

[文章编号] 1671-587X(2025)01-0017-09

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250103

前列腺素E₂对雌性小鼠下丘脑视前区正中核热敏神经元 放电活动的影响及其机制

侯晓钰¹, 李 娅¹, 宋宜安¹, 何田慧², 张 洁², 胥建辉²

(1. 成都医学院第一附属医院产科, 四川 成都 610500; 2. 成都医学院体温与炎症四川省高校重点实验室, 四川 成都 610500)

[摘要] **目的:** 探讨致热介质前列腺素E₂ (PGE₂) 对雌性小鼠下丘脑视前区正中核 (MnPO) 热敏神经元 (WSNs) 放电活动的影响, 并阐明其作用机制。**方法:** 制作雌性小鼠MnPO冠状脑片, 灌流含有突触阻断剂 (STBs) 的人工脑脊液 (ACSF), 改变灌流液温度的同时应用膜片钳技术检测神经元的放电频率, 鉴定WSNs。32个MnPO WSNs分为基础放电组 ($n=32$) 和PGE₂组 ($n=32$), 采用膜片钳技术检测MnPO WSNs分别灌流ACSF和 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂后的放电频率。选择灌流PGE₂后放电频率明显改变且活性良好的MnPO WSNs ($n=21$), 分为PGE₂受体E系列前列腺素受体 (EP) 1拮抗剂 (EP1 ant) + PGE₂组 ($n=7$)、EP3 ant + PGE₂组 ($n=7$) 和EP4 ant + PGE₂组 ($n=7$), 采用膜片钳技术检测MnPO WSNs分别灌流 $3\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EP1 ant和 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂混合液、 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EP3 ant和 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂混合液及 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EP4 ant和 $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂混合液后的放电频率。**结果:** 灌流含有STBs的ACSF后, 共有188个雌性小鼠的MnPO神经元进行了内在温度敏感系数 (以m值表示) 的鉴定, 其中32个神经元的m值 ≥ 0.8 , 被鉴定为MnPO WSNs, 占有记录神经元的17%。与基础放电频率比较, 加入PGE₂后MnPO的放电频率明显降低 ($P<0.05$); 与PGE₂组比较, EP3 ant + PGE₂组MnPO WSNs的放电频率百分比改变降低 ($P<0.05$); 与PGE₂组比较, EP1 ant + PGE₂组MnPO WSNs的放电频率的百分比改变差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与PGE₂组比较, EP4 ant + PGE₂组MnPO WSNs的放电频率的百分比改变差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论:** 雌性小鼠MnPO存在约17%的WSNs; PGE₂可通过突触后的机制经EP3受体直接抑制雌性小鼠MnPO WSNs的放电活动。

[关键词] 发热; 前列腺素E₂; 视前区正中核; 热敏神经元; EP3受体

[中图分类号] R714; R339.6 **[文献标志码]** A

Effect of prostaglandin E₂ on discharge activity of warm-sensitive neurons in median preoptic nucleus of hypothalamus in female mice and its mechanism

HOU Xiaoyu¹, LI Ya¹, SONG Yian¹, HE Tianhui², ZHANG Jie², XU Jianhui²

(1. Department of Obstetrics, First Affiliated Hospital, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China;

[收稿日期] 2024-02-21 [录用日期] 2024-04-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (32100926); 四川省成都市卫健委医学科研项目 (2022093); 四川省医学会科研项目 (Q22010); 成都医学院科研项目 (CYZYB21-16)

[作者简介] 侯晓钰 (1986-), 女, 湖北省十堰市人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事妊娠期体温与代谢调节方面的研究。

[通信作者] 胥建辉, 助理研究员 (E-mail: helloxjh@126.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

2. Key Laboratory of Thermoregulation and Inflammation of Sichuan Universities, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the effect of prostaglandin E2 (PGE₂), a pyrogenic mediator, on the discharge activity of warm-sensitive neurons (WSNs) in median preoptic nucleus (MnPO) of hypothalamus in the female mice, and to clarify its mechanism. **Methods:** Coronal brain slices of MnPO were prepared from the female mice. The slices were then perfused with artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing synaptic transmission blockers (STBs). The discharge frequency was monitored using the patch clamp technique while changing the temperature of the perfusate to identify the WSNs. A total of 32 MnPO WSNs were divided into base line group ($n=32$) and PEG₂ ($n=32$). The patch clamp technique was employed to monitor the discharge frequencies of MnPO WSNs following the perfusion of ACSF and $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂, respectively. The MnPO WSNs with good activity and significant change in discharge frequency after PGE₂ perfusion were divided into PGE₂ receptor E-series prostaglandin receptor (EP)1 antagonist (EP1 ant)+PGE₂ group ($n=7$), EP3 ant+PGE₂ group ($n=7$), and EP4 ant+PGE₂ group ($n=7$). The patch clamp technique was used to monitor the discharge frequencies of MnPO WSNs following the perfusion of $3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EP1 ant and $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂ mixture, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EP3 ant and $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂ mixture, and $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EP4 ant and $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PGE₂ mixture, respectively. **Results:** After perfusion of the ACSF containing STBs, a total of 188 MnPO neurons from the female mice with an intrinsic temperature sensitivity coefficient (m value) were identified; out of these, 32 neurons had an m value of ≥ 0.8 and were identified as MnPO WSNs, accounting for approximately 17% of all recorded neurons. Compared with baseline discharge frequency, the discharge frequency of MnPO WSNs after addition of PGE₂ was decreased ($P<0.05$). Compared with PGE₂ group, the percentage change in discharge frequency of MnPO WSNs in EP3 ant+PGE₂ group was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with PGE₂ group, the percentage change in discharge frequency of MnPO WSNs in EP1 ant+PGE₂ group had no significant difference ($P>0.05$). Compared with PGE₂ group, the percentage change in discharge frequency of MnPO WSNs in EP4 ant+PGE₂ group had no significant difference ($P>0.05$). **Conclusion:** In the female mice, WSNs make up approximately 17% of the total neurons in MnPO. PGE₂ can directly inhibit the discharge activity of MnPO WSNs in the female mice through postsynaptic mechanism involving EP3 receptors.

