

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.11.013

结节乳头体在小鼠运动和摄食中的作用及机制研究*

潘炳灿^{1,2} 王 咪¹ 孙向荣¹ 徐 璐^{1Δ}

(1 青岛大学医学院病理生理学教研室 山东 青岛 266021; 2 菏泽医学专科学校 山东 菏泽 274031)

摘要 目的: 探讨结节乳头体在小鼠运动和摄食中的作用及机制。**方法:** 选择雄性 ddy 小鼠, 180-200 g, 通过单侧植入电极损毁 TMN-E2 区。采用荧光金逆行追踪方法检测小鼠 Me5 与 TMN 之间的神经纤维联系; 采用免疫组化方法检测小鼠 TMN 中组氨酸脱羧酶(HDC)免疫反应阳性细胞数; 采用旷场试验箱记录小鼠全天、夜间以及白天的自主活动和摄食饮水; 采用 PCR 检测小鼠穹窿周和下丘脑外侧区的 orexin mRNA 的表达。**结果:** 荧光金逆行追踪实验显示小鼠 Me5 可向 TMN-E2 发出神经纤维投射。单侧 TMN 损毁, 两侧 TMN 中 HDC 反应阳性细胞显著减少($P<0.05$), 且损毁侧比未损毁侧 HDC 免疫反应阳性细胞数减少($P<0.05$)。TMN 损毁对小鼠 24 h 自主活动和摄食饮水无明显影响。单侧 TMN 损毁, 小鼠从暗期到光期的自主活动和摄食饮水显著减少($P<0.05$)。单侧 TMN 损毁, 小鼠正常昼夜活动摄食节律无显著改变。单侧 TMN 损毁, 小鼠穹窿周和下丘脑外侧区白天的 orexin mRNA 表达显著减少($P<0.05$)。**结论:** Me5 与 TMN 之间存在神经通路, 该通路可能通过调节穹窿周或下丘脑外侧区的 orexin 神经元的激活从而调控摄食及相关行为的昼夜节律。

关键词: 摄食; orexin; 昼夜节律

中图分类号: R-33; R338.27 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)11-2062-06

A Study on the Role and Mechanism of Tuberomammillary Nucleus in the Locomotor Activity and Feeding of Mice*

PAN Bing-can^{1,2}, WANG Mi¹, SUN Xiang-rong¹, XU Luo^{1Δ}

(1 Department of Pathophysiology, Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266021, China;

2 Heze Medical College, Heze, Shandong, 274031, China)

ABSTRACT Objective: Study on the role and mechanism of tuberomammillary nucleus in the locomotor activity and feeding of mice. **Methods:** The male ddy mice, 180-200 g, and implantation electrode was used to destroy the unilateral TMN-E2 area. Using Fluorogold retrograde tracing method, the neural connection between Me5 and TMN mice were detected; Immunohistochemistry method was used to record the histidine decarboxylase(HDC) immunoreactive cell number in TMN; The open field system was used to record the locomotor activity and food intake and water intake in 24 h, light and dark phases. PCR was used to record the expression of orexin mRNA in the peripheral fornix and the lateral hypothalamus of mice. **Results:** The fluorogold retrograde tracing experiment showed that the Me5 could send nerve fiber projection to TMN-E2 in mice. In unilateral lesioned TMN, the HDC response positive cells in both sides of TMN were significantly reduced ($P<0.05$), and the number of HDC immunoreactive cells in the lesioned side was lower than that on the undamaged side ($P<0.05$). Unilateral TMN lesion had no significant effect on the locomotor activity and food intake and water intake in 24 h. The locomotor activity and food intake and water intake of mice during the dark phase before the onset of the light phase decreased significantly after unilateral TMN lesion ($P<0.05$). There was no significant change in the normal circadian rhythms of day and night activity in mice with unilateral TMN lesion. The expression of orexin mRNA in the PFA and the lateral hypothalamus in the daytime of the unilateral TMN was significantly reduced ($P<0.05$). **Conclusions:** There is a neural pathway between Me5 and TMN. This pathway may regulate the circadian rhythm of feeding and related behaviors by regulating the activation of orexin neuron in the PFA and hypothalamus lateral area.

Key words: Food intake; Orexin; Circadian rhythm

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R338.27 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)11-2062-06

前言

三叉神经中脑核(Me5)可接收来自三叉神经的本体感觉传

入, 可与三叉神经运动核共同协作参与下颌反射运动^[1,2]。最近, 研究表明双侧 Me5 损毁可导致小鼠夜间进食及相关行为的改变, 伴随着夜间穹窿周的 orexin mRNA 水平升高^[3]。穹窿周和

* 基金项目: 山东省优秀中青年科学基金项目(BS2014YY009)

作者简介: 潘炳灿(1982-), 硕士研究生, 主要研究方向: 神经内分泌, 电话: 0532-82991713, E-mail: 297529569@qq.com

Δ 通讯作者: 徐璐, E-mail: xu.luo@163.com

(收稿日期: 2018-01-09 接受日期: 2018-02-08)

