

研究论文

小鼠外侧丘系背核上行输入对下丘神经元反应的可塑性影响

杨丹丹, 郑维维, 赵莎莎, 罗峰, 王欣*

华中师范大学生命科学学院, 湖北省遗传调控与整合生物学重点实验室, 武汉 430079

摘要: 听觉系统具备随着环境的变化来改变自身结构和功能的能力, 这种能力称为听觉可塑性。中脑下丘(inferior colliculus, IC)是听觉系统重要的中继站, 外侧丘系背核(dorsal nuclei of lateral lemniscus, DNLL)上行输入对IC神经元的声反应特性具有重要的定型作用。本研究旨在探讨DNLL上行输入在IC神经元可塑性形成中的作用。以昆明小鼠为实验动物, 持续电刺激对侧DNLL, 采用单单位细胞外记录的方法观察IC神经元的可塑性变化。结果显示, 95%的受抑制IC神经元和86%的受易化IC神经元在对侧DNLL 30 min电刺激停止后仍表现出可塑性的变化。在对侧DNLL电刺激停止1 h后, 74%的受抑制IC神经元发生的可塑性变化消失, 26%的受抑制IC神经元发生的可塑性变化仍然存在。以上结果提示, 对侧DNLL上行输入可引起IC神经元的可塑性变化, 并维持较长时间, 这有利于提高IC神经元的声信号检测能力。

关键词: 外侧丘系背核; 上行输入; 听觉可塑性; 下丘神经元; 小鼠

中图分类号: Q6; R338

Ascending input from dorsal nuclei of lateral lemniscus mediates the plasticity of inferior colliculus neurons in mice

YANG Dan-Dan, ZHENG Wei-Wei, ZHAO Sha-Sha, LUO Feng, WANG Xin*

School of Life Sciences and Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, Central China Normal University, Wuhan 430079, China

Abstract: The auditory system has the ability to adjust its structure and function as the environment changes, which is called auditory plasticity. In the auditory system, inferior colliculus (IC) is an important relay station, which accepts the ascending inputs from dorsal nuclei of lateral lemniscus (DNLL). The present study was aimed to investigate the role of the DNLL in the formation of the plasticity of IC neurons. Here, we used extracellular single unit recording and electrical stimulation to investigate the plasticity of IC neurons in Kunming mice. The results showed that after the cessation of 30-minute electrical stimulation on contralateral DNLL, 95% of the inhibited IC neurons and 86% of the facilitated IC neurons showed plastic changes. Moreover, 1 h after the contralateral DNLL stimulation was stopped, the plastic changes in 74% of the inhibited IC neurons vanished, but still were maintained in 26% of the inhibited IC neurons. These results suggest that the contralateral DNLL ascending input can induce plastic changes of IC neurons, and this kind of effect can be maintained for a certain period of time, which is beneficial to enhance the sound intensity sensitivity of IC neurons.

Key words: dorsal nuclei of lateral lemniscus; ascending input; auditory plasticity; inferior colliculus; mouse

Received 2017-06-28 Accepted 2018-02-07

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31000493), the Natural Science Foundation of Hubei Province, China (No. 2014CFB655), the Scientific Research Project Fund for Youth Teachers from Central China Normal University (No. CCNU15A05035) and the Fund of Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, China (No. GRIB201508).

*Corresponding author. Tel: +86-27-67867221; E-mail: 675341542@qq.com

听觉系统具备随着环境的变化来改变自身结构和功能的能力, 称为听觉可塑性^[1, 2]。中脑下丘(inferior colliculus, IC)作为听觉系统中重要的中继站, 其可塑性的形成与离皮层的下行调控及对侧IC的水平投射有关。研究表明, 离皮层调控对IC神经元的可塑性不仅体现在IC神经元的基本声反应特性, 如发放数(spike count, SC)、首次发放潜伏期(first spike latency, FSL)和阈值等, 还体现在IC神经元对声信号的加工, 如频率调谐^[2-5]、强度调谐^[6]以及方位敏感性^[7]等方面。本课题组前期关于双侧IC间调控的研究表明, 对侧IC的水平调控也可对一侧IC神经元的频率调谐和强度调谐产生可塑性的影响, 这种影响可以维持150 min, 甚至更久^[8, 9]。那么, 低位中枢上行输入是否可对IC神经元的反应产生可塑性的影响? 目前尚未见相关报道。

