

大鼠听皮层神经元频率感受野的可塑性

杨文伟 高利霞 孙心德*

(华东师范大学生命科学学院脑科学研究中心, 上海 200062. * 联系人, E-mail: xdsun@bio.ecnu.edu.cn)

摘要 应用常规电生理学技术, 以神经元的最佳频率、频率-反应曲线和频率调谐曲线为指标, 研究神经元频率感受野可塑性。结果表明, 在给予的条件刺激频率和神经元最佳频率相差 1~4 kHz 范围内, 条件刺激均可引起神经元频率感受野转移, 但频率相差越小, 感受野转移概率越高。感受野可塑性与条件刺激诱导的时程有关, 条件刺激和神经元最佳频率相差越大, 所需条件刺激的诱导时间越长。条件刺激撤除后感受野的复原则呈现相反的趋势。条件刺激频率高于或低于神经元的最佳频率均可能引起感受野变化, 可塑性变化不具有明显方向性。但有的神经元感受野变化呈现双侧性, 有的神经元只有单侧性变化。结果显示, 神经元频率感受野可塑性是研究可塑性机制的理想模型, 为深入研究听觉模态的学习记忆神经机制提供了重要实验资料。

关键词 大鼠 条件刺激 可塑性 最佳频率 频率感受野

听觉系统和视觉及触觉系统一样, 在其中枢神经通路中都含有相应的感觉图。这些感觉图都可被感觉剥夺、损毁或经验等所改变。Weinberger等人^[1]研究表明, 学习可诱导豚鼠初级听皮层感受野的可塑性, 这种可塑性具有联合性、高特异性和持久性等“生理性记忆”特征。Suga等人^[2]近年来的研究也发现, 适宜的声音刺激可引起大棕蝠中脑下丘频率图的重构, 提示听觉经验可诱导听觉中枢频率图的可塑性。不少研究推测, 经验依赖性、瞬时性的中枢听觉功能可塑性可能是学习记忆以及注意等脑高级功能活动的神经基础。为了进一步了解中枢神经元频率感受野可塑性的特征及诱导可塑性的相关因素, 我们在大鼠听皮层上, 详细考察了神经元频率感受野可塑性特征, 感受野可塑性诱导时间, 可塑性范围及变化方向等, 为研究听觉模态的学习记忆神经机制提供理想模型。

1 材料与方法

() 动物。50只SD大鼠, 体重230~300 g, 年龄在8~12周龄之间, 其中21只雌鼠, 29只雄鼠, 购自上海复旦大学医学院实验动物中心, 清洁级。

() 手术。戊巴比妥钠(腹腔注射, 40~50 mg/kg 体重)麻醉动物, 在盐酸普鲁卡因局部麻醉下, 行气管插管术。切开头部皮肤, 除去结缔组织, 暴露颅顶, 用502胶水和牙科水泥将一根长2 cm的铁钉粘固于颅骨上, 以备头部固定。打开左侧颞骨, 暴露皮层听区, 除去硬脑膜。动物移于实验台架上, 通过

头部铁钉将动物头部固定。实验在高性能电声屏蔽室内进行, 动物体温维持在38℃。

() 听反应的记录。经微电极拉制仪(Narishige PE-21)拉制的玻璃微电极, 内充3 mol/L KCl和2% Biocytin, 尖端直径1~1.5 μm, 阻抗5~10 MΩ。在手术显微镜下, 经微电极操纵仪(Narishige PF5-1)将电极插入听皮层, 行细胞外记录单个神经元听反应。听反应信号经放大器(ISODAMX)放大后, 由计算机采样, 并作刺激后时间序列直方图(PSTHs)。

() 声刺激。声刺激系统由声信号数字化软件、高速AD/DA卡、计算机、dB衰减器(Leader LAT-45)、功率放大器及高保真扬声器组成。纯音频率1~50 kHz连续可调, 声音包络持续时间20 ms, 升降时间0.5 ms, 声强度以dB SPL(20 μPa)表示。实验前扬声器经6.35 mm麦克风(Bruel & Kjaer公司)校正。扬声器在动物头部前方记录电极对侧水平方向30°, 垂直方向0°空间的自由声场给声。

