

小脑间位核和顶核对下丘脑外侧区神经元电活动的影响*

王 韶 *** 王建军 ** 蒲咏梅 ****

(南京大学生物科学与技术系, 南京 210093)

摘要 电刺激猫小脑间位核和顶核可以影响下丘脑外侧区神经元的电活动, 其中有一些神经元是葡萄糖敏感神经元。这一结果揭示小脑不仅具有经典的躯体运动调节功能, 同时也可以通过小脑-下丘脑通路参与机体非躯体活动的调节。

关键词 小脑间位核 小脑顶核 下丘脑外侧区 小脑-下丘脑投射 非躯体性小脑功能

许多研究表明, 刺激或损毁小脑可以引起一些内脏和情感活动变化, 提示小脑不仅具有经典的躯体运动调节功能, 还参与机体非躯体活动的调节。例如, 新近的研究揭示, 损毁小脑皮层引起动物的摄食行为变化、营养利用障碍和体重降低^[1,2]。但是, 小脑参与非躯体功能调节的神经通路至今还不清楚。近 10 a 来的神经解剖学研究发现, 小脑与自主性功能中枢下丘脑之间存在着双向的直接神经连接, 其中小脑-下丘脑通路起源于小脑的 3 个深部核团, 上行投射到对侧下丘脑外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)、后区和背区等处^[3,4]。推测小脑可能通过对下丘脑的投射通路直接影响下丘脑的活动, 从而参与机体非躯体功能的调节。本实验旨在观察刺激小脑间位核(interpositus nucleus, IN)和顶核(fastigial nucleus, FN)对 LHA 神经元活动的影响, 以探讨小脑参与机体非躯体性功能调节的机制。

1 材料和方法

实验用猫(2.0~3.5 kg)45 只。动物在乌拉坦(700 mg/kg, iv)麻醉下被完成气管和股静脉插管;而后将动物固定于脑立体定位仪(美国 Kopf 1404)上施行脑脊液引流、开颅等手术和实验。实验中定时给动物补加乌拉坦以维持其于麻醉状态, 并用电热板维持其体温于 37℃ 左右, 监测心电。

按猫脑立体定位图谱^[5], 将 2 根双极同心圆刺激电极(内径 0.1 mm, 外径 0.4 mm, 尖端裸露 0.2 mm)分别插入左侧 IN(P8.5, L4.5, H0.5)和 FN(P9.5, L1.5, H1.0)。电刺激为 2

1995-10-04 收稿, 1996-02-13 收修改稿

* 国家自然科学基金、国家教育委员会年轻教师基金和留学回国人员科研基金资助项目

** 联系人

*** 现工作单位:江苏省人民医院中心实验室

**** 现工作单位:香港理工大学应用生物和化学科技学系

一个负相方波($50 \sim 150 \mu\text{A}$, 0.3 ms , 500 Hz)。用玻璃微电极(内充溶有 1% 胍胺天蓝的 0.5 mol/L NaAc 导电液)细胞外记录右侧 LHA(A8.0~10.5, R2.0~3.5, H-1.0~-6.0)神经元的单位放电活动。神经元放电信号由窗口甄别器转换成 TTL 脉冲后输入计算机作出刺激后时间直方图(post-stimulus time histogram),以评价神经元对刺激的反应。若神经元在刺激后的放电频率降低到刺激前基础放电频率的 20% 以下或升高到 200% 以上,就认为其对刺激产生了抑制或兴奋反应。如果所观察的神经元对刺激 IN 和/或 FN 产生反应,则进一步检测其对血糖变化的敏感性。凡是对于静脉注射葡萄糖(0.4 mol/L , 0.5 mL/kg)产生特异性抑制反应的细胞,被判定为葡萄糖敏感神经元(glucose-sensitive neuron, GSN),反之为非葡萄糖敏感神经元(glucose-insensitive neuron, GISN)^[6]。实验数据的统计学处理用 t 检验和 X^2 检验。