外侧丘系是连接低位脑干与IC的主要通路, 外侧丘系的神经元构成三个核团, 分别为外侧丘系背核(dorsal nuclei of lateral lemniscus, DNLL)、外侧丘系中间核和外侧丘系腹核。其中, DNLL位于IC尾部的下面, 接受耳蜗前腹核和上橄榄外侧核、同侧的上橄榄内侧核及对侧DNLL的兴奋或抑制性输入, 并向双侧IC和对侧DNLL发出投射^[10]。神经药理学及电生理的研究显示, DNLL神经元对双耳时间差和双耳强度差敏感, 在双耳信息加工处理及声源定位方面起到重要作用^[11]。DNLL中绝大部分为 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能神经元, 并投射至同侧和对侧的IC, GABA在调制IC神经元的声反应特性中起重要作用, 因此DNLL与IC神经元的声反应特性密切相关^[10-12]。

电生理研究显示, DNLL神经元本身接受广泛的、非选择性的兴奋性输入, 它发出的GABA能投射到达IC之后, 对IC神经元的整个频率感受野产生抑制性调控, 增加IC神经元对声信号参数的选择性^[13]。那么, DNLL神经元的抑制性输入停止后, DNLL对IC神经元的影响是否能够维持, 即是否产生可塑性的影响? 本研究采用在体电刺激结合单单位胞外微电极记录方法, 探究DNLL的上行输入对IC神经元是否具有可塑性的影响, 研究结果有助于进一步了解IC听觉可塑性的形成机制及其行为学意义。

1 材料和方法

1.1 动物手术和电极制备

本研究采用34只昆明

小鼠, 体重为20~30 g, 雌雄不拘, 由湖北省预防医学科学院实验室动物中心提供。整个动物实验方案获得华中师范大学伦理委员会的批准, 参照NIH实验动物护理和使用条例进行。参照本课题组之前的报道^[14], 向小鼠腹腔注射0.48%戊巴比妥钠(45~50 mg/kg 体重)使其麻醉。手术时, 首先切开头顶正中的头皮, 暴露颅骨, 用脱脂棉蘸取95%的医用酒精反复擦拭, 使颅骨表面脱脂。然后参照小鼠脑定位图谱^[15], 用利针于小鼠左侧颅骨IC处及右侧颅骨DNLL处分别钻孔, 直径约为200~500 μm , 并用利针轻轻挑破硬脑膜, 以便玻璃微电极顺利插入。将长约1.8 cm的平头钉用496胶固定在前囟处, 并用牙科水泥加固。手术完成后, 将小鼠放在屏蔽室内防震实验台的凹槽中, 并固定动物头部。实验过程中如果动物清醒过来, 可经腹腔补注适量0.48%戊巴比妥钠溶液, 使动物维持在浅麻醉状态。保持屏蔽室内温度为25~30 $^{\circ}\text{C}$ 。测得的本底噪声为37 dB SPL。

记录IC神经元反应的玻璃微电极由微电极拉制仪(Bioscience, UK)拉制而成, 尖端直径约1 μm , 阻抗为5~10 $\text{M}\Omega$; 记录DNLL神经元反应并灼烧标记位点的双极金属电极由一对钨丝金属电极(FHC Inc., Bowdoin, ME, USA)组成, 单根尖端直径 \leq 10 μm 、阻抗为1~5 $\text{M}\Omega$, 两极间距 \leq 50 μm 。

1.2 声、电刺激系统及神经元反应的记录(图1A)

自由声场条件下, 将扬声器放置在记录侧的对侧(与矢状缝成60 $^{\circ}$ 夹角), 并保证其与动物耳部处于同一水平线上。由TDT系统(Tucker-Davis Technology system 3, Alachua, USA)给出声刺激信号并调节频率及强度等参数。采用的声刺激是时程为40 ms的纯音, 起落时间为5 ms, 2次/s。实验开始前, 首先采用声级计(B & K-2610, Denmark)和1/4英寸的麦克风(4936, B & K)对声刺激系统进行校准。电刺激的参数由刺激器(Model SEN-7203, Nihon Kohden Co., Shinjuku, Tokyo, Japan)设置, 刺激器经直流电刺激隔离器(CSS-202J, Nihon Kohden Co., Tokyo, Japan)和双极金属电极给出电脉冲。电脉冲是时程为4 ms的方波刺激, 每个方波波宽0.1 ms, 间隔1 ms, 每串含4个方波, 串与串之间的间隔是500 ms, 电流强度为25 μA 。