() 数据分析。应用Sigmaplot 2000软件进行实验数据处理。记录到单个神经元的听反应后, 测定其最佳频率(best frequency, BF)、最低阈值(minimum threshold, MT)等, 测绘出频率调谐曲线(frequency tuning curve, FTC)及频率感受野(receptive field, RF)。在一定的压力范围内, 给予偏离该神经元BF的纯音条件刺激(conditioning stimulus, CS), 条件刺激的强度一般定在该神经元MT以上20 dB, 经10~50 min条件刺激的诱导后, 分别测定该神经元的BF, FTC及RF变化, 并记录条件刺激前、条件刺激后神

神经元放电时间序列直方图, 分析神经元频率感受野的可塑性.

2 结果

实验在 50 只动物上进行. 在听皮层 A1 区共记录到 166 个对声刺激产生反应的神经元. 我们对其中 104 个神经元的 RF 可塑性进行了观察. 包括所给予的条件刺激频率和该神经元 BF 相差 1(41/104)、2(36/104)、3(15/104)和 4 kHz(12/104)等. 分别观察在

一定时间压力下, 这些神经元 RF 的变化.

2.1 神经元频率感受野的可塑性特征

图 1 显示一个神经元的 RF 可塑性. 这个神经元的 BF 为 8.0 kHz(BFc), 即给予 8.0 kHz 声刺激时, 神经元的放电脉冲数最高(图 1(a)(1)), 但在给予一个 10.0 kHz 纯音条件刺激 30 min 后, 该神经元则对 10.0 kHz 声刺激反应最强(图 1(b)(2)), 表明 10.0 kHz 成为该神经元新的最佳频率(BFs). 分别测定了该神经元

