

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.28.006

## 下丘脑-小脑神经通路在大鼠躯体-内脏反应整合中的作用\*

何叶成,李东印,张 轶

(苏州卫生职业技术学院基础医学教研室 215009)

**[摘要]** **目的** 探索 SD 大鼠下丘脑-小脑神经通路在躯体-内脏反应整合过程中发挥的作用。**方法** 将 120 只 SD 大鼠随机分为 6 组;分别在大鼠小脑深部核团定点微量注射生理盐水(A 组),组胺 H1 受体阻断剂 triprolidine(B 组),组胺 H1 受体激动剂 2-PyEA(C 组),组胺 H2 受体阻断剂 ranitidine(D 组),组胺 H2 受体激动剂 dimaprit(E 组),以及神经递质组胺(F 组)。以 A 组为对照,观察下丘脑-小脑组胺能神经纤维信号被阻断或强化后,大鼠躯体-内脏反应整合能力的变化。**结果** 与 A 组相比,B 组和 C 组无明显效应,而 D 组大鼠躯体-内脏反应整合被明显阻断,而 E 组和 F 组大鼠躯体-内脏反应整合被明显强化。**结论** 小脑组胺能传入纤维参与了机体躯体-内脏反应整合的调控,并且是通过 H2 受体途径发挥效应的。

**[关键词]** 组胺;下丘脑-小脑神经通路;躯体-内脏反应整合

**[中图分类号]** Q426

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)28-3915-03

## The role of hypothalamocerebellar histaminergic projections in somatic-visceral integration of rats\*

He Yecheng, Li Dongyin, Zhang Yi

(Department of Basic Medicine, Suzhou Health College, Suzhou, Jiangsu 215009, China)

**[Abstract]** **Objective** To research the role of hypothalamocerebellar histaminergic projections in somatic-visceral integration of rats. **Methods** A total of 120 SD rats were randomly divided to 6 groups: group A-F; which separately microinjected saline (group A), triprolidine(selective antagonist of H1 receptor, group B), 2-PyEA(selective agonist of H1 receptor, group C), ranitidine (selective antagonist of H2 receptor, group D), dimaprit (selective agonist of H2 receptor, group E) and histamine (group F) to the deep nuclei of rats. The abilities of rats somatic-visceral integration were observed when hypothalamocerebellar histaminergic projections were obstructed or enhanced compared to group A. **Results** The somatic-visceral integration of rats were obstructed obviously in group D and enhanced in group E & group F compared to group A, while group B and group C had no differences compared to group A. **Conclusion** Hypothalamocerebellar histaminergic projections play a key role in somatic-visceral integration through the way of H2 receptors.

**[Key words]** histamine; hypothalamocerebellar histaminergic projections; somatic-visceral integration

机体能够自动协调躯体运动和内脏反应之间的关系,称为躯体-内脏反应整合。神经解剖学研究显示在下丘脑和小脑之间存在直接的神经环路<sup>[1-2]</sup>。下丘脑是机体内脏反应的高级中枢,小脑是皮层下最大的运动调节中枢,两者之间存在直接神经纤维联系,意味着在内脏高级调节中枢和皮层下最大运动调节中枢之间能够直接传递信号,提示下丘脑-小脑环路可能为躯体-内脏反应整合提供了结构基础,为合理解释躯体-内脏反应整合的机制提供了可能的方向。

下丘脑-小脑神经通路起源于下丘脑结节乳头核,发出的纤维直接投射到小脑皮层和深部核团,其神经递质为组胺<sup>[3]</sup>。神经解剖学研究揭示深部核团是小脑唯一的信号传出通路,并能够通过下行传出纤维影响脑干和脊髓的运动核团或神经元以调节躯体运动,小脑核团神经元组胺受体为 H1 和 H2 型。因此机体内脏功能状态,可能通过下丘脑-小脑组胺能投射纤维,影响小脑深部核团神经元的兴奋性,最终影响机体躯体运动能力。为了验证这一设想,本研究在大鼠小脑深部核团定点微量注射组胺类药物,观察大鼠小脑组胺能传入纤维信号传入被切断或强化后,大鼠躯体-内脏反应整合能力的变化,探索小脑组胺能传入纤维在躯体-内脏反应整合过程中发挥的作用,现报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 动物和手术** 采用 240~260 g 清洁级雄性 SD 大鼠,腹腔注射戊巴比妥钠溶液麻醉,将其头部固定于立体定位仪上。根据鼠脑立体定位图谱,将两根不锈钢套管植入小脑,使其下端分别定位在双侧小脑顶核上方 2 mm 的位置,用不锈钢螺丝和牙科水泥固定于颅骨,术后 72 h 恢复期<sup>[4-5]</sup>。

