科学通报
第 41 卷 第 24 期 CHINESE SCIENCE BULLETIN 1996 年 12 月

组胺对小脑皮层颗粒细胞电活动的影响*

李文昌 王建军** 唐晓晗 顾 云*** 李红召***
(南京大学生物科学与技术系,南京 210093)

关键词 小脑皮层 颗粒细胞 组胺 下丘脑-小脑通路 小脑脑片

脑内组胺(histamine)作为神经递质或调质的概念已经确立[1]. 新近的神经解剖学研究揭示了下丘脑-小脑组胺能通路,这些组胺能纤维由下丘脑结节乳头核到达小脑皮层和小脑深部核团,其中以蚓部和绒球的颗粒细胞层密度最高[1,2];在小脑皮层神经元上也发现了组胺受体[1]. 但是,组胺对小脑神经元的生理学作用至今还未得到证实. 由于颗粒细胞(granulecell, GrC)是小脑皮层中唯一中转苔状纤维传入信息的细胞,在小脑的功能活动中起重要作用,故我们在离体大鼠小脑脑薄片上,观察了组胺对 GrC 单位放电活动的影响,以探讨组胺能传入通路在小脑皮层感觉运动整合中的可能作用.

1 材料与方法

实验用 SD 大鼠(200～300 g)15 只. 动物在盐酸氯胺酮(4 mg/100 g)麻醉下,被断头取出小脑. 小脑组织块经冷冻人工脑脊液(ACSF,4℃)冲洗后,被粘结到振动切片机的切片台上,在冷冻 ACSF 浸没下切取 300 μm 厚小脑蚓部矢状脑薄片. 将小脑脑片移入记录室并孵育 40 min 后开始实验,记录室内持续地灌流 ACSF(33 ± 0.2℃;pH 7.4,流量 2 mL/min),并通以 95% O_2 和 5% CO_2 混合气. ACSF 中各溶质的浓度(mmol/L)分别为:NaCl 124, KCl 5, $MgSO_4$ 1.3, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 26, $CaCl_2$ 2.4, Glucose 10. 在部分实验中使用了低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF,其中 Ca^{2+} 浓度被降至 0.25 mmol/L, Mg^{2+} 被升至 4.0 mmol/L. 用玻璃微电极(内充 2 mol/L NaCl 导电液,直流阻抗 2～3 MΩ)细胞外记录 GrC 的自发放电及其对组胺(1～100 μmol/L)的反应. GrC 的判别标准[3]为:(1)细胞放电在 GrC 层被记录到;(2)细胞的动作电位幅度比浦肯野细胞的动作电位幅度小;(3)有效记录距离 5～10 μm. 组胺(上海生物化学研究所)用 ACSF 或低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF 配制,灌流持续时间 1 min. GrC 的放电信号经放大并由窗口甄别器转换成 TTL 脉冲后,输入计算机作刺激后时间直方图(post-stimulus histogram,采样间隔 = 1 s),以评价 GrC 对组胺的反应.

2 结果与讨论

2.1 组胺对 GrC 单位放电活动的影响

在 15 张脑片上记录了 45 个 GrC 的自发放电活动及其对组胺的反应,其中 37 个细胞

1995-11-20 收稿,1996-02-12 收修改稿
* 国家自然科学基金、国家教委年轻教师基金和国家教委留学回国人员科研资助费资助项目
** 联系人
*** 南京大学生理学专业本科 1995 届毕业实习生

(82.2%)对组胺产生反应. 在这37个对组胺有反应的细胞中,29个细胞对组胺产生兴奋反应(78.4%,29/37),8个产生抑制反应(21.6%,8/37). 可见,GrC对组胺的反应以兴奋为主. 图1显示了GrC对组胺的兴奋和抑制反应. 从图可见,当组胺的浓度增大时,细胞的放电频率随之增高图1(a)或降低图1(b),反应的持续时间也随之增长,即细胞的放电频率变化与组胺的灌流浓度呈明确的量效关系. 由于目前尚未见有组胺对小脑皮层GrC活动影响的报告,故图1所示结果的意义在于首次揭示了组胺对GrC活动的调节作用,提示下丘脑-小脑组胺能纤维可能通过释放组胺实现调节小脑机能活动的作用.