用液压推进器(Kopf 640, USA)将双极金属电极垂直推入脑组织, 并推至DNLL所在深度, 给予40 ms的纯音, 改变其频率和强度来寻找DNLL声

敏神经元, 记录 DNLL 声敏神经元的深度并确定其特征频率 (characteristic frequency, CF) 和最小阈值 (minimum threshold, MT)。神经元的反应由金属电极传至生物电信号放大器 (ISO-DAM, WPI, USA) 进行放大, 之后输出到示波器 (PM3084, FLUKE, USA) 和监听装置进行监视和监听, 最后由计算机进行采样存储。用步进推进器 (SENSAEX, SMX, Finland) 将玻璃电极推进至 IC 中央核, 寻找 IC 声敏神经元的反应, 记录其深度、CF 和 MT。然后, 电刺激对侧 DNLL 神经元 (频率为 2 次/s), 以 CF、MT + 10 dB SPL 声刺激下的发放数变化 20% 为依据^[1], 判定 IC 神经元的反应是否受到影响。若 IC 神经元的反应受到影响, 则持续电刺激 DNLL 神经元 (DNLL_{ES}) 30 min (频率为 10 次/s), 30 min 后停止电刺激, 测量此时 IC 神经元的反应。每隔 5 min 测量一次 IC 神经元的反应, 当 IC 神经元的发放数恢复至对照水平 (即电刺激对侧 DNLL 前 IC 神经元在 CF、MT + 10 dB SPL 声刺激下的发放数 \pm 5%), 则认为其基本恢复^[1]。

1.3 组织学检查 电生理记录结束后, 对记录到 DNLL 神经元反应的位点进行直流电 (0.1 mA, 10 s) 灼烧, 并形成灼烧位点^[13]。迅速对麻醉动物进行心脏灌流处理, 并灌入 4% 的多聚甲醛溶液固定 1~2 h。然后取出脑组织, 将其置于 4% 的多聚甲醛中浸泡 24 h 进行后固定。次日使用振动切片机 (VT 1000S, Leica CO, USA) 切片, 厚度为 40 μ m。经甲苯胺蓝

染色并制成装片, 在显微镜 (Leica, DM4000B, Germany) 下观察灼烧位点并拍照 (图 1B)。

1.4 数据统计与分析 根据神经元反应的刺激-时间直方图 (post-stimulus-time histograms, PSTHs), 获得神经元的 SC、FSL 以及发放时程 (firing duration, FD) 等数据。SC 为神经元对声刺激产生的动作电位的个数, FSL 为声刺激开始到第 1 个 (最早) 动作电位的时间差绝对值, FD 为第 1 个动作电位到最后 1 个 (最晚) 动作电位的时间差绝对值。数据用 mean \pm SD 表示, 数据统计检验分析、作图分别由软件 Origin 6.0 及 Sigmaplot 10.0 完成, 并用单因素方差 (one-way ANOVA) 和 *t* 检验来分析数据之间是否具有统计学差异, $P < 0.05$ 时认为差异具有显著性。

2 结果

本研究共记录到 55 个 DNLL 神经元和 103 个 IC 神经元。DNLL 神经元的深度范围为 2 020~2 794 (2 282 \pm 185) μ m; CF 范围为 7.7~35.4 (18.8 \pm 6.5) kHz; MT 范围为 25.5~81.0 (57.8 \pm 15.9) dB SPL。IC 神经元的深度范围为 188~1 714 (1 028 \pm 360) μ m; CF 范围为 8.0~54.0 (20.4 \pm 9.5) kHz; MT 范围为 18.7~85.5 (54.6 \pm 16.6) dB SPL。