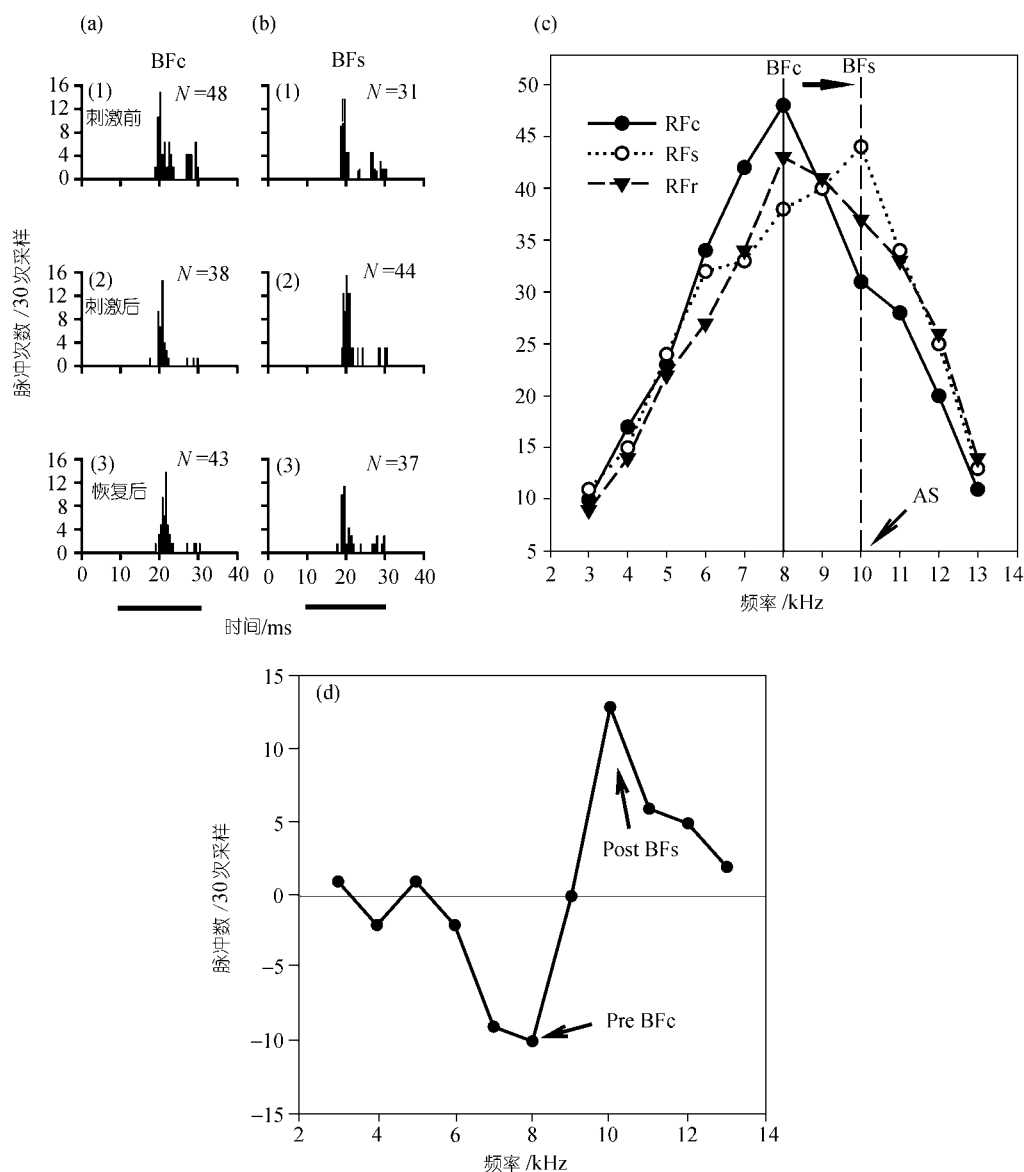


图 1 听皮层神经元频率感受野可塑性特征

(a) (1) ~ (3)和(b) (1) ~ (3)分别示同一个神经元在条件刺激前、条件刺激后及恢复后在BFc和BFs处的听反应直方图. (c)示神经元RF的变化情况. (d)示(c)中条件刺激后的频率-反应曲线减去条件刺激前频率-反应曲线所得函数图. 直方图横坐标下方的黑线表示声刺激, 时程为 20 ms. N 示神经元的放电脉冲数. 该神经元编号为 030927-

条件刺激前的频率感受野(RFc)、条件刺激后的及其恢复后的频率感受野(RFs, RFr), 结果显示在图 1(c)中.

由神经元放电脉冲数可见, 在条件刺激后, 该神经元对原来 BF(Pre BFc)声刺激的放电脉冲数减少了 20.8%, 而新的 BF(Post BFs)处的放电脉冲数却增加了 41.9%. 用条件刺激后频率-反应曲线减去条件刺激前频率-反应曲线, 显示出神经元在原最佳频率(Pre-BF)处放电脉冲数减少最多, 在条件刺激(Post-BF)处放电脉冲数增加最多(图 1(d)). 神经元放电脉冲数及频率感受野在条件刺激停止 30 min 后, 基本恢复到原初状态(图 1(a)(3), (b)(3), (c) RFr). 在所观察的 45 个 BF 发生完全转移的神经元中, 基本上都呈现上述类似的变化趋势.

2.2 条件刺激时程与频率感受野可塑性

在部分神经元上, 我们观察了条件刺激时程与感受野可塑性的相关性. 一般情况下, 条件刺激频率(CSF)与神经元 BF 相差越小, BF 发生完全性转移所需条件刺激的时间越短, 可塑性的成功率越高. 在我们观察的 CSF 与 BF 相差 1 kHz 的 41 个神经元中, 有 27 个神经元(66%)的 BF 呈现完全性转移, 最短的条件刺激时间只有 10 min. 而在 CSF 与 BF 相差 2 kHz 的 36 个神经元中, 在给予 10 ~ 50 min 的条件刺激后, 却只有 18 个神经元(50%)的 BF 发生了完全性转移.