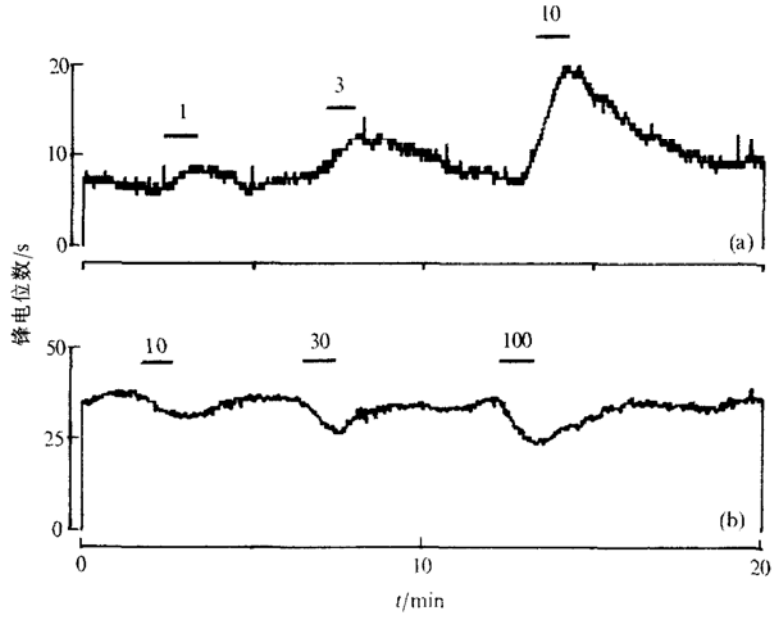


图1 小脑皮层GrC对组胺的兴奋(a)和抑制(b)反应

直方图上方的横线和数字分别示组胺灌流的时间(1 min)和浓度(μmol/L)

2.2 低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF条件下组胺对GrC放电活动的影响

由于GrC接受苔状纤维的兴奋性传入和高尔基细胞的抑制性传入,因此要排除GrC对组胺的反应是由组胺对这些突触前成分的作用间接引起的可能性. 为此,我们在5个GrC上观察了在低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF条件下细胞的自发放电频率变化及其对组胺的反应. 结果表明:当对小脑脑片灌流低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF时,这5个GrC的自发放电频率与其在正常ACSF环境中的自发放电频率相比,均无统计学差异;并且,它们对组胺的反应形式也未有改变. 如图2所示的GrC在正常ACSF和低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF环境中对组胺均呈现兴奋反应,反应的幅度也基本不变,只是反应的持续时间在低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} 环境下略有延长. 早已知道,细胞外的低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} 环境能够阻断神经细胞间正常的突触传递过程. 在海马脑片和前庭内侧核脑片上已经证明,由于低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF对突触前钙通道和神经递质的 Ca^{2+} 依赖性释放的阻断作用,可使突触传递效率降低90%[4,5];又由于在离体脑片上,到达小脑皮层的苔状纤维都被切断,故图2的结果可以排除突触前因素导致GrC兴奋的可能,即GrC的放电频率增加应该是组胺对其突触后作用的表现. 在另一方面,由图2可见,在低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} 环境下GrC的自发放电频率未有增加,这一结果也排除了抑制性中间神经元高尔基细

胞对 GrC 突触作用的可能性(即 GrC 因高尔基细胞-GrC 突触传递的阻断而脱抑制).

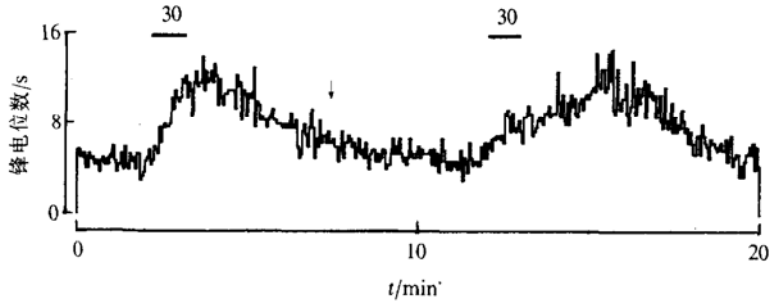


图 2　正常和低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF 灌流时,小脑皮层 GrC 对组胺的兴奋反应
直方图中的箭头指示由正常 ACSF 切换到低 Ca^{2+}-高 Mg^{2+} ACSF 的时刻