给药时使用的微量注射器不锈钢针管比套管长 2 mm,使其下端正好位于顶核表面,不致损伤神经核团。双侧同时缓慢注射,60 s 内注射 1  $\mu$ L 药液。

## 1.2 行为学实验

**1.2.1 开场实验** 开场实验用来测试大鼠的运动及探索欲望的强弱。将大鼠轻轻地放入开场底部正中间,底部被划分成 5×5 个边长为 10 cm 的方格,记录大鼠在 5 min 内四肢经过的格子数和与大鼠双脚直立的次数<sup>[4-5]</sup>。

**1.2.2 rota-rod 转棒仪实验** rota-rod 转棒仪用来测试大鼠运动能力。将大鼠放置在旋转的横梁上,将转棒仪模式设置为转速在 300 s 内从 4 r/min 增加到 40 r/min 的匀加速模式,记录大鼠在横梁上坚持的时间,如超过 300 s 则记录为 300 s<sup>[4-5]</sup>。

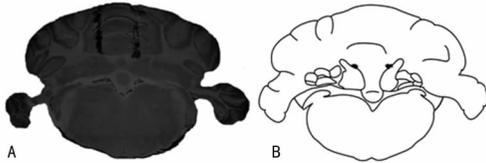
**1.2.3 实验设计** SD 大鼠手术恢复后,进行 3 d 加速 rota-rod 转棒仪和开场实验训练,以达到稳定状态。选取 120 只运

\* 基金项目:江苏省教研室立项课题(J201403);苏州卫生职业技术学院级立项课题(szwzy201202)。作者简介:何叶成(1981-),博士,主要从事神经生理方面的研究。

动力正常的 SD 大鼠,随机分为对照组即 A 组(生理盐水),B 组(组胺 H1 受体阻断剂 triprolidine),C 组(组胺 H1 受体激动剂 2-PyEA),D 组(组胺 H2 受体阻断剂 ranitidine),E 组(组胺 H2 受体激动剂 dimaprit)和 F 组(神经递质组胺 histamine)。

整个行为学测试分禁食后、进食前、进食后 3 个阶段,依次命名为 S0、S1、S2 期,每期包括 1 次开场试验和 rota-rod 转棒仪测试。S0 期的测试于禁食 24 h 后上午 8:00 开始;测试完成后,休息 1 h,注射药物,然后进行 S1 期测试;测试完成后,休息 1 h,然后提供充裕的粮食和水;大鼠进食 1 h 后进行 S2 期的测试,每期的测试控制在 30 min 之内。

**1.3 组织学鉴定** 测试完成后,将动物小脑取出,作冰冻切片,判读插管创道的位置,如果插痕没有到达预期位置,测试结果将被排除在数据统计之外(图 1)。



A:注射位点的组织学切片;B:60 只大鼠注射位点的组织学重构。

图 1 组织学鉴定定点微量注射位点

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间差异比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间差异用单向方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 开场试验** 开场试验结果见表 1、2,A 组大鼠摄食后与摄食前相比运动欲望和探索欲望明显降低。B、C 组大鼠的行为学没有明显效应;D 组则明显抑制大鼠运动欲望,且摄食后与摄食前的差距明显缩小;E、F 组明显增强大鼠摄食前后的运动和探索欲望,摄食后与摄食前相比运动欲望和探索欲望差异不明显(图 2)。从图 3A 中可以看出各组大鼠 S0 期运动欲望没有明显差异;S1 期 D 组大鼠运动欲望明显降低,而 E 组和 F