图 2(a)显示 CSF 与 BF 相差 1 kHz (27 个神经元)、相差 2 kHz (18 个神经元)神经元 BF 完全性转移所需要的平均诱导时间. 可见相差 1 kHz 平均只需要 25 min 条件刺激诱导, 即可产生完全性转移. 而相差 2

kHz, 则平均需要 31 min 的诱导时间, 两者差异显著(t 检验, $P < 0.05$).

与此相反, 条件刺激停止后, 神经元 RF 的恢复所需时间和 CSF 与 BF 相差则呈负相关, 即 CSF 与 BF 相差越大, 恢复时间越短. 图 2(b)显示 CSF 与 BF 相差 1 和 2 kHz 组的神经元感受野平均复原时间, 分别为 31 和 22 min, 两者差异极显著(t 检验, $P < 0.01$).

同时, 我们还观察到, 神经元 BF 的转移和复原呈现一定的时间渐变过程. 图 3 显示了一个神经元的 BF 和 RF 转移(a)及复原(b)的时间渐变过程.

这个神经元的 BF 原初为 8.0 kHz, 当给予 10.0 kHz 条件刺激诱导 10 min 后, 其 BF 仍为 8.0 kHz, 条件刺激 20 min 后, BF 转移到 9.0 kHz 处, 条件刺激 30 min 后, BF 才完全转移到条件刺激的频率, 即形成新的 BF(图 3(a)). 这个神经元 BF 的复原也呈现类似的变化过程(图 3(b)).

2.3 神经元频率感受野可塑性的范围

尽管神经元 RF 可塑性和条件刺激时程有关, 但神经元 RF 可塑性仍有一个局限的范围. 在我们观察到的 CSF 与 BF 相差 3 和 4 kHz 的 27 个神经元中, 尽管给予长达 60 或 90 min 的条件刺激诱导, 仍未见 1 例发生 BF 的完全性转移. 图 4 为一个 BF 为 14.0 kHz 的神经元, 当给予 17.0 kHz 条件刺激诱导 20 min 后, 其 BF 和 RF 基本未变化; 继续给予 40 min 诱导, 其 BF 转移到 15.0 kHz 处, 但没有到达 17.0 kHz, 即 BF 发生不完全转移; 进一步给予 60 min 诱导, BF 仍位于 15.0 kHz 处, RF 也未发生明显变化. 提示这个神经元 BF 最大变化范围可能在 1 kHz 之内(图 4(c)).