KEYWORDS Fever; Prostaglandin E2; Median preoptic nucleus; Warm-sensitive neuron; EP3 receptor

发热是感染和炎症性疾病的重要临床特征,同时也是机体抵抗外来细菌或病毒感染的一种生理性防御反应^[1]。基于雄性哺乳动物的研究^[2-4]表明:脂多糖等致热源进入机体后可诱导终末致热介质前列腺素E2 (prostaglandin E2, PGE₂)合成并释放到视前区正中核 (median preoptic nucleus, MnPO),随后PGE₂作用于MnPO神经元,引起体核温度上升。但是目前PGE₂介导雌性哺乳动物发热的中枢机制,尤其是PGE₂作用于雌性哺乳动物MnPO神经元的具体神经机制尚不清楚。下丘脑视前区存在可感受大脑局部温度变化的内在热敏神经元 (warm-sensitive neurons, WSNs)^[5-7],其可被大脑局部温度升高所激活,引起

产热减少,散热增加,体温降低,在机体的负反馈体温调节和发热反应的进程中发挥重要作用^[2, 8-9]。MnPO是视前区参与雄性和雌性哺乳动物体温调节的重要亚核^[10-15]。既往研究^[16]发现该核团同样存在WSNs。MnPO还分布有PGE₂的E系列前列腺素受体 (E-series prostaglandin receptor, EP) 1、EP3和EP4受体^[17]。本文作者据此推测PGE₂可能通过其受体影响MnPO WSNs的放电活动以介导雌性哺乳动物发热反应的形成,但目前尚未见相关报道。因此,本研究利用脑片膜片钳技术结合温度监测鉴定雌性小鼠的MnPO WSNs,探讨PGE₂对MnPO WSNs放电频率的影响及其受体机制,为研究PGE₂介导雌性哺乳动物发热的中枢机

制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 实验用成年雌性C57BL/6小鼠35只, 购自成都达硕实验动物有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(川)2020-030, 动物伦理审批号: 2021014。氯化钠、氯化钾、氯化钙、氯化镁、硫酸镁、磷酸二氢钾、碳酸氢钠和葡萄糖等试剂均购自成都科龙化工试剂厂, 异氟烷购自深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司。PGE₂、PGE₂受体EP3拮抗剂(PGE₂ receptor EP3 antagonist, EP3 ant) L798106、乙二醇醚二胺四乙酸、羟乙基哌嗪乙磺酸、三磷酸腺苷镁盐(adenosine 5'-triphosphate magnesium salt, Mg-ATP)、三磷酸钠盐水合物(guanosine 5'-triphosphate sodium salt hydrate, Na₂GTP)、6-氰基-7-硝基喹啉啉-2,3-二酮(6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione, CNQX)、D(-)-2-氨基-5-膦戊酸[D(-)-2-amino-5-phosphonopentanoic acid, AP5]和荷包牡丹碱均购自美国Sigma-Aldrich公司, PGE₂受体EP1拮抗剂(PGE₂ receptor EP1 antagonist, EP1 ant)(SC-51322)和PGE₂受体EP4拮抗剂(PGE₂ receptor EP4 antagonist, EP4 ant)(L-161982)购自美国Cayman Chemical公司, 玻璃电极购自美国Sutter公司。人工脑脊液(artificial cerebrospinal fluid, ACSF): 124 mmol·L⁻¹氯化钠、26 mmol·L⁻¹碳酸氢钠、5 mmol·L⁻¹氯化钾、2.4 mmol·L⁻¹氯化钙、1.3 mmol·L⁻¹硫酸镁、1.24 mmol·L⁻¹磷酸二氢钾和10 mmol·L⁻¹葡萄糖。电极内液: 130 mmol·L⁻¹葡萄糖酸钾、10 mmol·L⁻¹乙二醇醚二胺四乙酸、10 mmol·L⁻¹羟乙基哌嗪乙磺酸、2 mmol·L⁻¹ Mg-ATP、2 mmol·L⁻¹ Na₂GTP和1 mmol·L⁻¹氯化钙, 渗透压调至295 mOsm·kg⁻¹, pH值调至7.2~7.4。突触阻断剂(synaptic transmission blockers, STBs): CNQX和AP5是兴奋性神经递质谷氨酸的受体阻断剂, 荷包牡丹碱是抑制性神经递质γ-氨基丁酸的受体阻断剂。参考既往文献^[8, 18]报道, 本研究通过向ACSF中加入CNQX(10 μmol·L⁻¹)、AP5(50 μmol·L⁻¹)和荷包牡丹碱(50 μmol·L⁻¹)混合液的方式阻断突触传递, 消除突触前神经元对记录神经元放电活动的影响。

EPC-10膜片钳放大器购自德国HEKA公司, FN1荧光显微镜购自日本尼康公司, P97电极拉制

仪和MPC-385电动式微操纵器购自美国Sutter公司, TC324B和CL-100温度控制器购自美国Warner公司, LEAD-2蠕动泵购自中国兰格恒流泵有限公司。

1.2 MnPO冠状脑片的制备 参照以往研究^[8]的方法, 异氟烷麻醉雌性小鼠, 断头取脑, 置于充以混合氧(95% CO₂和5% O₂)的0℃~4℃ACSF中冷冻, 1~2 min后取出修块, 用少量氰基丙烯酸酯胶黏剂将修好的组织块固定在切片机上, 切下厚度约为250 μm包含MnPO的冠状脑片, 在充以混合氧的34℃ACSF中孵育1 h以上备用。