下丘脑外侧区均有 orexin 神经元表达^[4]。Me5 可接收位于下丘脑后部的结节乳头体核(TMN)发出的组胺神经传入^[5-7],并可促进咀嚼运动。虽然有研究表明 Me5 也向 TMN 投射神经纤维^[8,9],但是与此相关的解剖学证明未见报道。

TMN 中的组胺能神经元按形态可细分成五组 (E1-E5),广泛的投射到各个脑区,可调控各种功能,例如,运动、饮酒以及摄食等等^[6,7,10]。TMN-E2 区位于 TMN 腹外侧部,这个区域与觉醒摄食等相关动机行为在功能上联系最为紧密^[11]。因此,我们推测 Me5 可能通过 TMN 的组胺神经元调控小鼠夜间摄食及相关行为。为了解决这个问题,我们采用荧光金逆行追踪技术证明了 Me5 与 TMN 之间的神经纤维投射。我们还测量了小鼠的 24h 的饮水、摄食以及运动,并分析了小鼠 TMN 损毁对下丘脑 orexin mRNA 水平的影响,与先前的 Me5 损毁作出了比较^[3]。我们研究结果表明, TMN-E2 区中的组胺神经元,可接收来自 Me5 的神经纤维投射,通过调节穹隆周区或下丘脑外侧区的 orexin 神经元的激活从而调控摄食及相关行为的昼夜节律。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 ddy 小鼠,180-200 g, 购于青岛市实验动物和动物实验中心。动物房内恒温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$,相对湿度 $60 \pm 5\%$,昼夜循环光照为 12 h:12 h(7:00 开灯),分笼饲养,小鼠皆为标准颗粒饲料,自由饮食进水,实验前适应性饲养一周。所有动物遵循《青岛大学实验动物保护和使用管理方法》。所有实验都按照青岛动物中心标准。实验结束后小鼠采用过量乙醚处死。

1.2 TMN 损毁

8 周龄小鼠水合氯醛(0.3 mL/100 g)麻醉后俯卧位固定于脑立体定位仪,麻醉程度可通过用棉签刺激小鼠角膜,观察反射是否消失或捏夹后腿察小鼠是否仍有肌抵抗力。实验中若出现清醒迹象,可根据具体情况再补给少量水合氯醛。小鼠颅部正中行一纵切口,过氧化氢腐蚀皮下组织充分暴露骨,参照大鼠脑图谱以前囟为原点定位结节乳头体 E2 亚区 (前囟后 2.8 mm,旁开 0.5 mm,深 5.4 mm),单极刺激电极(直径 0.2 mm)垂直进入 TMN-E2,通过高频方波电流脉冲(1.3 mA,3 次/s)传入刺激器,进而产生强电流损毁 TMN-E2。假手术小鼠进行了相同的手术,但没有电流刺激。实验结束后,断头取脑,4%多聚甲醛固定,切片,组氨酸脱羧酶(HDC)免疫组化染色。

1.3 免疫组化染色

(1)从 -20°C 冰箱中取出几张脑组织比较完整的冰冻切片,放于玻片架上过夜晾干。(2)放于生理盐水溶液中洗涤 3 次,每次 5 min。然后放在配置好的 0.01 mol PBS 溶液中洗涤 3 次,每次 5 min。洗涤后浸于柠檬酸缓冲液中进行微波修复,使抗原充分暴露。修复后将玻片上脑组织周围水滴擦去,微量移液器抽取正常山羊血清封闭非特异性抗原,每个脑片 10-20 μL ,保持避光操作,室温孵育 1 h。(3)滴加一抗:血清封闭后甩掉多余羊血清,擦干小鼠脑组织周围液体,微量移液器滴加一抗,抗 HDC 多克隆抗体(山羊抗兔,1:1000 稀释)20 μL ,作为空白荧光对照的切片用 PBS 替代。将加好一抗的标本置于湿盒中, 4°C 过夜(避光操作)。(4)滴加二抗:0.01 mol PBS 溶液中洗涤 3 次,

每次 5 min。微量移液器滴加荧光素 Cy3 标记的二抗(1:500 稀释)20 μL ,室温孵育 2 h(避光操作)。(5)封片:0.01 mol PBS 溶液中洗涤 3 次,每次 5 min 后,取出玻片,擦去周围多余液体,滴加防淬灭荧光封片剂(Citifluor, UK),盖玻片封片。(6)荧光显微镜下观察并计数细胞。

1.4 荧光金逆行追踪

小鼠腹腔注射水合氯醛麻醉, 俯卧位固定于脑立体定位仪。小鼠颅部正中行一纵行切口,过氧化氢腐蚀皮下组织,充分暴露颅骨,参照大鼠脑图谱,以前囟为原点定位 TMN(前囟后 2.8 mm,旁开 0.5 mm,深 5.4 mm),向 TMN 置入套管。微量进样器抽取 0.1 μL 3% (w/v) 荧光金,立体定位仪将微量进样器送至 TMN 深处,缓慢注射荧光金,停留 1 分钟,使荧光金充分扩散。注入后将微量进样器轻轻拔出,缝合小鼠头皮切口。术后给予小鼠腹腔注射 25 万单位的青霉素 3 天以防止术后感染,将术后小鼠放置单独饲养笼内,自由进食饮水饲养 7 天,将饲养 7 天的小鼠使用腹腔注射 10%的水合氯醛 0.3 mL/100g 麻醉。实验结束后,断头取脑,4%多聚甲醛固定,切片,荧光显微镜下观察 Me5 位置,获得荧光金标记图像。