2.1 来自对侧 DNLL 上行输入可引起 IC 神经元的可塑性变化

电刺激 DNLL 神经元条件下, 以 CF、MT + 10

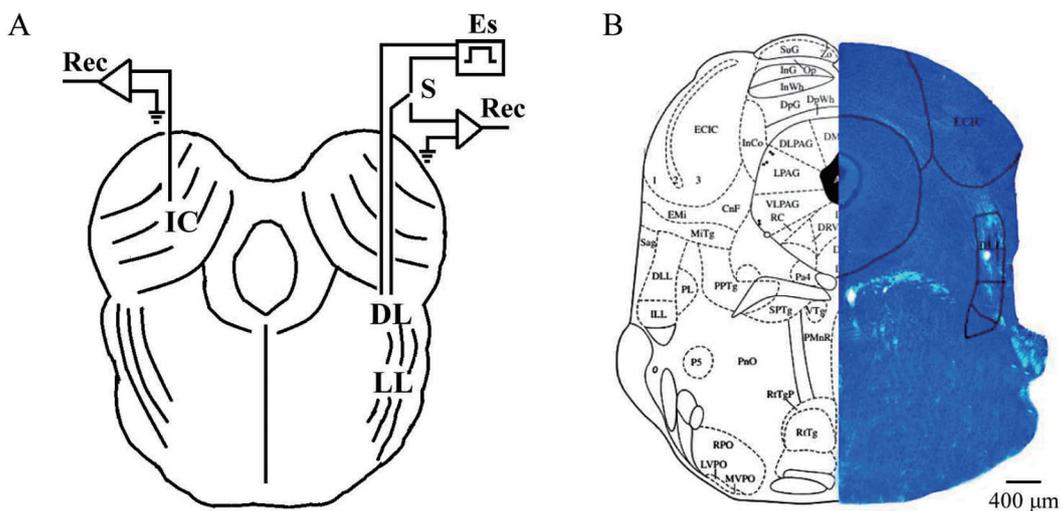


图 1. 电刺激模式图及 DNLL 核团的尼氏染色图

Fig. 1. Electric stimulation diagram (A) and Nissl's staining (B) of DNLL neurons and surrounding tissue of mouse. Scale bar, 400 μ m. IC, inferior colliculus; DL, dorsal nuclei of lateral lemniscus; LL, lateral lemniscus; Es, electric stimulation; Rec, recording; S, switch.

dB SPL 声刺激下, IC 神经元发放数变化 20% 为依据, 可将 IC 神经元分为受抑制、受易化和不受影响三类。在记录到的 103 个 IC 神经元中, 受抑制的 IC 神经元有 66 个, 受易化的 IC 神经元有 18 个, 不受影响的 IC 神经元有 19 个。选择受抑制和受易化的 IC 神经元进行可塑性的研究, 结果显示, DNLL_{ES} 30 min 停止后, IC 神经元的反应与对照条件进行比较, 95% (41/43) 的受抑制 IC 神经元 SC 减少 $\geq 20\%$, 86% (12/14) 的受易化 IC 神经元 SC 增加 $\geq 20\%$, 说明电刺激 DNLL 使 IC 神经元出现了可塑性的变化 (图 2)。

进一步比较受抑制 IC 神经元的 SC、FSL 及 FD 在 DNLL_{ES} 和 DNLL_{ES} 30 min 后的变化趋势, 结果显示, DNLL_{ES} 时, 受抑制 IC 神经元的 SC 减少, FSL 延长, FD 缩短 (paired *t*-test, all $P < 0.001$)。DNLL_{ES} 30 min 停止后, 受抑制 IC 神经元亦表现为 SC 减少, FSL 延长, FD 缩短 (图 3A~C)(paired *t*-test, all $P < 0.001$)。再比较受易化 IC 神经元的 SC、FSL 及 FD 在 DNLL_{ES} 和 DNLL_{ES} 30 min 后的变化趋势, 结果显示, DNLL_{ES} 时, 受易化 IC 神经元的 SC 增加 (paired *t*-test, $P < 0.001$), FD 延长 (paired *t*-test, $P < 0.05$), FSL 无明显变化 (paired *t*-test, $P > 0.05$)。DNLL_{ES} 30 min 停止后, 受易化 IC 神经元的 SC 显著增加 (paired *t*-test, $P < 0.001$), FD 和 FSL 无明显变化 (paired *t*-test,