1.3 MnPO WSNs分组和处理 采用雌性小鼠制作MnPO冠状脑片后, 灌注含有STBs的ACSF。改变灌注液温度的同时应用膜片钳技术和温度监测探头同步记录神经元的放电频率及温度, 鉴定MnPO WSNs。32个MnPO WSNs分为基础放电组($n=32$)和PGE₂组($n=32$), 采用膜片钳技术检测MnPO WSNs分别灌注ACSF和1 μmol·L⁻¹ PGE₂后的放电频率。选择灌注PGE₂后放电频率明显改变且活性良好的MnPO WSNs($n=21$), 分为EP1 ant+PGE₂组($n=7$)、EP3 ant+PGE₂组($n=7$)和EP4 ant+PGE₂组($n=7$), 采用膜片钳技术检测MnPO WSNs分别灌注3 μmol·L⁻¹ EP1 ant和1 μmol·L⁻¹ PGE₂混合液、10 μmol·L⁻¹ EP3 ant+1 μmol·L⁻¹ PGE₂混合液和10 μmol·L⁻¹ EP4 ant+1 μmol·L⁻¹ PGE₂混合液后的放电频率。

1.4 膜片钳技术结合温度监测技术检测MnPO神经元的放电频率和温度敏感系数 利用恒温灌注系统将充以混合氧的ACSF维持在36℃~37℃。随后, 将包含MnPO的脑片移入充满ACSF和STBs的灌注槽内, 参考Paxinos-Watson小鼠脑图谱, 在显微镜下找到MnPO区, 挑选状态良好的神经元, 选择入水电阻约6 MΩ的玻璃电极进行细胞封接。调整微操纵器使玻璃电极靠近细胞, 在电极入水直至电极接触细胞之前持续给予正压, 接触细胞时放开正压, 通过细胞自然回弹或者负压吸引封堵电极口形成细胞贴附式记录方式, 此后切换至电流钳模式, 将输入电流设置为0, 记录神经元的自发膜电位, 信号经放大器放大后显示在计算机上, 神经元每秒自动发放的动作电位数量即为该神经元的放电频率(单位为Hz)。

通过Pachmaster软件采集神经元动作电位的数

据, 采样频率为10 kHz, 低通滤波2 kHz。分析软

件采用Clampfit10.1软件。动作电位图形处理采用Origin 8.0软件。参照文献[7],计算加药前1 min灌流ACSF时神经元的动作电位放电频率平均值,作为基础放电值;计算加药时持续1 min的放电频率平均值,作为加药时的响应值。加药时,神经元放电频率的百分比改变=(加药时的放电频率平均值-加药前的放电频率平均值)/加药前的放电频率平均值;灌流不同试剂后,神经元平均放电频率升高或降低超过1 Hz且其升高或降低幅度超过10%被认定为有明显改变。

确保灌流的ACSF中含有STBs,以鉴定记录神经元是否具备内在的温度敏感性。通过温控系统使浴槽液温度保持在32℃~40℃范围内,采用膜片钳系统记录神经元放电活动,温度监测探头同时记录神经元附近的浴槽液温度。以浴槽液温度为横坐标、放电频率为纵坐标绘制频率-温度散点图,线性拟合后直线的斜率(m值)即为神经元的温度敏感系数,其表示单位时间和温度内的放电个数(单位为impulses·S·℃)^[8]。m值越大代表温度敏感性越强。根据文献[3]定义,m值≥0.8定义为WSNs。

1.5 统计学分析 采用SPSS 21.0统计软件对数据进行统计学分析。各组神经元的放电频率和放电频率百分比改变均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示。2组间样本均数比较采用两独立样本t检验,同一组加药前后样本均数比较采用配对t检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

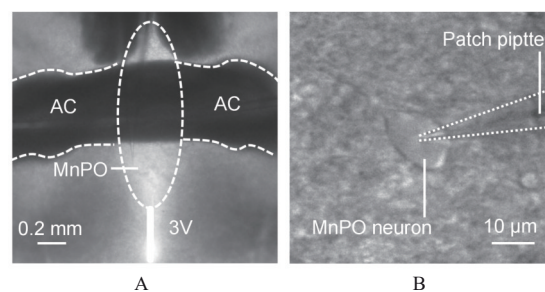
2 结果

2.1 雌性小鼠 MnPO 神经元的温度敏感系数鉴定

图1所示为显微镜下的MnPO及MnPO神经元。MnPO附近分布有解剖标志:前联合和第三脑室。状态良好的MnPO神经元边界清晰,立体感强,在玻璃电极施压的正压下会呈现出明显的凹陷。灌流含有STBs的ACSF后,共对188个MnPO神经元进行m值的鉴定,其中32个神经元的m值≥0.8,被鉴定为WSNs,约占总记录神经元的17%。典型WSNs的自发动作电位和放电频率可随着脑片局部温度的升高而增加,并随着脑片局部温度的下降而降低,其m值≥0.8。见图2。

2.2 加入 PGE₂ 前后 MnPO WSNs 的放电频率

在含有STBs的ACSF中继续加入PGE₂后,共有22个MnPO WSNs的放电频率下降,约占所有MnPO WSNs的69%。其中21个MnPO WSNs在



A: MnPO; B: MnPO neuron. AC indicated anterior commissure. 3V indicated third ventricle.