1.5 行为分析

采用旷场系统记录小鼠总自主活动、摄食和饮水。TMN-E2 区损毁或者假损毁七天后,小鼠进入装置进行训练测试,适应测试环境一天。一天后,正式开始记录小鼠摄食、饮水和自由活动,连续记录两天,期间小鼠饮食自由。

1.6 RNA 提取和聚合酶链反应(RT-PCR)

光照或者黑暗环境三小时后,小鼠腹腔麻醉,断头,取脑,4%多聚甲醛后固定。冰冻切片机冠状切片 1 mm(如前所述),组织转移至冷 PBS 液中,显微镜下借助标志性位置(穹隆、第三脑室以及视束)分为下丘脑束旁核和下丘脑外侧区,从穹隆的内侧和腹侧区取出穹隆周组织,组织块冻在液氮中,随后用 Trizol 试剂分离总 RNA,在 260 nm 处测量吸光度定量。变性琼脂糖凝胶电泳证实了 RNA 的完整性。Orexin 前体和管家基因 β -肌动蛋白的 mRNA 表达水平由 RT-PCR 定量。总 RNA(25 ng)根据 Takara RNA LA PCR⁺试剂盒(AMV)v.1.1 的指示用多聚胸腺嘧啶引物和 AMV 逆转录酶进行反转录。用特异引物扩增第一链 cDNA 产物^[3],Orexin 上游引物:5'-GCTCCGTG-CAACAGTTCGTA-3',下游引物:5'-CAGCAAGCCTCTGCCC-GACTG-3'; β -actin 上游引物:5'-ATTGCCGACAGGATGCA-GAAG-3', 下游引物:5'-TAGAAGCATTTGCGGTG-GACG-3'。

1.7 Orexin 和 β -actin cDNA 的分析

用 3%琼脂糖凝胶电泳分离扩增的 cDNA, 使用 SYBR green 进行染色,用 Epi-Light UV FA500 分析仪定量分析,mRNA 的水平由 orexin 和 β -actin 的荧光强度比决定的

1.8 统计学分析

应用 SPSS 18.0 和 PPMS 1.5 软件进行统计学分析。所有数据均以($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间样本均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠 Me5 和 TMN 间神经通路

小鼠 TMN-E2 (图 1A) 注射 0.1 μ L 3% 荧光金, 7 天后在 Me5 发现有荧光金标记的神经元 (图 1B), 提示 Me5 向 TMN-E2 投射神经纤维。

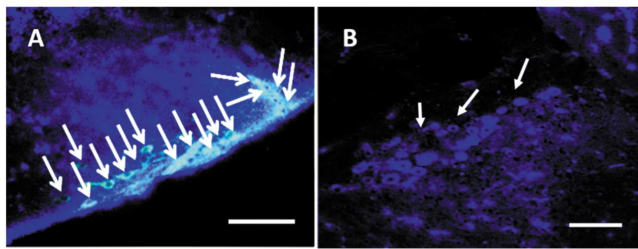


图 1 小鼠 Me5 和 TMN 间神经通路

Fig.1 Neural pathways between Me5 and TMN in mice

A: TMN-E2 区 B: Me5 区

2.2 单侧 TMN 损毁对小鼠 24h 活动和摄食的影响

与假损毁组相比, 单侧 TMN 损毁, 两侧 TMN 中 HDC 反应阳性细胞减少 ($P < 0.05$, 图 2A 和 B)。与假损毁组相比, 损毁的左侧 TMN 比完整的右侧 TMN 中 HDC 反应阳性细胞减少 ($P < 0.05$, 图 2A 和 C)。与假损毁组相比, TMN 损毁小鼠 24 h 自发活动无明显差异 ($P > 0.05$, 图 3A)。与假损毁组相比, TMN 损毁

小鼠 24 h 摄食量无明显差异 ($P > 0.05$, 图 3B)。与假损毁组相比, TMN 损毁小鼠 24 h 摄水量无明显差异 ($P > 0.05$, 图 3C)。

2.3 单侧 TMN 损毁对小鼠昼夜活动和摄食摄水的影响

在假损毁组, 小鼠白天自主活动和摄水摄食显著低于夜间自主活动和摄水摄食, 差异有显著意义 ($P < 0.05$, 图 4)。在 TMN 损毁组, 小鼠白天自主活动和摄水摄食显著低于夜间自主活动和摄水摄食, 差异有显著意义 ($P < 0.05$, 图 4)。但与假损毁组相比, TMN 损毁小鼠白天自主活动和摄水摄食无显著变化 ($P > 0.05$, 图 4); 与假损毁组相比, TMN 损毁小鼠夜间自主活动和摄水摄食也无显著变化 ($P > 0.05$, 图 4)。提示, TMN 损毁对小鼠固有行为无显著影响。