组大鼠运动欲望明显增强;S2 期(摄食后)各组运动欲望均有降低;D 组、E 组和 F 组大鼠降低不明显。从图 2B 中可以看出 E 组的比值为(74.560±6.791)%,B 组、C 组与 A 组相比无明显差异,而 D 组、E 组和 F 组大鼠明显比 A 组高。图 3C:各组大鼠 S0 期探索欲望没有明显差异;S1 期 D 组大鼠探索欲望明显降低,而 E 组和 F 组大鼠探索欲望明显增强;S2 期(摄食后)各组探索欲望均有降低;D 组、E 组和 F 组大鼠降低不明显。图 3D,A 组的比值为(75.180±5.688)%,B 组、2-PyEA 组与 A 组相比无明显差异,而 D 组、E 组和 F 组大鼠明显比 A 组高。

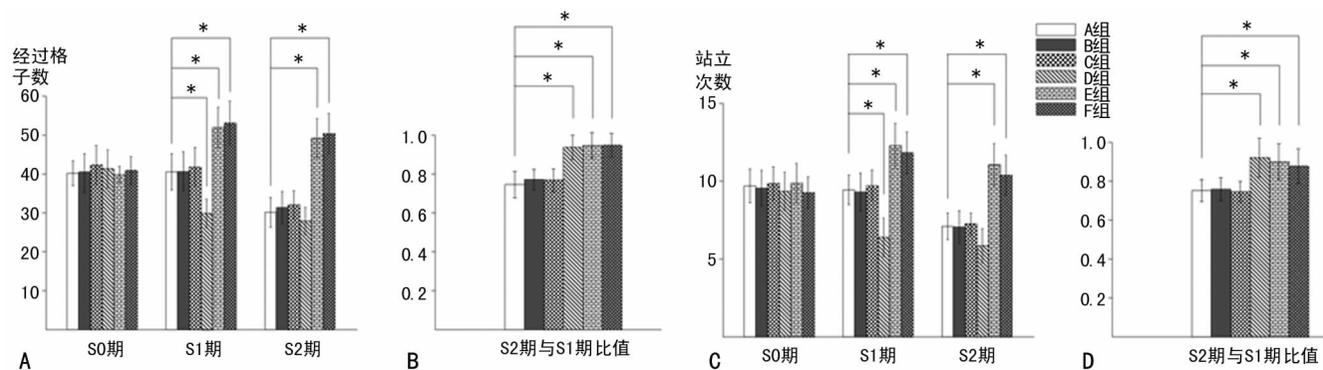
表 1 动物开场试验运动欲望数据( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

组别	S0	S1	S2	S2/S1(%)
A 组	40.200±3.189	40.550±4.662	30.150±3.787	74.560±6.791
B 组	40.500±4.979	40.700±5.202	31.350±4.158	77.150±5.194
C 组	42.310±5.013	41.770±4.732	32.060±3.619	76.750±5.873
D 组	41.350±4.880	29.800±3.665	27.900±3.508	93.770±6.243
E 组	39.880±3.232	51.970±5.178	49.220±4.988	94.710±6.573
F 组	40.920±3.584	53.080±5.682	50.330±5.216	94.820±6.088

**2.2 rota-rod 转棒仪测试** rota-rod 转棒仪试验结果见表 3、图 3,各组大鼠 S0 期运动能力没有明显差异;S1 期 D 组大鼠运动能力明显降低,而 E 组和 F 组大鼠运动能力明显增强;S2 期(摄食后)各组运动能力均有降低;D 组、E 组和 F 组大鼠降低不明显。A 组的比值为(80.900±5.100)%,B 组、C 组与 A 组相比无明显差异,而 D 组、E 组和 F 组大鼠明显比 A 组高。