图1 雌性小鼠冠状脑片上MnPO和MnPO神经元形态表现

Fig. 1 Morphology of MnPO and MnPO neurons in coronal brain slices of female mice

洗脱后仍然保持良好的活性,可继续进行下一步实验。加入PGE₂前,MnPO WSNs的基础平均放电频率为(8.9±5.0) Hz (n=32);加入PGE₂后,MnPO WSNs的平均放电频率下降至(5.7±6.7) Hz (n=32)。与基础放电频率比较,加入PGE₂后,MnPO WSNs放电频率明显降低($P<0.05$)。见图3。

2.3 PGE₂组和EP3 ant+PGE₂组 MnPO WSNs 的放电频率

与基础放电频率比较,PGE₂组MnPO WSNs放电频率明显降低($P<0.05$);与基础放电频率比较,EP3 ant+PGE₂组MnPO WSNs放电频率差异无统计学意义($P>0.05$);与PGE₂组比较,EP3 ant+PGE₂组MnPO WSNs放电频率的百分比改变降低($P<0.05$)。见图4和表1。

2.4 PGE₂组和EP1 ant+PGE₂组 MnPO WSNs 的放电频率

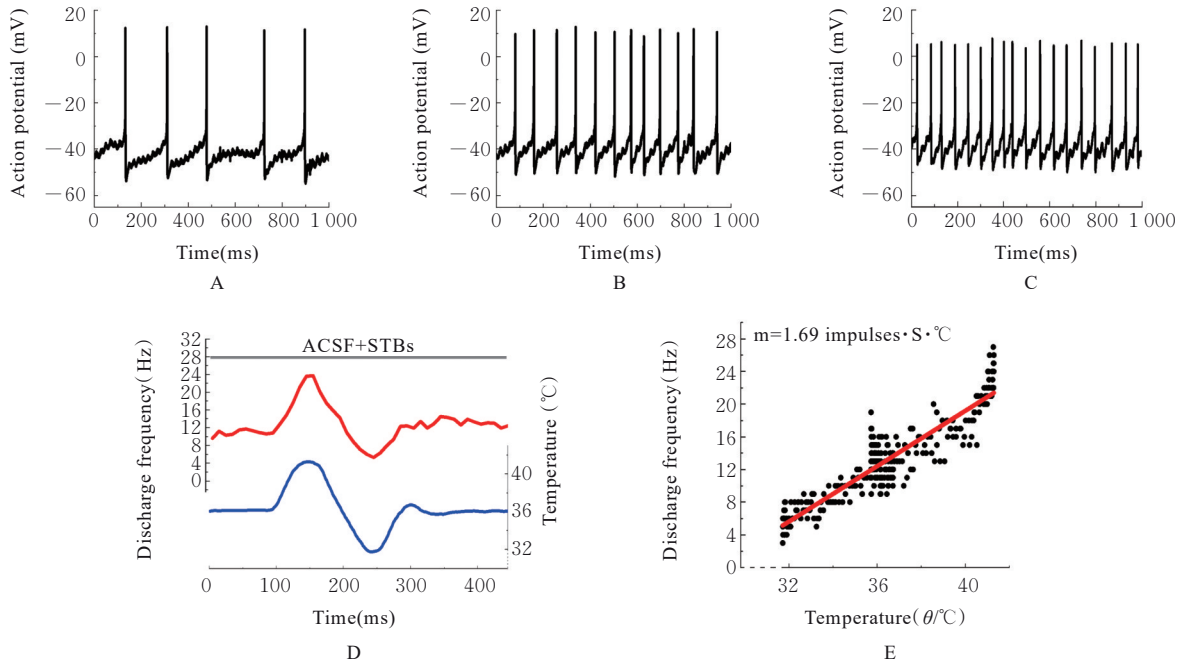
与基础放电频率比较,PGE₂组和EP1 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率明显降低($P<0.05$);与PGE₂组比较,EP1 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率的百分比改变差异无统计学意义($P>0.05$)。见图5和表2。

2.5 PGE₂组和EP4 ant+PGE₂组 MnPO WSNs 的放电频率

与基础放电频率比较,PGE₂组和EP4 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率明显降低($P<0.05$);与PGE₂组比较,EP4 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率的百分比改变差异无统计学意义($P>0.05$)。见图6和表3。

3 讨论

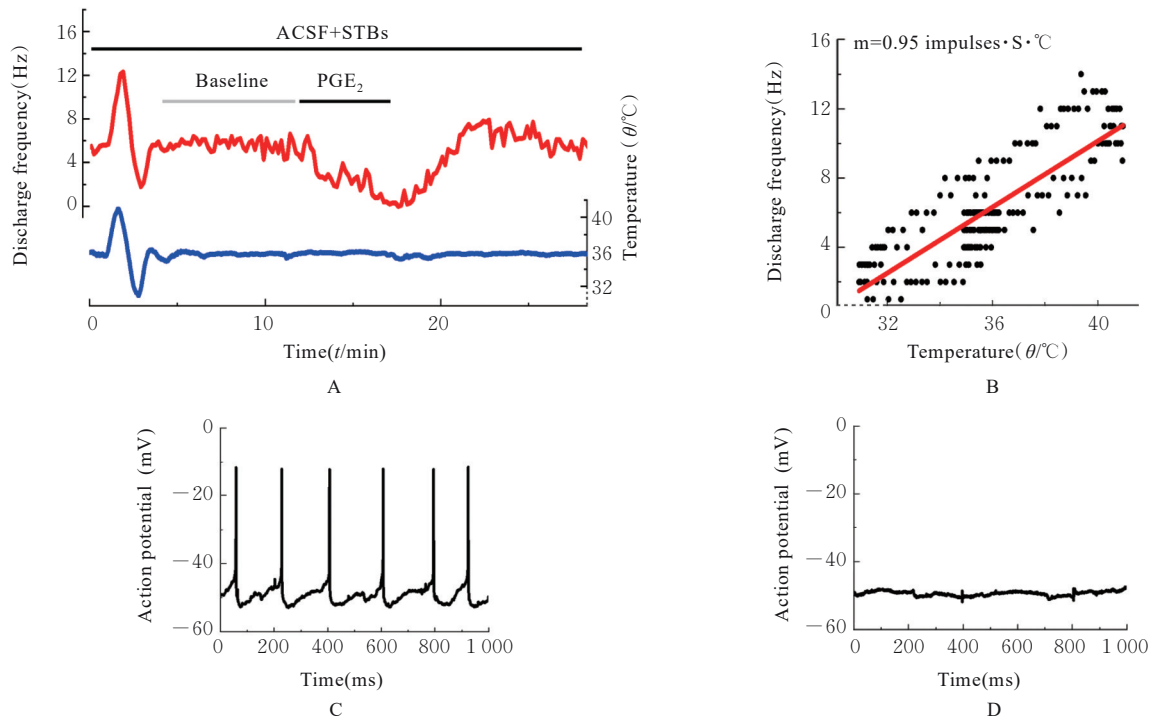
既往对WSNs的研究^[19-20]多着眼于整个视前区,尚未见有研究关注MnPO单个亚核的WSNs。