2.4 单侧 TMN 损毁对小鼠暗期到光期自主活动和摄食摄水的影响

在假手术组, 从黑暗早期到黑暗晚期, 小鼠运动及摄水摄食显著减少 ($P < 0.05$, 图 5)。光照早期进一步减少 ($P < 0.05$, 图 5)。因此, 假手术组小鼠从黑暗期进入光照期时这些活动逐渐减少。在 TMN 损毁组, 在黑暗早期和黑暗后期, 小鼠运动及摄水摄食没有明显变化, 且在整个黑暗期保持较高水平 ($P > 0.05$, 图 5)。然而, 从黑暗期入光照期时这些活动显著减少 ($P < 0.05$, 图 5)。因此, 相对于对照组, TMN 损毁组小鼠自主活动和摄水摄

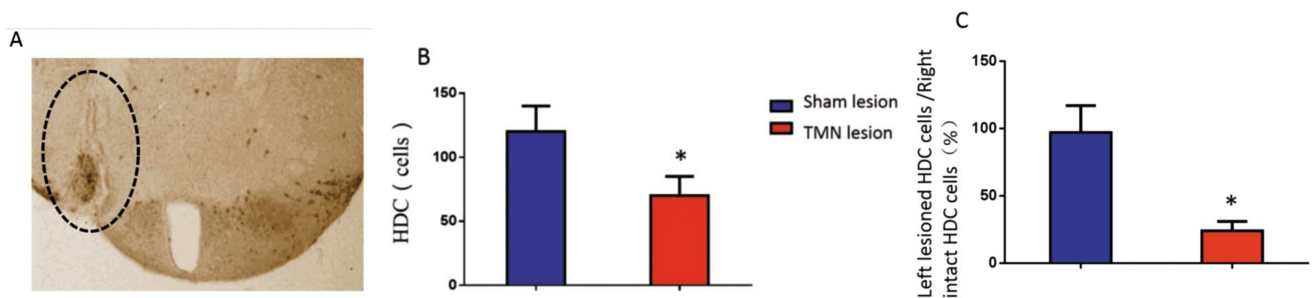


图 2 单侧 TMN 损毁对 HDC 免疫阳性细胞数量的影响

A: HDC 免疫阳性细胞图 B: 两侧总 HDC 细胞数量 C: 左侧 HDC 细胞与右侧 HDC 细胞数量比

* $P < 0.05$, 与假损毁组比较

Fig.2 Effect of unilateral electrolytic lesion on the number of HDC-positive cells in the TMN

A: Photomicrographs of HDC immunostaining B: Total number of HDC-positive cells in the bilateral TMN after left TMN lesion C: Left HDC cells/right HDC cells

* $P < 0.05$ vs. sham lesion

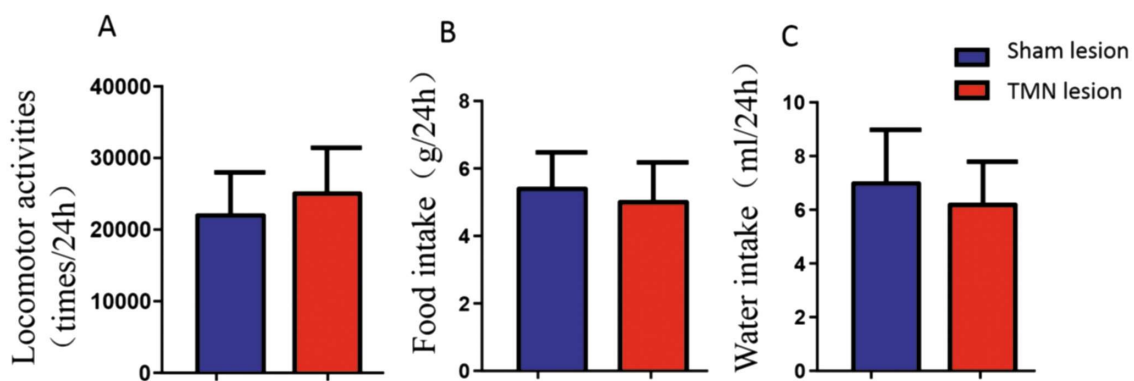


图 3 单侧 TMN 损毁对小鼠 24h 运动、摄食和摄水的影响

A: 自主运动 B: 摄食 C: 摄水

Fig.3 Effect of unilateral electrolytic lesion of TMN on the locomotor activity and food and water intakes in a day