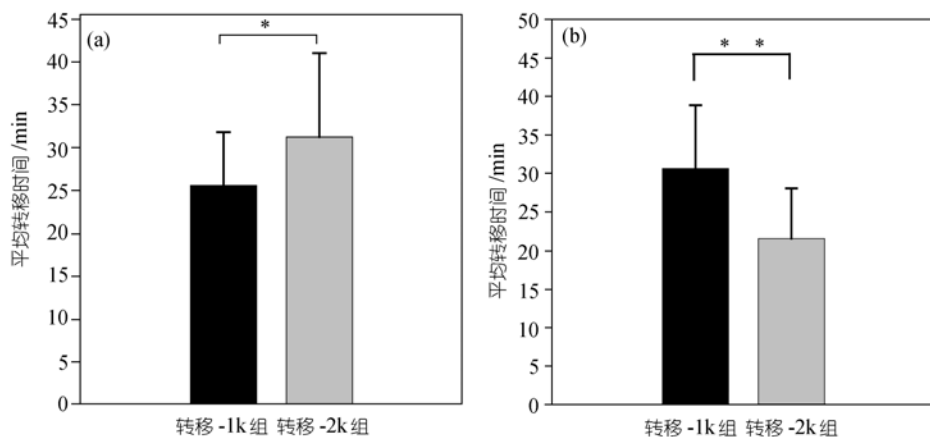


图 2 平均 RF 转移时间和恢复时间

(a) 神经元 RF 完全转移平均诱导时间. (b) 神经元 RF 完全转移平均复原时间. * 示 $P < 0.05$, ** 示 $P < 0.01$

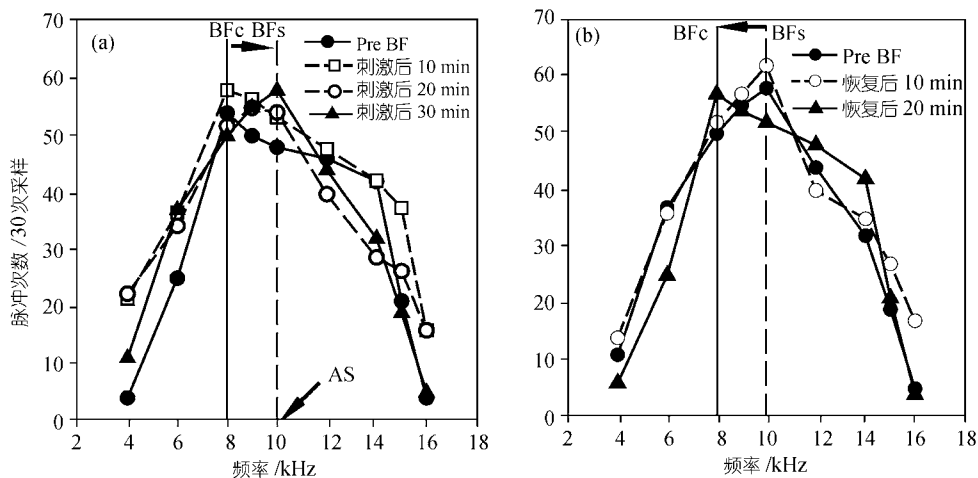


图 3 听神经元 BF 及 RF 转移(a)及恢复(b)过程
(a) BFc 在条件刺激前、条件刺激 10、20 及 30 min 后向 BFs 转移的过程。(b) BFc 向 BFs 完全转移后、条件刺激停止后 10 和 20 min, BF 又恢复到 BFc 位置。该神经元编号为 031016-

