^{1,2,3}, Chang Yan^{1,2,3}, Wei Wei^{1,2,3}

(*Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Key Lab of Anti-inflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education, Rheumatoid Arthritis Research Center, Anhui Medical University, Hefei 230032*)

Abstract Objective To observe the histomorphological features of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in macaques to provide a reference for simulating the physiological functions and pathological responses of the human hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Methods** After euthanasia of macaques, hypothalamus, pituitary and adrenal tissues were removed intact, fixed by PFA, and paraffin sections and frozen sections were prepared; the basic structure and cellular distribution were observed by HE staining; the secreted hormones and receptors were detected by immunohistochemistry; the effects of staining in frozen and paraffin sections were compared, and the cellular composition of some hypothalamus tissues was identified. **Results** The hypothalamic region was hollow and funnel-shaped, the pituitary gland resembles a pea, and the right and left adrenal glands were located between the liver and kidneys; HE staining showed that the hypothalamic region was mainly composed of neurons and microglia, the pituitary gland was divided into neuro-pituitary and adeno-pituitary, and the adrenal gland was composed of cortex and medulla; immunohistochemical results showed that the hypothalamus secretes CRH and expresses GR, the pituitary gland secretes ACTH and expresses CRHR1 and GR, and the adrenal gland expresses ACTHR; immunofluorescence of frozen sections better showed that the hypothalamus contains neurons and microglia. **Conclusion** In this study, sections of hypothalamus, pituitary and adrenal gland tissues from macaques were successfully produced, and the relevant anatomical and morphological features were observed and examined, which provided a reference method for simulating the physiological and pathological responses of the human hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

Key words macaques; hypothalamic-pituitary-adrenal axis; pathological section; HE staining; immunohistochemistry; immunofluorescence