A: Total locomotor activity B food intake C water intake

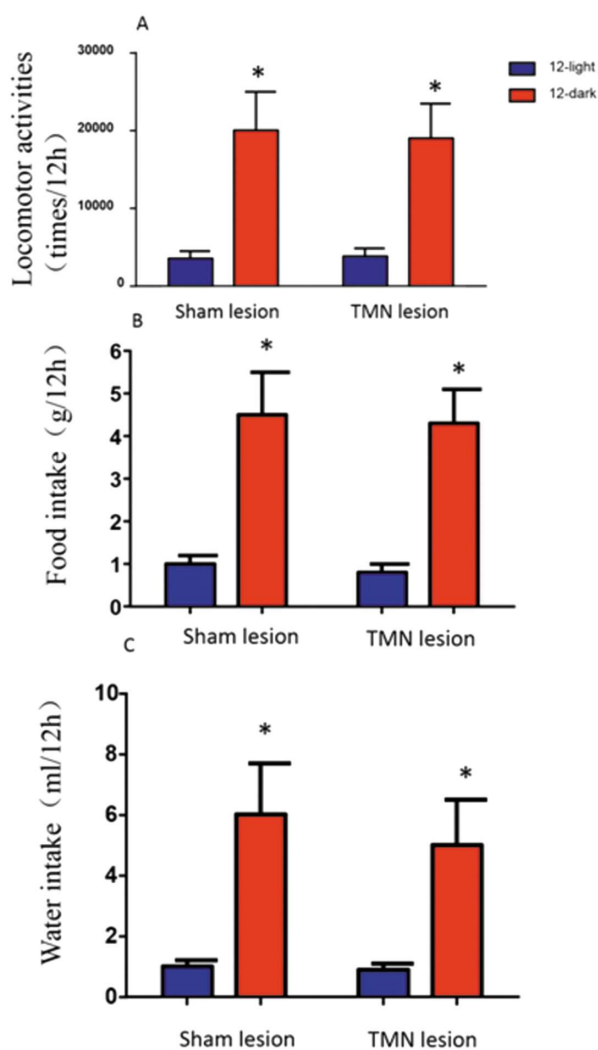


图4 单侧 TMN 损毁对小鼠昼夜活动和摄食饮水的影响

A: 自主运动 B: 摄食 C: 饮水

* $P < 0.05$, 与白天相比

Fig.4 Effect of unilateral electrolytic lesion of TMN on the locomotor activity and food and water intakes during the light and dark phases

A: Total locomotor activity B food intake C water intake

* $P < 0.05$ vs. 12-light group

食延迟减少,尤其是从黑暗早期到黑暗晚期,导致从黑暗晚期进入光照早期时这些行为的突然骤减。

2.5 单侧 TMN 损毁对小鼠穹隆周和下丘脑外侧区 orexin mRNA 表达的影响

在假损毁组,小鼠穹隆周和下丘脑外侧区夜间与白天的 orexin mRNA 表达无明显变化($P > 0.05$,图 6)。然而,在 TMN 损毁组,与夜间相比,小鼠穹隆周和下丘脑外侧区白天的 orexin mRNA 表达显著减少,差异有统计学意义($P < 0.05$,图 6)。

3 讨论

在这项研究中,我们研究了结节乳头体 E2 亚区(TMN-E2)损毁小鼠自主活动以及摄食饮水的昼夜节律,并与假损毁组做了比较。我们发现 TMN-E2 损毁不会大幅改变小鼠的夜间活动,而是产生微妙的变化,即从夜间进入白天时小鼠摄食及相关行为的突然减少。

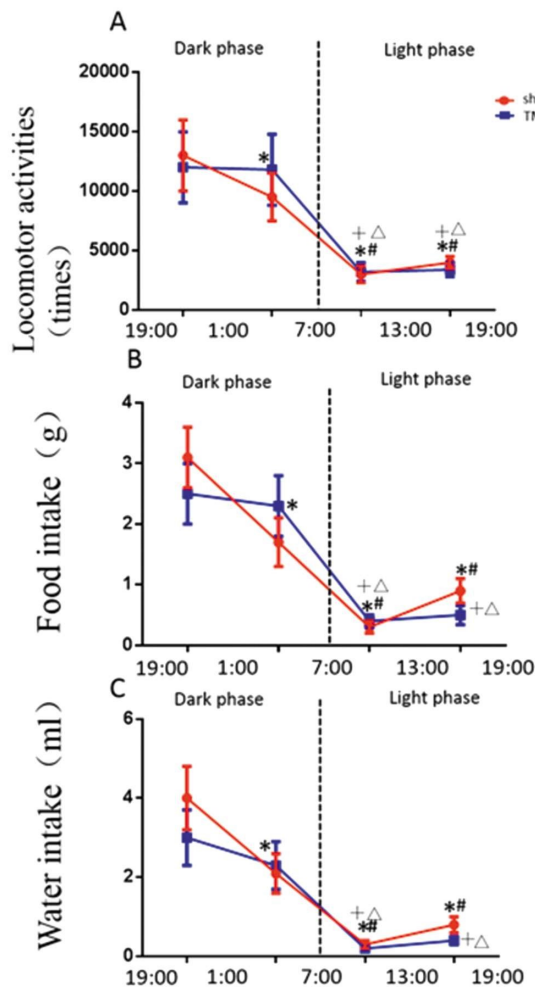


图5 单侧 TMN 损毁对小鼠暗期到光期的自主活动和摄食饮水的影响

A: 自主运动 B: 摄食 C: 饮水

* $P < 0.05$, 与黑暗早期(19:00-1:00)假损毁相比; * $P < 0.05$, 与黑暗晚期(1:00-7:00)假损毁相比; + $P < 0.05$, 与黑暗早期(19:00-1:00)TMN 损毁相比;

‡ $P < 0.05$, 与黑暗晚期(1:00-7:00)TMN 损毁相比

Fig.5 Effect of unilateral electrolytic lesion of TMN on the locomotor activity and food and water intakes during the dark phase before the onset of the light phase