A—C: Experimental records of action potential in MnPO WSNs in local temperature change process of brain slices; A: 32 °C; B: 36 °C; C: 40 °C; D: Spontaneous discharge frequency (red trace) and tissue temperature (blue trace) recorded in MnPO WSNs in local temperature change process of brain slice; E: Temperature sensitivity coefficient of MnPO WSNs.

图2 脑片局部温度变化过程中MnPO WSNs的动作电位、放电频率和温度敏感系数

Fig.2 Action potentials, discharge frequencies, and temperature sensitivity coefficients of MnPO WSNs in local temperature change process of brain slices



A: Spontaneous discharge frequency (red trace) and tissue temperature (blue trace) of MnPO WSNs before and after perfusion with PGE₂; B: Temperature sensitivity coefficient of recorded MnPO WSNs; C: Before addition of PGE₂; D: After addition of PGE₂.

图3 加入PGE₂前后MnPO WSNs的放电频率和动作电位

Fig.3 Discharge frequencies and action potentials of MnPO WSNs before and after addition of PGE₂

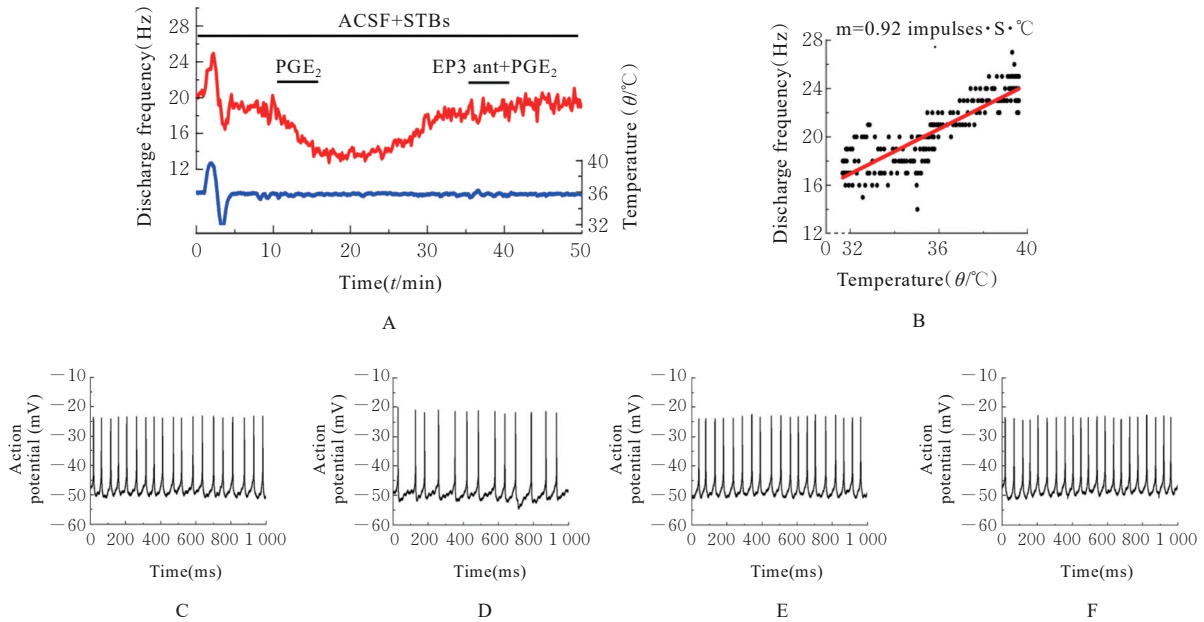


图4 PGE₂组和EP3 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率及动作电位
A: Spontaneous discharge frequency (red trace) and tissue temperature (blue trace) of MnPO WSNs before and after perfusion with PGE₂ and EP3 ant+PGE₂; B: Temperature sensitivity coefficient of recorded MnPO WSNs; C: Before perfusion with PGE₂; D: After perfusion with PGE₂; E: Before perfusion with EP3 ant+PGE₂; F: After perfusion with EP3 ant+PGE₂.