实验结束后,先用阴极电流($10 \mu\text{A}$, 10 min)将玻璃微电极中的胍胺天蓝染料微量电渗析到脑组织中标定记录位点;再在 IN 和 FN 刺激电极上通以阳极电流($15 \mu\text{A}$, 1 min)标定刺激位点。随后,取下丘脑作 $50 \mu\text{m}$ 厚冰冻切片,光镜下检查记录位点;另将小脑部分浸入甲醛溶液中固定,3 d 后取出做 $200 \mu\text{m}$ 厚冰冻切片,检查刺激位点。凡实际记录和/或刺激位点偏离预定核团者,所获数据均不作统计。

2 结果

2.1 刺激 IN 和 FN 对 LHA 神经元电活动的影响

刺激 IN 和 FN 均能引起 LHA 神经元的兴奋、抑制及双相的抑制-兴奋和兴奋-抑制反应(图 1)。但从表 1 归纳的数据可见,刺激 IN 主要引起 LHA 神经元的抑制反应(包括初始反应为抑制的抑制-兴奋反应, 66.1% , $p < 0.05$, t 检验),而 FN 主要引起 LHA 细胞的兴奋反应(包括兴奋-抑制反应, 68.5% , $p < 0.05$)。并且, LHA 细胞对 IN 刺激的反应率(32.6% , $127/390$)明显地高于其对 FN 刺激的反应率(23.3% , $54/232$)。

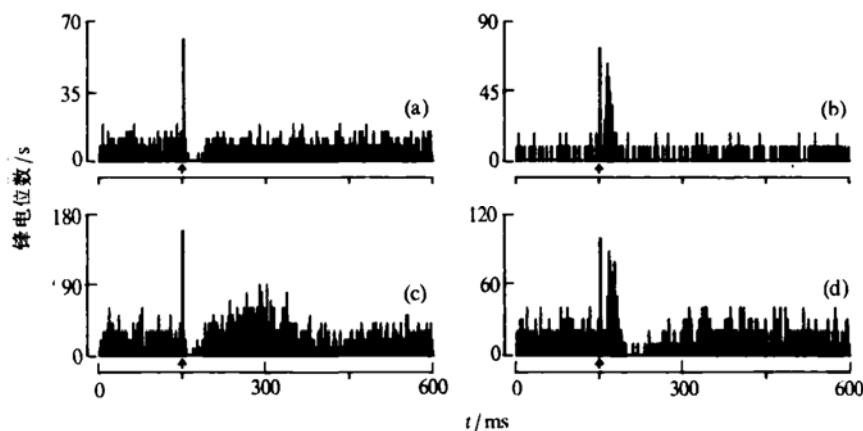


图 1 LHA 神经元对 IN 和 FN 刺激的抑制(a)、兴奋(b)、抑制-兴奋(c)和兴奋-抑制(d)反应
各直方图均为 100 次扫描的迭加,采样间隔 1 ms , ↑ 为刺激伪迹

图 2 为表 1 中所列的 127 个和 54 个对 IN 和 FN 刺激有反应的神经元的反应潜伏期分布直方图。从图可见,这些神经元的反应潜伏期分布在 $5 \sim 45 \text{ ms}$ 之间,但其中绝大多数细胞的反应潜伏期 $< 15 \text{ ms}$ 。在对 IN 刺激有反应的神经元中,112 个(88.2% , $112/127$)对刺激产生

表 1 LHA 神经元对 IN 和 FN 刺激的反应

刺激位点	记录的细胞总数	有反应的细胞数	反 应 类 型			
			抑制	抑制-兴奋	兴奋	兴奋-抑制
IN	390	127	60(47.2%)	4(18.9%)	23(18.1%)	20(15.7%)
FN	232	54	14(25.9%)	3(5.6%)	12(22.2%)	25(46.3%)