A: locomotor activity B food intake C water intake

* $P < 0.05$ vs. early half of the dark phase (19:00-1:00) sham lesion; * $P < 0.05$ vs. latter half of the dark phase (1:00-7:00) sham lesion; + $P < 0.05$ vs. early half of the dark phase (19:00-1:00) TMN lesion; ‡ $P < 0.05$ vs. latter half of the dark phase(1:00-7:00) TMN lesion

中枢组胺能系统神经元胞体分布的非常局限,而其纤维投射却相当广泛。在中枢系统中,组胺能神经元的胞体集中分布于下丘脑后部的结节乳头核(TMN)内^[12,13],其纤维几乎到达中枢神经系统的所有部分,包括大脑皮层和脊髓。在所有的哺乳动物脑中,大脑皮层、杏仁核、黑质以及纹状体都接受中等或高密度的组胺能神经元投射。在延髓下丘脑,组胺能神经元通过作用于组胺 H1 受体(H1R)参与了脑与身体的基本功能,如调节行为、生物节律、体温与摄食。组胺是一种脑内由组氨酸脱羧酶(histidine decarboxylase, HDC)催化 L-组氨酸脱羧生成的一种重要生理活性的神经递质或神经调质,与睡眠-觉醒周期、食欲、神经内分泌以及学习和记忆等密切相关。有研究报道,组

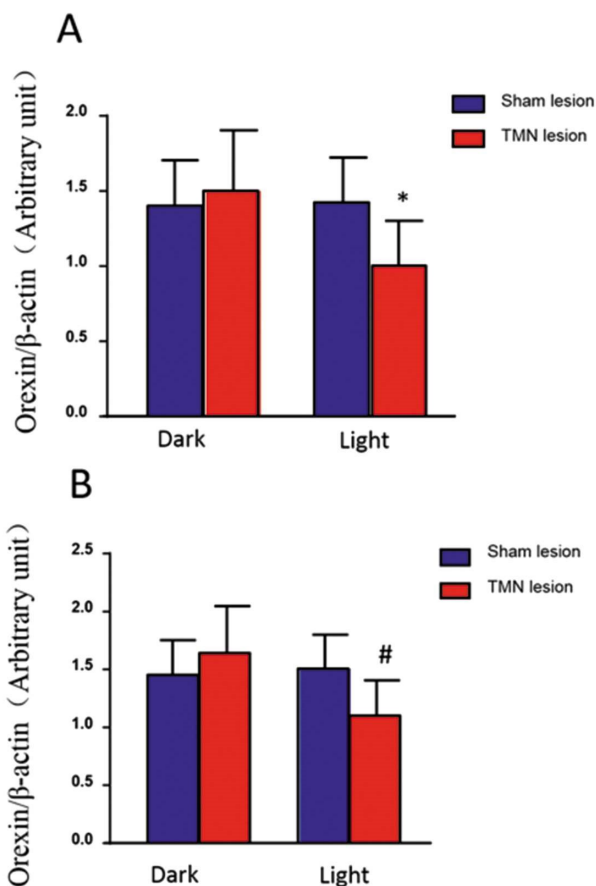


图6 单侧 TMN 损毁对小鼠穹隆周和下丘脑外侧区 orexin mRNA 表达的影响

A: 穹隆周区 B: 下丘脑外侧区

注: * $P < 0.05$, 与 TMN 损毁夜间组 PFA 相比;

$P < 0.05$, 与 TMN 损毁夜间组 LHA 相比

Fig.6 Effect of unilateral electrolytic lesion of TMN on orexin mRNA expression levels in the perifornical area (PFA) and the lateral hypothalamic area (LHA)

A: PFA B: LHA

Note: * $P < 0.05$ vs. the dark phase in TMN lesion PFA group;

$P < 0.05$ vs. the dark phase in TMN lesion LHA group.

胺能神经元可激活 TMN 中的 c-fos 表达,从而参与调节应激、睡眠觉醒以及摄食相关动机行为^[14-18]。人的三叉神经中脑核(Me5)自感觉主核的上端向上延伸至中脑上丘上端平面,紧邻蓝斑核外侧它是一个狭长而松散的核团,长约 22 毫米,属滞留于脑内的感觉神经元,在横切面上,该核位于第四脑室上部及中脑中央灰质的外侧缘,三叉神经运动核的背侧。

组胺能神经元特异性存在于 TMN,向整个大脑发出纤维投射^[12,13]。从形态学上 TMN 可分为五组(E1-E5),广泛投射到多个脑区并调节各种功能^[7,10]。已有研究报道三叉神经中脑核(Me5)可接收 TMN 发出的组胺能神经纤维^[12],但是 Me5 是否向 TMN 发出神经投射我们尚不清楚^[8,9]。而在我们此次研究中,我们采用荧光逆行追踪技术证明了 Me5 向 TMN-E2 亚区发出神经纤维投射。然而,Me5 是否向 TMN 的其他亚区(E1、E3-E5)发出神经纤维投射我们尚不能确定。单侧损毁 TMN,小鼠 TMN 内双侧总的 HDC 免疫阳性反应细胞数量减少,且损毁侧