表 2 动物开场试验探索欲望数据

组别	S0	S1	S2	S2/S1(%)
A 组	9.700±1.081	9.450±0.945	7.100±0.852	75.180±5.688
B 组	9.550±1.146	9.300±1.218	7.050±1.050	75.830±5.940
C 组	9.860±1.062	9.720±0.988	7.260±0.692	74.690±5.233
D 组	9.350±1.226	6.400±1.231	5.850±1.089	92.100±9.973
E 组	9.880±1.258	12.280±1.432	11.060±1.366	90.070±9.218
F 组	9.260±1.028	11.830±1.326	10.380±1.286	87.740±8.962



A:各组大鼠在 5 min 内经过的格子数(代表大鼠运动欲望);B:各组大鼠 S2 期经过格子数与 S1 期相比的比值;C:各组大鼠在 5 min 内站立次数(代表大鼠探索欲望);D:各组大鼠 S2 期站立次数与 S1 期相比的比值,\* : $P < 0.05$ ,组间比较。

图 2 开场实验

表 3 动物 rota-rod 转棒仪试验结果( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

组别	S0(s)	S1(s)	S2(s)	S2/S1(%)
A 组	192.100±17.360	189.050±14.347	153.050±16.185	80.900±5.138
B 组	184.150±12.149	187.550±14.968	152.000±15.654	81.080±5.728
C 组	186.650±11.909	188.050±10.729	152.550±10.802	81.880±4.493
D 组	187.600±17.117	150.600±19.234	144.750±17.465	96.360±5.445
E 组	189.750±10.577	214.350±11.636	201.050±12.680	93.840±4.245
F 组	190.120±13.560	220.830±12.970	205.110±14.360	92.570±5.152

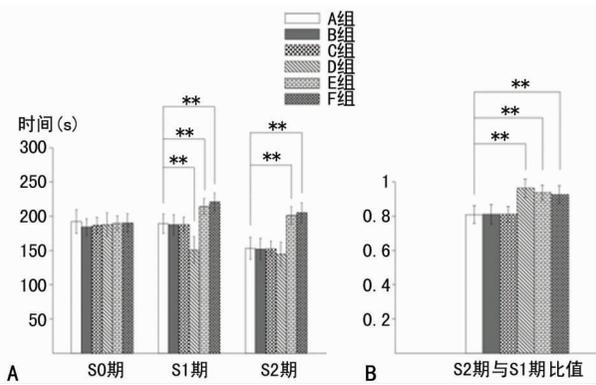


图 3 rota-rod 大鼠转棒仪实验  
A: 各组大鼠在转棒仪上坚持的时间(代表大鼠运动能力)。B: 各组大鼠 S2 期坚持时间与 S1 期相比的比值。

图 3 rota-rod 大鼠转棒仪实验

### 3 讨 论

近十年来神经解剖学研究发展飞速,其中一个重要进展就是揭示了下丘脑与小脑之间存在着直接的双向纤维联系,即下丘脑-小脑投射和小脑-下丘脑投射,二者构成了下丘脑-小脑神经环路。尽管目前对该神经环路确切的功能意义尚未完全揭示,但是内脏反应高级中枢与躯体运动中枢之间的直接纤维联系,为合理解释躯体-内脏反应整合机制提供了可能的方向。下丘脑-小脑神经纤维的胞体集中在下丘脑结节乳头核,该纤维的神经递质均为组胺。近年来研究发现组胺作为一种神经递质在脑内发挥了广泛作用,逐渐引起人们的重视,而组胺也被上升到“全脑功能的调节者”的高度<sup>[2,6-7]</sup>。到目前为止,已经发现的组胺受体有 4 种,分别为组胺 H1、H2、H3、H4 受体,均为促代谢型受体,在小脑深部核团只有 H1 和 H2 受体表达。

本实验先前的电生理研究显示,组胺能够剂量依赖地兴奋小脑深部核团神经元,且该兴奋能够被组胺 H2 受体阻断剂 ranitidine 而不是 H1 受体阻断剂 triprolidine 有效阻断<sup>[5]</sup>。进一步研究显示组胺能够通过 H2 受体使超极化激活的阳离子通道(Ih 离子通道)激活,进而改变细胞膜电位,产生 EP-SP<sup>[8-9]</sup>。H2 受体被激活后能够在较短时间内影响神经元电活动,H2 受体有可能在躯体-内脏反应整合中发挥作用,因此本研究通过整体水平实验来验证这一设想。