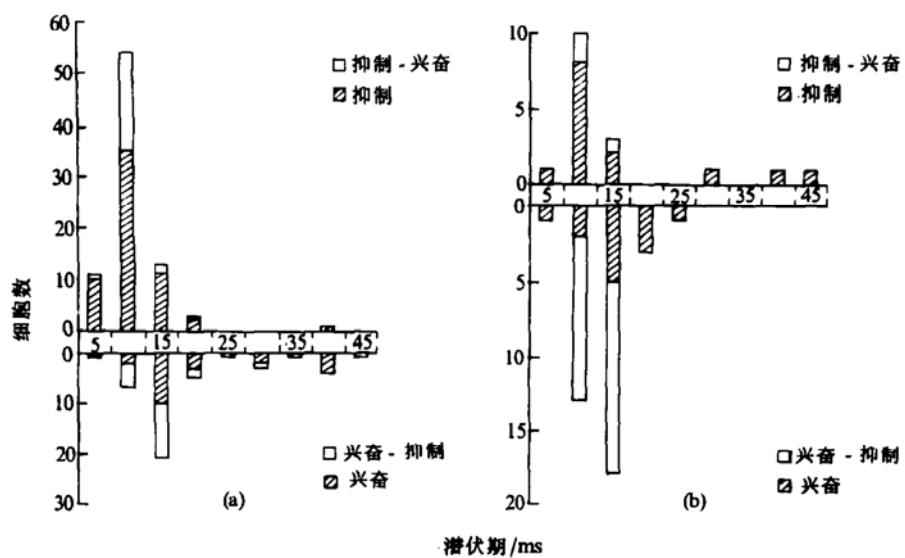


图 2 LHA 神经元对 IN(a) 和 FN(b) 刺激的反应潜伏期分布直方图

<15 ms 的短潜伏期反应。在这些短潜伏期反应中, 抑制($n = 81$)和兴奋($n = 31$)反应的平均潜伏期分别为(8.42 ± 2.76) ms 和(11.54 ± 2.47) ms ($M \pm SD$)。在刺激 FN 引起的短潜伏期反应(85.2%, 46/54)中, 抑制($n = 13$)和兴奋($n = 33$)反应的平均潜伏期分别是(8.68 ± 2.68) ms 和(11.13 ± 3.23) ms。可见抑制反应的平均潜伏期均显著地短于兴奋反应的平均潜伏期($p < 0.05$, t 检验)。另外, 我们还在 187 个神经元上观察到, 34 个(18.2%)神经元对先后刺激 IN 和 FN 均产生反应(参见图 3(c)和(d))。

2.2 对 LHA 神经元葡萄糖敏感性的检测

在 67 个和 31 个分别对 IN 和 FN 刺激有反应的神经元上成功地完成了葡萄糖敏感性检测, 其中的 42 个(62.7%)和 23 个(74.2%)分别被鉴定为 GSN。表 2 归纳了这些细胞对小脑核团刺激和血糖变化的反应情况。从表可见, 刺激 IN 对 LHA 中 GSN 和 GISN 的作用以抑制(包括抑制-兴奋反应)为主(59.6% 和 60.0%), 而刺激 FN 对这两类细胞的作用却以兴奋(包括兴奋-抑制反应)为主(73.9% 和 75.0%)。图 3 为上述实验的 1 个例子。从图可见, 静脉注射葡萄糖引起图示的 GSN 放电活动抑制(a), 而注射等量生理盐水却不能使该细胞产生类似的反应(b), 刺激 IN 或 FN 分别引起该神经元的抑制(c)或兴奋-抑制(d)反应。另外, 在前述的 34 个对先后刺激 IN 和 FN 均产生反应的细胞中, 有 18 个(52.9%)为 GSN。

与图 2 的结果相似, 绝大多数 GSN 和 GISN 对小脑核团刺激显示出<15 ms 的短潜伏期反应。在 42 个和 25 个对 IN 刺激有反应的 GSN 和 GISN 中, 40 个(95.2%)和 22 个(88.0%)