的 HDC 免疫反应阳性细胞要明显少于未损毁侧,说明损毁侧组胺表达减少,我们的结果证明 TMN 内存在组胺能神经元。此外,小鼠在 24h 内的活动以及摄食饮水无显著变化,说明损毁 TMN 可能只对小鼠夜间或者白天一段时间活动产生影响,不会引起大的波动。此前,有研究报道双侧 Me5 病变可改变小鼠夜间摄食及其相关行为^[9]。Doi 等人也做了类似研究^[19],证明侧脑室注射组胺合成酶 HDC 特异性抑制剂 α -氟甲基组胺注射液(FMH),会增加小鼠的白天活动减少小鼠夜晚活动,从而扰乱小鼠正常活动摄食饮水的昼夜节律。因此,当小鼠 TMN 区组胺能神经元损毁时,小鼠夜间摄食和相关行为大幅改变,这与 Me5 损毁产生的效应类似。这些结果表明 Me5 可通过 TMN 不断向未知的高级脑区域发出信号,从而调控摄食和相关活动的昼夜节律,并维持小鼠夜间活动。

食欲素(orexin)是近年来于下丘脑发现的神经肽,可参与能量代谢、睡眠与觉醒、摄食等多种生理功能,主要表达于下丘脑外侧区,背外侧部及穹隆周区。Orexin 主要分为 Orexin-A(OXA)和 Orexin-B(OXB),其是可控摄食、觉醒、胃肠动力以及能量平衡的神经肽。Orexin 受体 1(OX1R)对 orexin-A 有高亲和力,而 orexin 受体 2(OX2R)对 orexin-A 和 orexin-B 有相同亲和力。虽然 orexin 在中枢分布较为局限,但这些神经元可发出纤维投射至整个大脑,如大脑皮质、海马、丘脑、中脑和脊髓均有纤维投射,其可通过多种机制参与觉醒/睡眠和摄食行为调控,因其潜在的多种作用受到广泛关注。介于 orexin 的睡眠觉醒和摄食的作用,TMN 中的组胺神经元亦有此作用,损毁 TMN 是否会造成 orexin 表达的改变我们尚不清楚。在夜间进入白天的时候 TMN-E2 损毁小鼠摄食和相关活动会骤然减少,但是正常的夜间活动没有发生改变。这些研究结果表明 TMN-E2 亚区与 TMN 其他亚区(E1、E3-E5)相互协作,从功能上维持小鼠的夜间活动。双侧 Me5 损毁小鼠表现出夜间摄食及相关行为的改变,同时伴随着穹隆周区夜间 orexin mRNA 的表达水平下降^[9],然而,单侧 TMN 损毁小鼠穹隆周区和下丘脑外侧区 orexin mRNA 的表达水平均下降,且只发生微妙的变化,不会大幅影响小鼠夜间摄食及相关行为。这些结果表明 TMN 在小鼠摄食及相关行为发挥重要作用。

TMN E1 相关行亚区组胺能神经元支配很多脑区,包括下丘脑、伏隔核、纹状体和前额叶皮层^[12,20]。TMN-E2 接收来自穹隆周区的 orexin 神经元兴奋性输入,可参与睡眠觉醒调节^[21]。orexin 被认为可促进睡眠发生并维持睡眠,也有助于摄食行为^[4]。此外,穹隆周和 TMN-E2 区的神经元可于进餐前激活^[22]。因此,TMN-E2 亚区的损毁阻断了穹隆周和 TMN-E2 神经元的激活,抑制了夜间摄食行为,并导致摄食及相关行为下降的延迟,从而从夜间进入白天时小鼠摄食及相关行为骤然减少。我们研究结果表明 TMN-E2 区中的组胺神经元,可接收来自 Me5 的神经纤维投射,通过调节穹隆周区或下丘脑外侧区的 orexin 神经元的激活从而调控摄食及相关行为的昼夜节律。

在此次研究中,我们没有研究 TMN E1、E3-E5 亚区对小鼠夜间行为的调节作用,虽然对睡眠觉醒周期、食欲、伤害、认知以及情感的调节是未知的,但我们猜想 TMN 对这些行为的调控是有多个亚区相互协作的^[10,23,24]。以后有必要进一步研究除了 E2 以外的 TMN 亚区对小鼠夜间行为的调控,从而全面了

解内在调节机制。

参考文献(References)