在行为学实验中,A 组与 B~F 组的大鼠进食前运动欲望和能力均没有差别,而 A 组 S2 期与 S1 期相比大鼠运动欲望和能力显著降低,提示内脏反应能够影响机体的躯体运动。B 组与 C 组大鼠与 A 组相比没有差异,提示组胺并不通过 H1 受体途径影响机体躯体运动。D 组大鼠小脑深部核团注射 H2 受体阻断剂后,运动欲望明显降低,提示内源性组胺能够增强机体运动欲望;而摄食前后运动欲望和能力变化不大,说明当小脑组胺能传入信号 H2 受体途径被切断以后,内脏反应对躯体运动的影响大大减弱。E 组和 F 组大鼠,小脑深部核团 H2 受体被激活后,躯体运动能力明显增强,而摄食后内源性组胺释放减少,大鼠躯体运动能力略有减弱。以上结果说明,小脑组胺能传入纤维通过 H2 受体途径参与了机体躯体-内脏反应整合的调控。

神经解剖学研究表明,中枢组胺能纤维末梢并不与突触后神经元形成经典的化学突触,而表现为曲张体的形态<sup>[10]</sup>,且组胺受体均为促代谢型。因此推测,小脑组胺能传入纤维并不承

担传递特定信号指令的任务,只是根据机体内脏反应的状态调节运动中枢神经元膜电位水平,使之更易于或者不易于被兴奋。本实验中发现大鼠小脑核团注射 ranitidine 后,运动欲望和能力即明显下降,说明正常情况下下丘脑释放一定量的组胺,使小脑核团神经元维持一定兴奋性;当机体内脏反应有变化,变化信号汇总到下丘脑后,下丘脑根据内脏运动状态,改变组胺能纤维递质释放的量,调节小脑等运动中枢神经元的兴奋性,进而改变机体躯体运动能力。在整体水平具体表现为,动物摄食后并不是表现为躯体运动消失,而是躯体运动欲望和能力下降。综合之前的研究资料以及本实验的研究结果,作者认为在实时运动中,下丘脑-小脑组胺能神经通路起到了协调机体的躯体-内脏反应整合的作用,以使机体能够更好地适应内外环境的变化。

### 参考文献

- [1] Haines DE, Dietrichs E, Mihailoff GA, et al. The cerebellar-hypothalamic axis: basic circuits and clinical observations[J]. *Int Rev Neurobiol*, 1997, 41: 83-107.
- [2] Zhu JN, Yung WH, Kwok-Chong Chow B, et al. The cerebellar-hypothalamic circuits: potential pathways underlying cerebellar involvement in somatic-visceral integration [J]. *Brain Res Rev*, 2006, 52(1): 93-106.
- [3] Panula P, Yang HY, Costa E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984, 81(8): 2572-2576.
- [4] Song YN, Li HZ, Zhu JN, et al. Histamine improves rat rota-rod and balance beam performances through H2 receptors in the cerebellar interpositus nucleus[J]. *Neuroscience*, 2006, 140(1): 33-43.
- [5] He YC, Wu GY, Li D, et al. Histamine promotes rat motor performances by activation of H2 receptors in the cerebellar fastigial nucleus [J]. *Behav Brain Res*, 2012, 228(1): 44-52.
- [6] Brown RE, Stevens DR, Haas HL. The physiology of brain histamine [J]. *Prog Neurobiol*, 2001, 63(6): 637-672.
- [7] Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88: 1183-1241.
- [8] Haas H, Panula P. The role of histamine and the tuberomammillary nucleus in the nervous system [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4(2): 121-130.
- [9] Zhang J, Han XH, Li HZ, et al. Histamine excites rat lateral vestibular nuclear neurons through activation of post-synaptic H2 receptors [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 448(1): 15-19.
- [10] Diewald L, Heimrich B, Büsselberg D, et al. Histaminergic system in co-cultures of hippocampus and posterior hypothalamus: a morphological and electrophysiological study in the rat [J]. *Eur J Neurosci*, 1997, 9(11): 2406-2413.