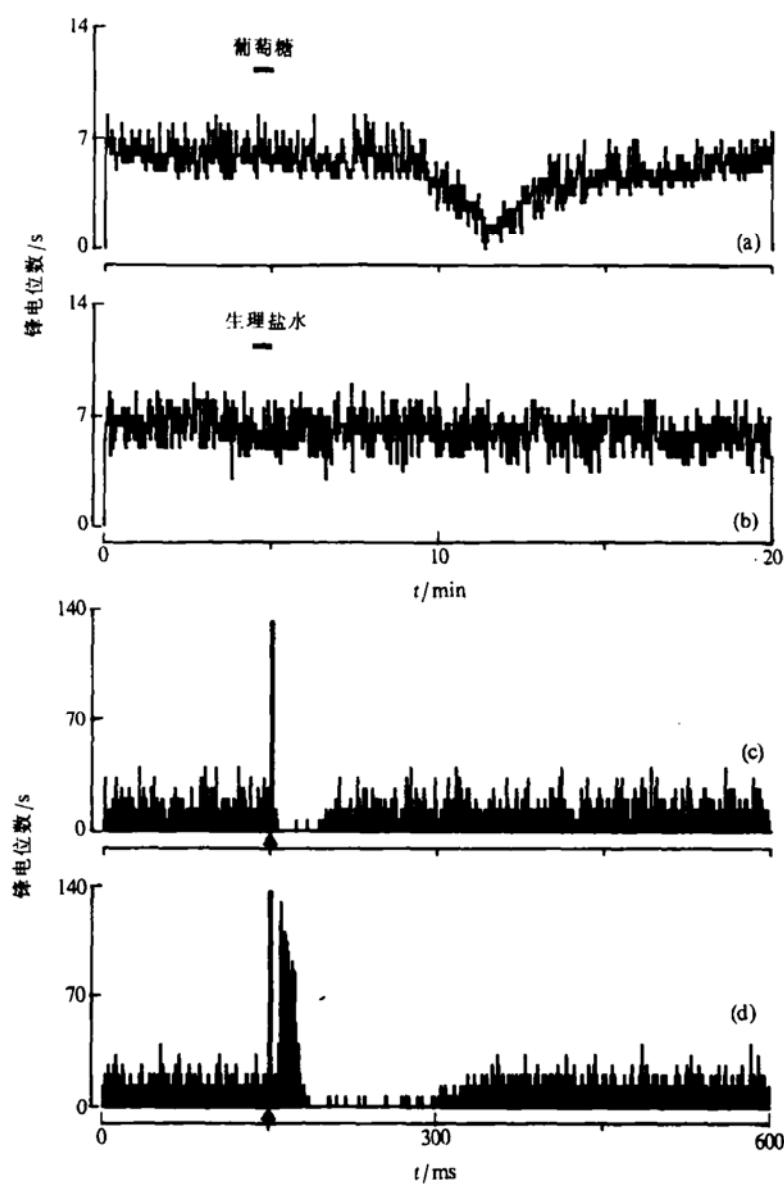


图 3 GSN 对血糖浓度变化和小脑核团刺激的反应

(a) 和 (b) 为 1 次扫描的结果, 采样间隔 2 s, 一为注射持续时间 (30 s); (c) 和 (d) 为 100 次扫描的迭加,
采样间隔 1 ms, ▲ 为刺激伪迹, 余详见正文

表 2 LHA 细胞对小脑核团刺激和血糖变化的反应情况

对小脑核团刺激的反应	对 血 糖 变 化 的 反 应			
	对 IN 刺激有反应的细胞		对 FN 刺激有反应的细胞	
	GSN (<i>n</i> = 42)	GISN (<i>n</i> = 25)	GSN (<i>n</i> = 23)	GISN (<i>n</i> = 8)
抑制	18(42.9%)	13(52.0%)	5(21.7%)	2(25.0%)
抑制-兴奋	7(16.7%)	2(8.0%)	1(4.3%)	
兴奋	8(19.0%)	7(28.0%)	4(17.4%)	2(25.0%)
兴奋-抑制	9(21.4%)	3(12.0%)	13(56.5%)	4(50.0%)

细胞的反应潜伏期<15 ms; 在23个和8个对FN刺激有反应的GSN和GISN中, 20个(87.0%)和8个(100%)的潜伏期<15 ms, 表3列出了这些GSN和GISN对IN和FN刺激的短潜伏期兴奋(包括兴奋-抑制)和短潜伏期抑制(包括抑制-兴奋)反应的平均潜伏期数值, 从表可见这两类细胞的反应潜伏期之间并无差异。