- [1] Goto T, Oh SB, Takeda M, et al. Recent advances in basic research on the trigeminal ganglion[J]. J Physiol Sci, 2016, 66(5): 381-386
- [2] Boes CJ. The history of examination of reflexes [J]. J Neurol, 2014, 261(12): 2264-2274
- [3] S Yokoyama, K Kinoshita, Y Muroi, et al. The effects of bilateral lesions of the mesencephalic trigeminal sensory nucleus on nocturnal feeding and related behaviors in mice [J]. Life Sci, 2013, 93(18): 681-686
- [4] Pourreza P, Babapour V, Haghpour A. Role of dorsal hippocampal orexin-1 receptors in modulation of antinociception induced by chemical stimulation of the lateral hypothalamus [J]. Physiol Behav, 2017, 185: 79-86
- [5] Yoshida A, Moritani M, Nagase Y, et al. Projection and synaptic connectivity of trigeminal mesencephalic nucleus neurons controlling jaw reflexes[J]. J Oral Sci, 2017, 59(2): 177-182
- [6] H Umehara, H Mizuguchi, H Fukui. Identification of a histaminergic circuit in the caudal hypothalamus: an evidence for functional heterogeneity of histaminergic neurons [J]. Neurochem Int, 2012, 61(6): 942-947
- [7] Díez-García A, Garzon M. Regulation of the phases of the sleep-wakefulness cycle with histamine [J]. Rev Neurol, 2017, 64(6): 267-277
- [8] H Ericson, A Blomqvist, C Kohler. Brainstem afferents to the tuberomammillary nucleus in the rat brain with special reference to monoaminergic innervation[J]. J Comp. Neurol, 1989, 281: 169-192
- [9] H Ericson, A Blomqvist, C Kohler. Origin of neuronal inputs to the region of the tuberomammillary nucleus of the rat brain [J]. J Comp Neurol, 1991, 311: 45-64
- [10] Contreras M, Riveros ME, Quispe M, et al. The Histaminergic Tuberomammillary Nucleus Is Involved in Appetite for Sex, Water and Amphetamine[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0148484
- [11] JL Valdes, C Sanchez, ME Riveros, et al. The histaminergic tuberomammillary nucleus is critical for motivated arousal [J]. Eur J Neurosci, 2010, 31: 2073-2085
- [12] P Panula, G Flugge, E Fuchs, et al. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain[J]. Brain Res, 1989, 484: 234-239
- [13] Moriwaki C, Chiba S, Wei H, et al. Distribution of histaminergic neuronal cluster in the rat and mouse hypothalamus [J]. J Chem Neuroanat, 2015, 68: 1-13
- [14] Fujita A, Bonnavion P, Wilson MH, et al. Hypothalamic Tuberomammillary Nucleus Neurons: Electrophysiological Diversity and Essential Role in Arousal Stability [J]. J Neurosci, 2017, 37(39): 9574-9592
- [15] Noain D, Büchele F, Schreglmann SR, et al. Increased Sleep Need and Reduction of Tuberomammillary Histamine Neurons after Rodent Traumatic Brain Injury[J]. J Neurotrauma, 2018, 35(1): 85-93
- [16] Yamanaka K, Gouraud SS, Takagishi M, et al. Evidence for a histaminergic input from the ventral tuberomammillary nucleus to the solitary tract nucleus involved in arterial pressure regulation [J]. Physiol Rep, 2017, 5(5): e13095
- [17] Lee EY, Hwang YG, Lee HS. Hypothalamic neuronal origin of neuropeptide Y (NPY) or cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) fibers projecting to the tuberomammillary nucleus of the rat[J]. Brain Res, 2017, 1657: 16-28
- [18] Valdés JL, Sánchez C, Riveros ME, et al. The histaminergic tuberomammillary nucleus is critical for motivated arousal [J]. Eur J Neurosci, 2010, 31(11): 2073-2085
- [19] Rozov SV, Porkka-Heiskanen T, Panula P. On the Role of Histamine Receptors in the Regulation of Circadian Rhythms [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0144694
- [20] N Inagaki, A Yamatodani, M Ando-Yamamoto, et al. Organization of histaminergic fibers in the rat brain [J]. J Comp Neurol, 1988, 273: 283-300
- [21] L Bayer, E Eggermann, M Serafin, et al. Orexins (hypocretins) directly excite tuberomammillary neurons [J]. Eur J Neurosci, 2001, 14: 1571-1575
- [22] H Umehara, H Mizuguchi, N Mizukawa, et al. Deprivation of anticipated food under scheduled feeding induces c-Fos expression in the caudal part of the arcuate nucleus of hypothalamus through histamine H1 receptors in rats: potential involvement of E3 subgroup of histaminergic neurons in tuberomammillary nucleus[J]. Brain Res, 2011, 1387: 61-70
- [23] RE Brown, DR Stevens, HL Haas. The physiology of brain histamine [J]. Prog Neurobiol, 2001, 63: 637-672
- [24] MB Passani, JS Lin, A Hancock, et al. The histamine H3 receptor as a novel therapeutic target for cognitive and sleep disorders [J]. Trends Pharmacol Sci, 2004, 25: 618-625

(上接第 2071 页)

- [21] Mardomi A, Sabzichi M, Hussein S M, et al. Trafficking mechanism of bone marrow-derived mesenchymal stem cells toward hepatocellular carcinoma HepG2 cells by modulating Endoglin, CXCR4 and TGF- β [J]. Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France), 2016, 62(11): 81
- [22] Lin L, Fang Z, Lin H, et al. Depletion of Cks1 and Cks2 expression compromises cell proliferation and enhance chemotherapy-induced apoptosis in HepG2 cells[J]. Oncol Rep, 2016, 35(1): 26-32
- [23] Lou Y R, Kanninen L, Kaehr B, et al. Silica bioreplication preserves three-dimensional spheroid structures of human pluripotent stem cells and HepG2 cells[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 13635
- [24] Tandon P, Reddy K R, O'Leary J G, et al. A Karnofsky performance status-based score predicts death after hospital discharge in patients with cirrhosis[J]. Hepatology, 2017, 65(1): 217-224