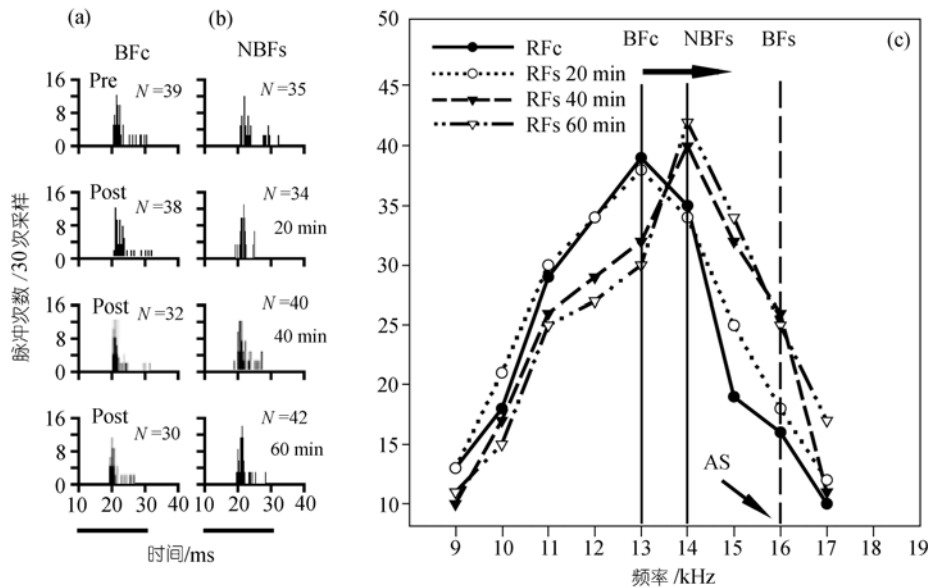


图 4 CSF 与 BF 相差 3 kHz 时听神经元 BF 及 RF 的转移过程
(a) Pre, Post 和 (b) Pre, Post 分别显示条件刺激前、条件刺激 20、40 及 60 min 后神经元在 BFc 和 NBFs 处的听反应直方图。(c) 条件刺激前、条件刺激 20、40 及 60 min 后神经元 BF, RF 的变化情况。横坐标下方的黑线表示声刺激, 时程为 20 ms。N 示神经元的放电脉冲数。NBFs 为非 BFc 刺激频率。该神经元编号为 030927-

2.4 神经元频率感受野可塑性的方向

在 33 个神经元上, 分别给予频率高于和低于该神经元 BF 的条件刺激, 观察对神经元 RF 可塑性的效应。其中 18 个神经元 BF 与 CSF 相差 1 kHz, 15 个神经元 BF 与 CSF 相差 2 kHz, 测定结果见表 1。由表 1 可见, 多数神经元 RF 可塑性并无明显的方向性偏好。

表 1 条件刺激诱导听皮层神经元频率感受野转移的方向

	RF 双侧 转移	RF 向高 频转移	RF 向低 频转移	RF 两侧 均不转移
BF 与 CSF 相差 1 kHz	11	2	3	2
BF 与 CSF 相差 2 kHz	6	2	3	4

图 5 为 2 个皮层听神经元的频率调谐曲线(Freque-

ency tuning curve, FTC), 分别显示神经元 BF 及 FTC 单向(a)和双向(b)转移的情形。(a)为 1 个 BF 为 12.0 kHz 的神经元, 当给予一个 CSF 为 10.0 kHz 刺激 50 min 后, 并未能使该神经元的 BF 发生改变, 尽管 FTC 有些偏移(FTCs1)。休息 30 min 后, 再给予一个 CSF 为 14.0 kHz 的刺激, 25 min 后可见该神经元 BF 转移到 14.0 kHz, 形成该神经元新的 BF, FTC 也发生相应变化(FTCs2)。(b)为一个 BF 为 10.0 kHz 的神经元, 当给予 CSF 为 8.0 kHz 的刺激 30 min 后, 该神经元的 BF 转移到 8.0 kHz, 形成新的 BF 和 FTC(FTCs1)。当 BF 和 FTC 恢复到原初状态后, 再给予 12.0 kHz 的 CSF 刺激 35 min, 该神经元的 BF 又转移到 12.0 kHz, 形成新的 BF 和 FTC(FTCs2)。

3 讨论

听觉系统同视觉和触觉系统一样, 在中枢相关脑区都存在感觉图。这些感觉图都可为感觉剥夺、损毁或经验所改变, 表现出明显可塑性。其中, 神经元频率感受野(RF)及其可塑性已在沙土鼠、豚鼠和蝙蝠等动物的上丘、下丘、内膝体和听皮层等多个脑区研究过^[3~6]。Weinberger 等人^[7]的研究表明, 一个特异性声音作为条件刺激, 可以快速诱导豚鼠初级听皮层神经元 RF 可塑性, 表现为神经元对条件刺激频率的反应增加, 同时对训练前的 BF 和其他频率的反应降低, 频率调谐向着条件刺激频率转移。在清醒动物上, 这种可塑性经过几次训练即可产生, 并可保持数周或数月。研究结果显示, RF 可塑性具有联合性、高特

异性、分辨性、诱导快和持续时间长等生理性记忆的特征^[1,8~10]。我们在轻度麻醉的大鼠初级听皮层上观察到, 有的神经元仅给予 10 min 的条件刺激诱导, 即显示对条件刺激频率反应明显增强, 而对神经元原来的 BF 反应降低, RF 产生相应转移。RF 可塑性的诱导迅速, 反应稳定。