表3 GSN和GISN对IN和FN刺激短潜伏期反应的平均潜伏期($M \pm SD$)数值

细胞类型	对IN刺激的平均潜伏期/ms		对FN刺激的平均潜伏期/ms	
	抑制	兴奋	抑制	兴奋
GSN	$8.30 \pm 2.13 (n=23)$	$11.58 \pm 2.52 (n=17)$	$8.17 \pm 2.23 (n=6)$	$11.30 \pm 2.30 (n=14)$
GISN	$8.47 \pm 2.16 (n=17)$	$11.60 \pm 2.16 (n=5)$	$8.36 \pm 2.44 (n=4)$	$11.25 \pm 2.06 (n=4)$

2.3 对IN和FN刺激有反应的神经元在LHA中的空间分布

组织学检查结果(图4)表明, 对IN刺激有反应的细胞主要集中在LHA的前(即在Snider和Niemer图谱^[5]的A10.5平面左右)背侧部; 而对FN刺激有反应的细胞则主要分布在LHA的后(即A8.5平面左右)背侧部, 两者有显著差异($p < 0.01$, X^2 检验)。但是, GSN在LHA中的分布是散在的, 无特定的规律, 与Oomura等早期实验的结果^[6]一致。

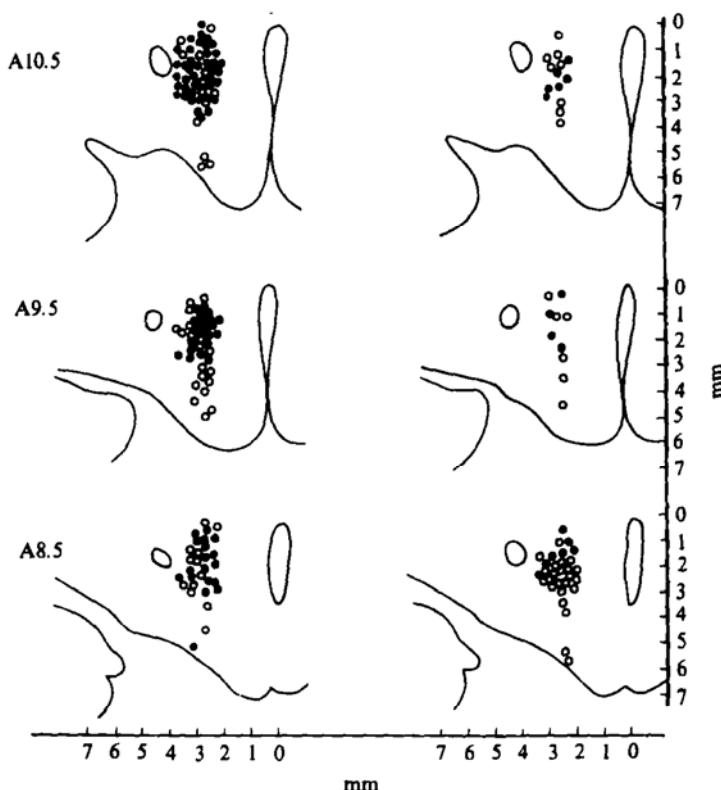


图4 对IN(左)和FN(右)刺激有反应的细胞在LHA中的空间分布

●为抑制和抑制-兴奋反应细胞, ○为兴奋和兴奋-抑制反应细胞。由于记录位点在不同动物上的重合, 在左图中有6个对IN刺激产生抑制反应的细胞未能在A10.5平面上表示出来

3 讨论

在动物的复杂行为活动过程中,伴随有躯体-内脏反应的整合。由于小脑接受广泛的外周躯体性传入^[7],并与下丘脑发生双向的直接纤维联系^[3,4],揭示它可能在机体的躯体-内脏反应整合中起着重要的作用。本研究的结果表明,刺激 IN 和 FN 可以影响 LHA 神经元(其中一些是 GSN)的电活动,从而证明了小脑可以通过对下丘脑的投射通路直接影响下丘脑的活动,参与机体非躯体性活动的调节。