图4 PGE₂组和EP3 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率及动作电位

Fig. 4 Discharge frequencies and action potentials of MnPO WSNs in PGE₂ group and EP3 ant+PGE₂ group

表1 PGE₂组和EP3 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率

Tab. 1 Discharge frequencies of MnPO WSNs in PGE₂ group and EP3 ant+PGE₂ group (n=7, $\bar{x} \pm s$)

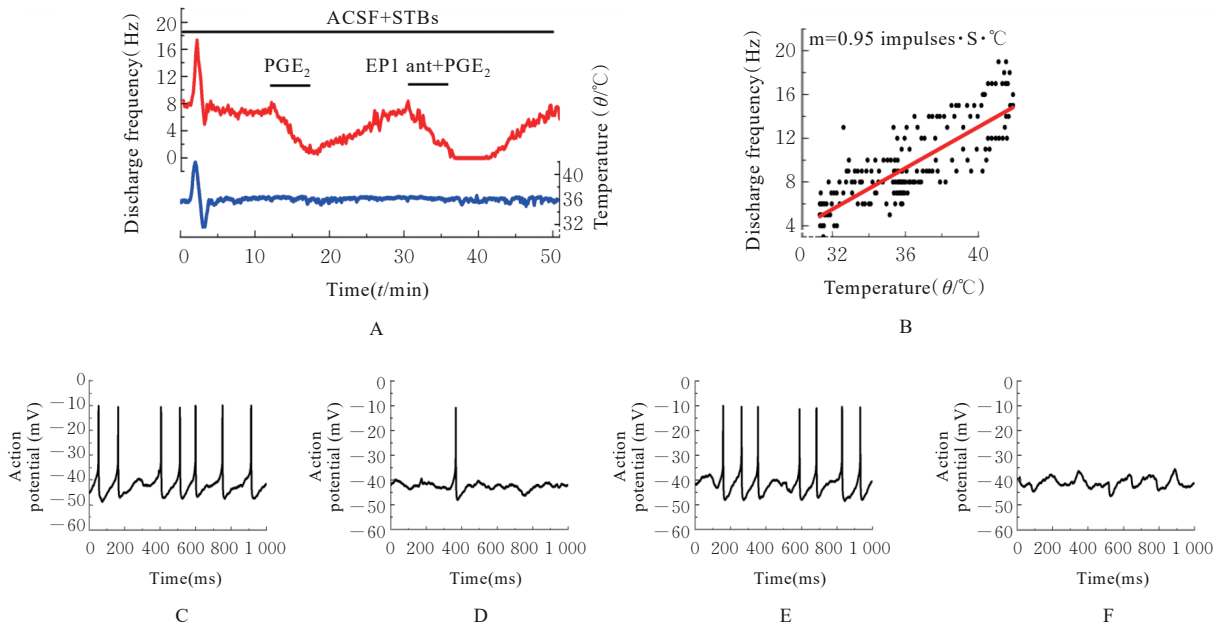
Group	Discharge frequency(Hz)		Percentage change in discharge frequency ($\eta/\%$)
	Baseline	After reagent addition	
PGE ₂	6.6±2.3	2.1±2.6*	-73.8±30.2
EP3 ant+PGE ₂	6.2±2.2	6.1±2.2	-1.4±10.3 [△]

* $P < 0.05$ vs baseline; [△] $P < 0.05$ vs PGE₂ group.

既往研究^[16]利用单细胞记录技术在雄性大鼠MnPO仅记录到3个WSNs,且该研究并未在灌流的ACSF中加入STBs,因此无法确定记录到的3个WSNs是否具有内在的热敏特性。本研究向脑片灌流液中加入STBs后,利用膜片钳技术在雌性小鼠MnPO记录到了32个具有内在热敏特性的WSNs,其比例约为17%,这个数值与雄性小鼠整个视前区的WSNs比例(20%~28%)相似^[8, 21],提示雌性小鼠MnPO存在大量的内在WSNs,具有参与负反馈体温调节的神经基础。国内学者^[8]利用埋置光纤的光热效应将小鼠视前区不同亚核升高同样的温度,可以引起不同程度的体温降低,其中MnPO是对局部升温最敏感的亚核之一(引起的降温幅度最大),上述研究结果提示MnPO WSNs

在雌性小鼠的负反馈体温调节中发挥重要作用。

近年来国内外学者利用单细胞RNA测序和脑片膜片钳等技术鉴定出了视前区WSNs的特异性分子标记^[9, 21],结果显示:采用化学遗传学技术激活上述表达了特异性分子标记的神经元可以降低小鼠体温,而抑制此类神经元可以升高其体温。本研究结果显示:PGE₂可通过突触后的机制直接抑制雌性小鼠MnPO WSNs。与MnPO注射PGE₂可以明显升高大鼠的体核温度的结果一致^[22-23]。视前区注射PGE₂还可反转升高该脑区局部温度引起的小鼠体核温度下降^[8]。上述结果提示PGE₂可能通过直接抑制雌性小鼠MnPO WSNs对抗其介导的负反馈调节作用,从而升高体核温度并将体核温度维持在高于正常水平的范围,以参与雌性哺乳动物发热反



A: Spontaneous discharge frequency (red trace) and tissue temperature (blue trace) of MnPO WSNs before and after perfusion with PGE₂ and EP1 ant+PGE₂; B: Temperature sensitivity coefficient of recorded MnPO WSNs; C: Baseline group (before PGE₂ perfusion); D: PGE₂ group; E: Baseline group (before perfusion with EP1 ant+PGE₂); F: EP1 ant+PGE₂ group.

图5 PGE₂组和EP1 ant+PGE₂组MnPO WSN的放电频率及动作电位

Fig. 5 Discharge frequencies and action potentials of MnPO WSN in PGE₂ group and EP1 ant+PGE₂ group

表2 PGE₂组和EP1 ant+PGE₂组MnPO WSNs的放电频率

Tab. 2 Discharge frequencies of MnPO WSNs in PGE₂ group and EP3 ant+PGE₂ group ($n=7, \bar{x} \pm s$)

Group	Discharge frequency(Hz)		Percent change in discharge frequency ($\eta/\%$)
	Baseline	After reagent addition	
PGE ₂	7.8±6.5	3.6±7.1*	-72.7±30.1
EP1 ant+PGE ₂	8.1±7.0	3.6±7.6*	-76.2±35.1

* $P<0.05$ vs baseline group.