我们在观察听皮层神经元 RF 可塑性特征过程中, 详细考察了可塑性产生的相关因素, 包括条件刺激诱导时程, 神经元可塑性范围以及 RF 可塑性变化方向等。发现条件刺激时程是诱导可塑性的重要因素。不同的神经元差异较大, 短的只需 10 min, 长的则 90 min 仍不能诱导神经元 BF 向条件刺激频率的完全性转移。听觉信息由外周到达听皮层要经过多级中枢的辐散-聚合投射和整合, 不同的神经元所经历的过程不尽相同, 这可能是所需诱导时程不同的原因。

我们的实验还观察到, RF 可塑性有一个较局限的范围。在条件刺激频率和神经元 BF 相差 1 kHz (CSF-BF = ± 1 kHz) 时, 有 66%(27/41) 的神经元的 BF 发生转移, 平均诱导时程仅 25 min。而在 CSF-BF = ± 4 kHz 时, 却只有 42%(5/12) 神经元 BF 发生了不完全转移, 平均诱导时程长达 90 min 以上。RF 可塑性范围的局限性也在蝙蝠等研究中观察到^[11]。

我们的实验还发现, 大鼠听皮层神经元 RF 可塑性变化的方向基本上是对称性的, 即 BF 的转移既可向 RF 的高频端转移, 也可向 RF 的低频端转移, 且多数神经元(52%)的 BF 转移是双向性的。这和 Suga 等

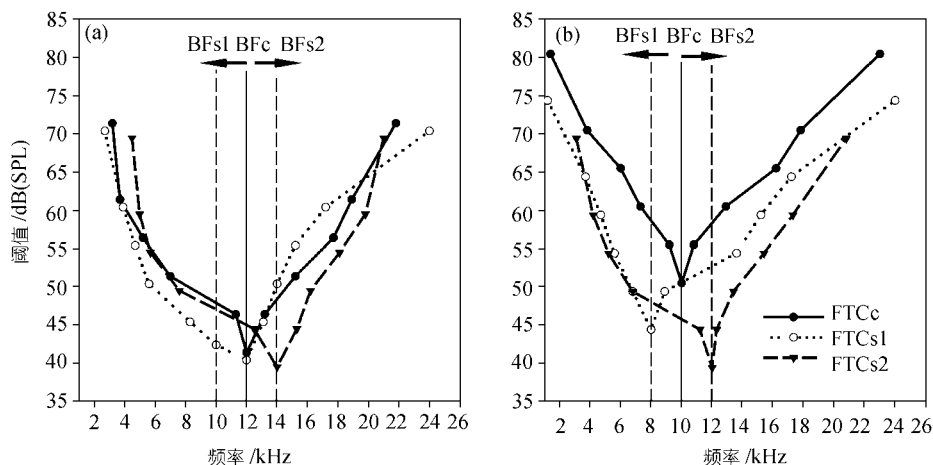


图5 听皮层神经元频率调谐曲线单侧(A)和双侧(B)转移

BFc, FTC示神经元原初BF及FTC; BFs1, BFs2分别为低于和高于BF的条件刺激频率; FTCs1, FTCs2示条件刺激后神经元的FTC。条件刺激时间在50 min之内。(a)神经元编号为 030822-, (b)神经元编号为 030820-

人^[12]在胡须蝠皮层DSCF区获得的结果相似, 但与Yan等人^[2]在大棕蝠上观察到的BF仅向RF的一侧转移不同. 他们认为, 这可能是不同种属动物神经元FTC的差异所致. 包括大棕蝠在内, 相当多的动物中枢听觉神经元的FTC为非对称性的, 表现为高频端的斜度较低频段的斜度陡峭. 因此, 给定的声刺激频率激活调谐于高频端神经元要比激活调谐于低频端神经元的数量多. 每个听皮层神经元都接受多个调谐于不同频率神经元的输入, 最终整合的结果是使神经元的BF向着被激活的兴奋性高的神经元的BF转移. 与大棕蝠不同, 大鼠听皮层多数神经元的FTC都接近于对称性, 因此, 给定的声刺激频率激活调谐于高频端和低频端的神经元数量可能是相似的. 这可能是大鼠听皮层神经元RF可塑性变化方向基本上是对称性的原因. 总之, RF可塑性变化的方向依赖于神经元兴奋性和抑制性输入的相互整合.