我们观察到,LHA 细胞对 IN 刺激的反应率(36.2%)明显地高于其对 FN 刺激的反应率(23.3%),说明 IN-LHA 投射纤维的数量明显多于 FN-LHA 纤维,证实了神经解剖学研究的结果^[3,4]。部分细胞对先后刺激 IN 和 FN 均产生反应(图 3),则提示 IN 和 FN 对 LHA 细胞有会聚性投射。在对刺激有反应的 LHA 细胞中,绝大多数细胞(88.2% 和 85.2%)对 IN 和 FN 刺激呈现出<15 ms 的短潜伏期反应(图 2),这与其他作者对小脑与下丘脑间神经连接的电生理学研究结果^[8~10]一致。对 GSN 和 GISN 反应潜伏期的进一步分析也得到类似的结果,并且这两类细胞对小脑核团刺激的反应潜伏期并无差异(表 3),揭示支配 GSN 和 GISN 的小脑-下丘脑投射纤维在形态学和生理学特性上亦无差异。考虑到 IN 和 FN 到 LHA 的直线距离约为 20 mm,中枢细纤维的传导速度约为 1 m/s,一个神经冲动从 IN 或 FN 传导到 LHA 约需要 20 ms,故我们推测<15 ms 的短潜伏期反应(特别是其中的抑制反应)是由直接的 IN-LHA 和 FN-LHA 投射纤维^[3,4]单突触地引起的,而那些>15 ms 的长潜伏期反应很可能与经典的小脑-网状结构-下丘脑多突触通路^[7]有关。但是,由于细胞外记录方法的局限性,我们尚不能排除<15 ms 的短潜伏期反应是由短潜伏期的多突触小脑-下丘脑纤维所引起的可能性,故用细胞内记录方法进一步证实上述推测显然是有意义的。曾经认为所有的小脑核团传出都是兴奋性的^[7],但新近的研究表明,小脑核团传出纤维中还有抑制性的 GABA 能神经纤维,并且证明小脑-下橄榄投射就是一条 GABA 能神经通路^[11,12]。因此,虽然目前尚无研究揭示小脑-下丘脑投射纤维的递质性质,但刺激 IN 对 LHA 神经元的作用以抑制为主,而刺激 FN 以兴奋作用占优势(表 1),揭示 IN-LHA 通路中的神经纤维可能大多为 GABA 能的,而 FN-LHA 通路中的纤维大多为 Glu 能的。LHA 神经元对 IN 和 FN 刺激所呈现的双相反应中的次发反应,则可能与 LHA 中的中间神经元或局部环路的作用有关。

在葡萄糖敏感性检测中,67 个对 IN 刺激和 31 个对 FN 刺激有反应的 LHA 细胞中分别有 42 个(62.7%)和 23 个(74.2%)细胞被鉴定为 GSN,其余的为 GISN(表 3)。这一结果说明 IN 和 FN 对 LHA 中的 GSN 和 GISN 均有支配,但以对 GSN 的支配占优势。早已知道,LHA 中的 GSN 对动物摄食活动的调节起有重要的作用^[6],而新近的研究揭示,LHA 中的 GISN 也参与了摄食活动的调节,它们与动物的找水和觅食动机的形成有关^[13~15]。因此,我们认为小脑通过对 LHA 中 GSN 和 GISN 活动的影响,全面地参与动物摄食行为的调节和摄食动机的形成。

刺激 IN 和 FN 主要分别引起 LHA 细胞的抑制和兴奋反应(表 1),对 IN 和 FN 有反应的细胞在 LHA 中也有不同的分布特征(图 4),这些结果揭示这两个小脑核团在参与 LHA 摄食活动调节中的作用是不同的。可以认为,在机体的运动过程中,传入小脑核团的外周躯体信息可进一步经小脑-下丘脑通路以前馈(feedforward)方式到达下丘脑,调节下丘脑神经元的活