2.3　GrC 对组胺的反应与其自发放电频率的关系

我们发现 GrC 的自发放电频率可能是决定组胺效应的一个因素,即自发放电频率低的 GrC 多被组胺所兴奋,而放电频率高的 GrC 则多为组胺所抑制(参见图 1 和图 2). 实验所记录的 45 个 GrC 的自发放电频率范围为 2.05～37.14 Hz,其中对组胺呈现兴奋反应的细胞(n =29)的平均放电频率为(10.08 ± 7.00)Hz(M ± SD),比抑制反应细胞(n = 8)的平均放电频率(27.16 ± 8.24)Hz 要低,两者有显著差异(p < 0.001, t 检验). 这一现象很像另外两种单胺类递质 5-HT 或 NA 对小脑皮层浦肯野细胞和大脑皮层神经元作用的情形[6]. 5-HT 或 NA 对处于不同自发放电频率时的神经元的不同效应,被认为是细胞膜上兴奋性和抑制性两种不同亚型的 5-HT 或 NA 受体,在细胞处于不同放电频率时相互功能关系变化的表现[6]. 一般认为,脑内存在 H_1, H_2 和 H_3 3 种组胺受体,其中 H_3 受体为突触前自身受体,H_1 和 H_2 受体分别介导了神经元对组胺的兴奋和抑制反应[1]. 因此,我们的结果提示在 GrC 上可能同时存在 H_1 和 H_2 受体,在细胞放电频率低时,H_1 受体起着主要的作用,介导细胞对组胺的兴奋反应;反之,在细胞放电频率高时则主要由 H_2 受体介导细胞的抑制反应. 但是,我们先前的工作揭示,H_2 受体在前庭内侧核也与 H_1 受体一样介导神经元的兴奋反应[5]. 因此,上述推测亟需直接的实验结果加以证实. 关于组胺对 GrC 作用受体机制的分析工作,正在我们实验室进行.

小脑皮层除接受经典的苔状和爬行纤维传入之外,还接受中缝核 5-HT 能纤维和蓝斑核 NA 能纤维的直接投射,这两类纤维构成了小脑的胺能纤维传入系统. 目前认为胺能传入纤维对小脑皮层神经元有突触的和非突触的化学传递作用,它们的非突触化学传递可能不是迅速的位相性(phasic)信息编码,而是对靶神经元的膜电位和基础放电水平起精细的调节作用[7]. 新近的神经解剖学研究所揭示的下丘脑-小脑直接投射纤维在进入小脑皮层之后也有与胺能纤维同样的形态学特征,即它们都是以弥散的多层纤维(multi-layered fiber)终止于小脑皮层[2],这些下丘脑-小脑纤维中的一部分也是使用单胺类物质(组胺)为神经递质的[1,2]. 进一步研究组胺能传入纤维对小脑神经元活动的影响,特别是其与经典的苔状和爬行纤维传入系统之间的相互关系,对于深入了解小脑感觉运动整合机能显然有重要的理论意义.

参 考 文 献

1 Schwartz J C, Arrang J M, Garbarg M *et al*. Histaminergic transmission in the mammalian brain. Physiol Rev, 1991, 71: 1～51

2 Dietrichs E, Haines D E, Roste G K *et al*. Hypothalamocerebellar and cerebellohypothalamic projections: circuits for regulating nonsomatic cerebellar activity? Histol Histopath, 1994, 9:603～614

3 Huang C M, Mu H, Hsiao C F. Identification of cell types from action potential waveforms: cerebellar granule cells. Brain Res, 1993, 619:313～318

4 Jahnsen H. The action of 5-hydroxytryptamine on neural membranes and synaptic transmission in area CA1 of the hippocampus *in vitro*. Brain Res, 1980, 197:83～94

5 Wang J J, Dutia M B. Effects of histamine on rat medial vestibular nucleus neurones: possible mechanism of action of anti-histaminergic drugs in vertigo and motion sikness. Exp Brain Res, 1995, 105:18～24

6 Strahlendorf J C, Strahlendorf H K, Lee M. Electrophysiological effects of serotonin on cerebellar Purkinje cells. In: King J S ed. New Concepts in Cerebellar Neurobiology, New York: Alan R Liss Inc, 1987, 321～348

7 Gardettes R, Crepel F. Differential modulation by serotonin of the responses induced by excitatory amino acids in cerebellar nuclei neurons and Purkinje cells. In: Trouillas P, Fuxe K eds. Serotonin, the Cerebellum and Ataxia, New York: Reven Press, 1993, 225～236