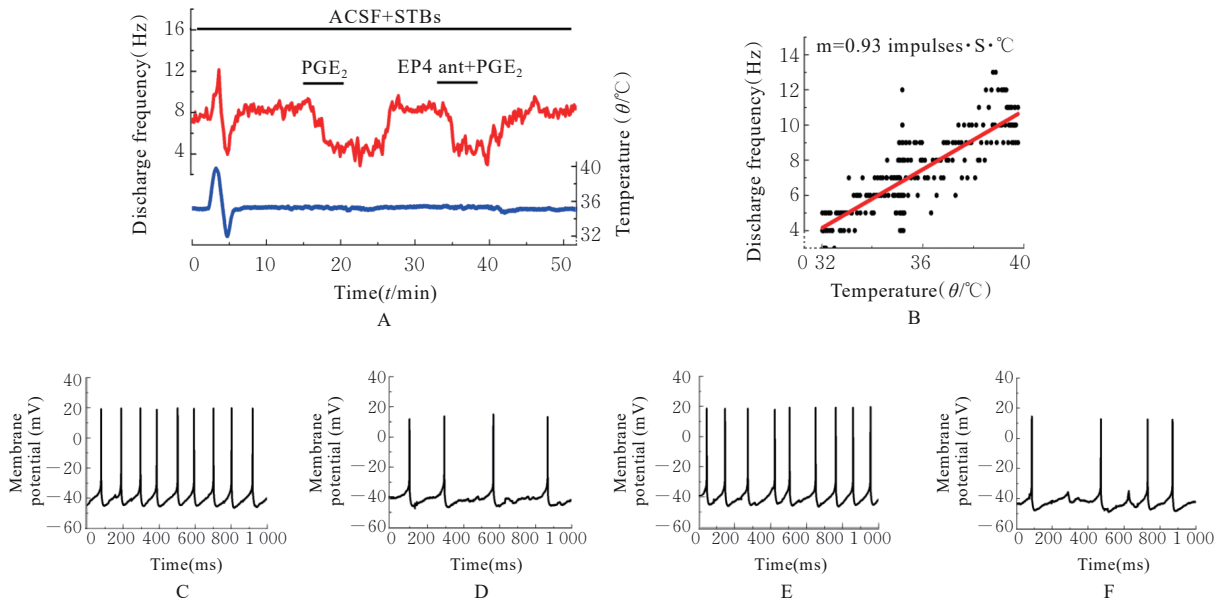
应的形成。

为了进一步探索PGE₂抑制雌性小鼠MnPO WSNs的受体机制,本研究观察了不同的PGE₂受体拮抗剂对PGE₂的作用,结果显示:PGE₂通过突触后的机制经EP3受体直接抑制MnPO WSNs。既往研究^[24]表明:大鼠MnPO注射EP3而非EP1或EP2受体兴奋剂可以模拟相同位点注射PGE₂引起的体温升高,该位点注射EP3而不是EP1或EP2受体拮抗剂可以抑制PGE₂的升温作用。近年来国内学者利用原位杂交和免疫荧光技术发现小鼠视前区约50%表达了WSNs分子标记的神经元同时表达EP3受体^[8]。基因删除小鼠MnPO表达EP3受体的神经元可明显抑制甚至取消脂多糖诱导的发热反应^[25]。上述结果提示PGE₂可能经EP3受体直接

抑制MnPO WSNs,进而升高体温,参与雌性哺乳动物发热反应的形成。

虽然EP4受体未介导PGE₂对MnPO WSNs的作用,向大鼠MnPO注射EP4受体兴奋剂可以模拟相同位点注射PGE₂引起的升温作用;MnPO注射EP4受体拮抗剂可以抑制相同位点注射PGE₂的升温作用^[24],提示PGE₂经EP3受体直接抑制MnPO WSNs可能不是释放到MnPO的PGE₂致热的唯一机制。机体可能还存在其他EP4受体介导的致热机制。

综上所述,本研究结果显示:雌性小鼠MnPO存在大量的WSNs;致热介质PGE₂可通过突触后的机制经EP3受体直接抑制MnPO WSNs。MnPO的WSNs可能在雌性小鼠的负反馈体温调



A: Spontaneous discharge frequency (red trace) and tissue temperature (blue trace) of MnPO WSN before and after perfusion with PGE₂ and EP4 ant+PGE₂; B: Thermal sensitivity coefficient of recorded MnPO WSNs; C: Baseline group (before PGE₂ perfusion); D: PGE₂ group; E: Baseline group (before perfusion with EP4 ant+PGE₂); F: EP4 ant+PGE₂ group.

图6 PGE₂组和EP4 ant+PGE₂组 MnPO WSN 的放电频率及动作电位

Fig. 6 Discharge frequencies and action potentials of MnPO WSN in PGE₂ group and EP4 ant+PGE₂ group

表3 PGE₂组和EP4 ant+PGE₂组 MnPO WSNs 的放电频率

Tab. 3 Discharge frequencies of MnPO WSNs in PGE₂ group and EP4 ant+PGE₂ group ($n=7, \bar{x} \pm s$)

Group	Discharge frequency(Hz)		Percentage change in discharge frequency ($\eta/\%$)
	Baseline	After reagent addition	
PGE ₂	7.6±2.1	2.1±2.4*	-75.2±24.4
EP4 ant+PGE ₂	7.3±3.6	2.1±2.6*	-74.4±29.8

* $P < 0.05$ vs baseline.