动,并通过它们加强或减弱内脏系统的活动以适应躯体运动的需求。由于 IN 主要接受躯体远端(四肢)的信息传入,而 FN 主要接受头面部和躯体近端的传入^[7],我们推测:在四肢剧烈运动时,传入 IN 的肢体信息可能通过 IN-LHA 纤维压抑 LHA 神经元的活动,从而抑制摄食活动的进行;而当机体处于相对静止的摄食状态时,传入 FN 的头面部信息则通过 FN-LHA 纤维易化 LHA 神经元的活动,促进摄食活动的进行。综上所述,我们认为小脑不仅具有调节运动的躯体性功能,而且具有调节内脏活动的非躯体性功能,小脑-下丘脑通路可能是其实现非躯体功能的一个途径。因此,本文的结果将有助于临床神经学对由小脑病变引起的躯体-内脏并发症功能失调(simultaneous somatic and visceral dysfunction)作出合理的解释。

参 考 文 献

- 1 Mahler J M. An unexpected role of the cerebellum: involvement in nutritional organization. *Physiol & Behav*, 1993, 54: 1 063~1 067
- 2 Scalera G, Benassi C. Modifications of food intake and body weight after cerebellar cortex lesions in the rat. *Med Sci Res*, 1989, 17:105~106
- 3 Dietrichs E, Hains D E, Roste G K, et al. Hypothalamo-cerebellar and cerebello-hypothalamic projections-circuits for regulating nonsomatic cerebellar activity? *Histol Histopath*, 1994, 9:603~614
- 4 Hains D E, Dietrichs E. On the organization of interconnections between the cerebellum and hypothalamus. In: King J S ed. *New Concepts in Cerebellar Neurobiology*. New York: Alan R Liss, Inc, 1987. 113~149
- 5 Snider R S, Niemer W T. A Stereotaxic Atlas of the Cat Brain. Chicago: The University of Chicago Press, 1961
- 6 Oomura Y, Ooyama H, Sugimori M, et al. Glucose inhibition of the glucose sensitive neurons in the rat hypothalamus. *Nature (Lond)*, 1974, 247:284~286
- 7 Ito M. *The Cerebellum and Neural Control*. New York: Raven Press, 1984
- 8 Min B, Oomura Y, Katafuchi T. Responses of rat lateral hypothalamic neuronal activity to fastigial nucleus stimulation. *J Neurophysiol*, 1989, 61:1 178~1 184
- 9 Katafuchi T, Koizumi K. Fastigial inputs to paraventricular neurosecretory neurones studied by extra and intracellular recordings in rats. *J Physiol*, 1990, 421:535~551
- 10 Wang T, Yu Q X, Wnag J J. Effect of stimulating lateral hypothalamic area and ventromedial nucleus of hypothalamus on cerebellar cortical neuronal activity in the cat. *Chin J Physiol Sci*, 1994, 10:17~25
- 11 Batini C, Compion C, Buisseret-Delmas C, et al. Cerebellar nuclei and the nucleocortical projections in the rat: retrograde tracing coupled to GABA and glutamate immunohistochemistry. *J Comp Neurol*, 1992, 315:74~84
- 12 McCrea R A, Bishop G A, Kitai S T. Morphological and electrophysiological characteristic of projection neurons in the nucleus interpositus of the cat cerebellum. *J Comp Neurol*, 1978, 181:397~420
- 13 Aou S, Takaki A, Karadi Z, et al. Functional heterogeneity of the monkey lateral hypothalamus in control of feeding. *Brain Res Bull*, 1991, 27:451~455
- 14 Karadi Z, Oomura Y, Nishino H, et al. Complex attributes of lateral hypothalamic neurons in the regulation of feeding of alert rhesus monkeys. *Brain Res Bull*, 1990, 25:933~939
- 15 Parada M A, Hernandez L, Puigde Parada M, et al. Dopamine in the lateral hypothalamus may be involved in the inhibition of locomotion related to food and water seeking. *Brain Res Bull*, 1990, 25:961~968