已有的研究表明, 中枢神经元RF可塑性的变化不仅受听觉上行传入系统的影响, 也受听觉下行反馈系统的调控^[13~17], 听皮层神经元RF可塑性是如何发生的, 究竟发生在哪一级中枢, 尚待进一步研究.

致谢 本工作作为国家自然科学基金(批准号: 30170313)、博士点基金(批准号: 20020269005)、上海市重点学科资助项目.

参 考 文 献

- Weinberger N M, Bakin J S. Learning-induced physiological memory in adult primary auditory cortex: Receptive field plasticity, model, and mechanisms. *Audiol Neurotol*, 1998, 3: 145~167
- Yan W, Suga N. Corticofugal modulation of the midbrain frequency map in the bat auditory system. *Nature Neuroscience*, 1998, 1(1): 54~58[DOI]
- SaKai M, Suga N. Centripetal and centrifugal reorganizations of frequency map of auditory cortex in gerbils. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (10): 7108~7112[DOI]
- Bjordahl T S, Dimyan M A, Weinberger N M. Induction of long-term receptive field plasticity in the auditory cortex of the waking guinea pig by stimulation of the nucleus basalis. *Behav Neurosci*, 1998, 12(3): 467~479
- Gao E Q, Suga N. Experience-dependent plasticity in the auditory cortex and the inferior colliculus of bats: Role of the corticofugal system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97 (14): 8081~8086[DOI]
- Xiao Z J, Suga N. Reorganization of the cochleotopic map in the bat's auditory system by inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15743~15748[DOI]
- Weinberger N M, Javid R, Lepan B. Long-term retention of learning-induced receptive-field plasticity in the auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 2394~2398
- Bakin J S, Weinberger N M. Induction of physiological memory in the cerebral cortex by stimulation of the nucleus basalis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 11219~11224[DOI]
- Bakin J S, South D A, Weinberger N M. Induction of receptive field plasticity in the auditory cortex of the guinea pig during instrumental avoidance conditioning. *Behav Neurosci*, 1996, 110: 905~913[DOI]
- Diamond D M, Weinberger N M. The role of context in the expression of learning induced plasticity of single neurons in auditory cortex. *Behav Neurosci*, 1998, 103: 471~494
- Syed A C, Suga N. Reorganization of the frequency map of the auditory cortex evoked by cortical electrical stimulation in the big brown bat. *J Neurophysiol*, 2000, 83: 1856~1863
- Zhang Y F, Suga N. Modulation of responses and frequency tuning of thalamic and collicular neurons by cortical activation in mustached bats. *J Neurophysiol*, 2000, 84: 325~333
- Kilgard M P, Merzenich M M. Cortical map reorganization enabled by nucleus basalis activity. *Science*, 1998, 279: 1714~1718[DOI]
- Suga N, Xiao Z J, Ma X F, et al. Plasticity and corticofugal modulation for hearing in adult animals. *Neuron*, 2002, 36: 9~18[DOI]
- Gao E, Suga N. Plasticity of midbrain auditory frequency map mediated by the corticofugal system in bat. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 12663~12670[DOI]
- Ma X F, Suga N. Plasticity of bat's central auditory system evoked by focal electric stimulation of auditory and/or somatosensory cortices. *J Neurophysiol*, 2001, 85: 1078~1087
- Hui G K, Figueroa I R, Poytress B S, et al. Memory enhancement of classical fear conditioning by post-training injection of corticosterone in rats. *Neurobiol Learn Mem*, 2004, 81: 67~74[DOI]

(2004-02-13 收稿, 2004-05-26 收修改稿)