节以及发热的形成中扮演重要角色; PGE₂可能经 EP3 受体直接抑制 MnPO WSNs, 进而升高体温, 参与发热的形成。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

侯晓钰参与论文的整体设计和论文撰写, 李娅参与实验数据的统计学分析, 宋宜安和何田慧参与实验过程, 张洁和胥建辉参与论文撰写及审校。

[参考文献]

- [1] BLOMQUIST A, ENGBLOM D. Neural mechanisms of inflammation-induced fever[J]. *Neuroscientist*, 2018, 24(4): 381-399.
- [2] NAKAMURA K, NAKAMURA Y, KATAOKA N. A hypothalamomedullary network for physiological

responses to environmental stresses [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2022, 23(1): 35-52.

- [3] MACHADO N L S, SAPER C B. Genetic identification of preoptic neurons that regulate body temperature in mice[J]. *Temperature*, 2022, 9(1): 14-22.
- [4] SHIONOYA K, ESKILSSON A, BLOMQUIST A. Prostaglandin production selectively in brain endothelial cells is both necessary and sufficient for eliciting fever[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(43): e2122562119.
- [5] KAMM G B, BOFFI J C, ZUZA K, et al. A synaptic temperature sensor for body cooling[J]. *Neuron*, 2021, 109(20): 3283-3297.e11.
- [6] TANG Y, LIU S Y, XU L Z, et al. Arginine vasopressin effects on membrane potentials of preoptic area temperature-sensitive and-insensitive neurons in rat

- hypothalamic tissue slices [J]. *Neuropeptides*, 2023, 100: 102344.
- [7] XU J H, GAO W M, HE T H, et al. The hyperthermic response to intra-preoptic area administration of agmatine in male rats[J]. *J Therm Biol*, 2023, 113: 103529.
- [8] ZHOU Q, FU X, XU J H, et al. Hypothalamic warm-sensitive neurons require TRPC4 channel for detecting internal warmth and regulating body temperature in mice[J]. *Neuron*, 2023, 111(3): 387-404.e8.
- [9] SONG K, WANG H, KAMM G B, et al. The TRPM2 channel is a hypothalamic heat sensor that limits fever and can drive hypothermia[J]. *Science*, 2016, 353(6306): 1393-1398.
- [10] PADILLA S L, JOHNSON C W, BARKER F D, et al. A neural circuit underlying the generation of hot flushes[J]. *Cell Rep*, 2018, 24(2): 271-277.
- [11] KRAJEWSKI-HALL S J, MIRANDA DOS SANTOS F, MCMULLEN N T, et al. Glutamatergic neurokinin 3 receptor neurons in the Median preoptic nucleus modulate heat-defense pathways in female mice [J]. *Endocrinology*, 2019, 160(4): 803-816.
- [12] YAHIRO T, KATAOKA N, NAKAMURA K. Two ascending thermosensory pathways from the lateral parabrachial nucleus that mediate behavioral and autonomous thermoregulation[J]. *J Neurosci*, 2023, 43(28): 5221-5240.
- [13] WU J Y, LIU D Q, LI J Y, et al. Central neural circuits orchestrating thermogenesis, sleep-wakefulness states and general anesthesia states [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2022, 20(1): 223-253.
- [14] CRAMER M N, GAGNON D, LAITANO O, et al. Human temperature regulation under heat stress in health, disease, and injury[J]. *Physiol Rev*, 2022, 102(4): 1907-1989.
- [15] OSTERHOUT J A, KAPOOR V, EICHHORN S W, et al. A preoptic neuronal population controls fever and appetite during sickness[J]. *Nature*, 2022, 606(7916): 937-944.
- [16] DEAN J B, BOULANT J A. *In vitro* localization of thermosensitive neurons in the rat diencephalon [J]. *Am J Physiol*, 1989, 257(1 Pt 2): R57-R64.
- [17] OKA T, OKA K, SCAMMELL T E, et al. Relationship of EP(1-4) prostaglandin receptors with rat hypothalamic cell groups involved in lipopolysaccharide fever responses[J]. *J Comp Neurol*, 2000, 428(1): 20-32.
- [18] 侯晓钰, 宋宜安, 何田慧, 等. 精氨酸加压素兴奋视前区正中核谷氨酸能神经元及其机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(3): 418-422, 428.
- [19] MORRISON S F, NAKAMURA K. Central mechanisms for thermoregulation[J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81: 285-308.
- [20] SIEMENS J, KAMM G B. Cellular populations and thermosensing mechanisms of the hypothalamic thermoregulatory center [J]. *Pflugers Arch*, 2018, 470(5): 809-822.
- [21] WANG T A, TEO C F, ÅKERBLÖM M, et al. Thermoregulation via temperature-dependent PGD2 production in mouse preoptic area [J]. *Neuron*, 2019, 103(2): 349.
- [22] OSAKA T. Nitric oxide mediates noradrenaline-induced hypothermic responses and opposes prostaglandin E2-induced fever in the rostromedial preoptic area [J]. *Neuroscience*, 2010, 165(3): 976-983.
- [23] SCAMMELL T E, ELMQUIST J K, GRIFFIN J D, et al. Ventromedial preoptic prostaglandin E2 activates fever-producing autonomic pathways [J]. *J Neurosci*, 1996, 16(19): 6246-6254.
- [24] OSAKA T. The EP3 and EP4 receptor subtypes both mediate the fever-producing effects of prostaglandin E2 in the rostral ventromedial preoptic area of the hypothalamus in rats [J]. *Neuroscience*, 2022, 494: 25-37.
- [25] MACHADO N L S, BANDARU S S, ABBOTT S B G, et al. EP3R-expressing glutamatergic preoptic neurons mediate inflammatory fever [J]. *J Neurosci*, 2020, 40(12): 2573-2588.