$P > 0.05$) (图 3D~F)。上述数据显示, 实时调控对 IC 神经元声反应特性的影响和对 IC 神经元声反应特性的可塑性影响基本一致。

DNLL 对 IC 神经元产生的可塑性影响与哪些因素相关? 线性分析的结果表明, IC 神经元的可塑性影响率 (DNLL_{ES} 30 min 前后, IC 神经元在 CF、MT + 10 dB SPL 声刺激下的发放数变化率) 与实时影响率 (DNLL_{ES} 前后, IC 神经元在 CF、MT + 10 dB SPL 声刺激下的发放数变化率) 之间呈现显著正相关 (linear regression, $P < 0.05$) (图 4A), 即当 IC 神经元受到的实时影响越大时, 可塑性影响也越大。进一步将 IC 神经元进行分类来比较, 结果显示, 受抑制 IC 神经元的可塑性影响率与实时影响率之间也呈现显著性正相关 (linear regression, $P < 0.05$) (图 4B), 而受易化 IC 神经元的可塑性影响率与实时影响率之间无相关性 (linear regression, $P > 0.05$) (图 4C)。此外, 我们也考察了 DNLL 神经元对 IC 神经元产生的可塑性影响与 DNLL 神经元和 IC 神经元之间的 MT 差、CF 差是否相关。线性分析的结果表明, IC 神经元的可塑性影响率与 MT 差、CF 差之间无相关性 (linear regression, $P > 0.05$)。

2.2 IC 神经元发生可塑性变化的维持时间

本研究测量了 43 个发生了可塑性变化的 IC 神经元发放数随时间变化的曲线, 其中受抑制 IC 神

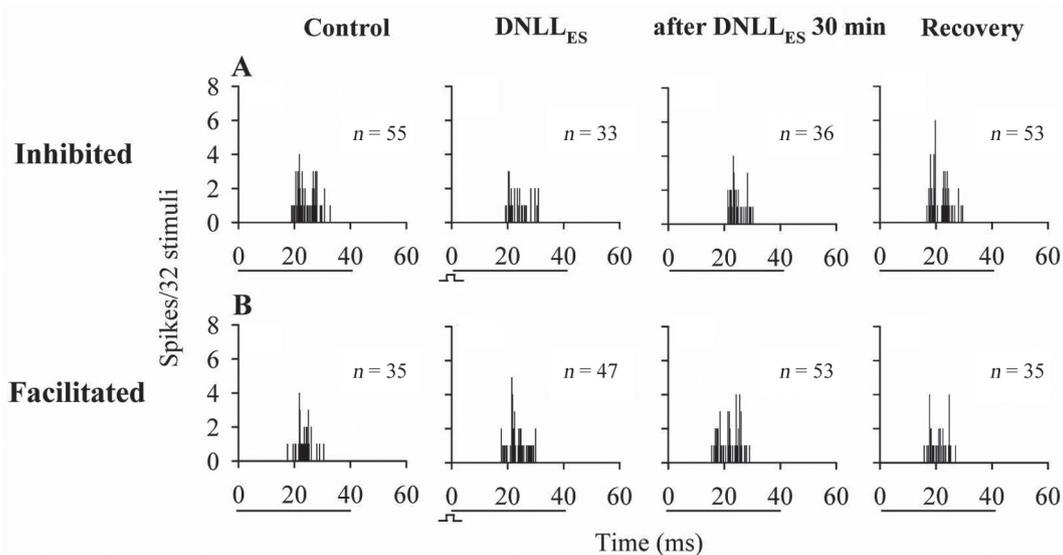


图 2. 代表性 IC 神经元在不同刺激模式下的发放数

Fig. 2. Post-stimulus-time histograms of representative neurons under different situations. An inhibited (A) and a facilitated (B) IC neurons were measured under different situations (control, DNLL_{ES}, after 30-minute DNLL_{ES} and recovery). The recording depths (μm), MTs (dB SPL), and CFs (kHz) of two neurons are 488, 57.9, 19.6 in A, respectively; and 698, 72.6, 14.7 in B. The bar under the abscissa represents 40 ms acoustic stimulus. *n* is spike number. The square wave under the abscissa represents the electrical stimulus.

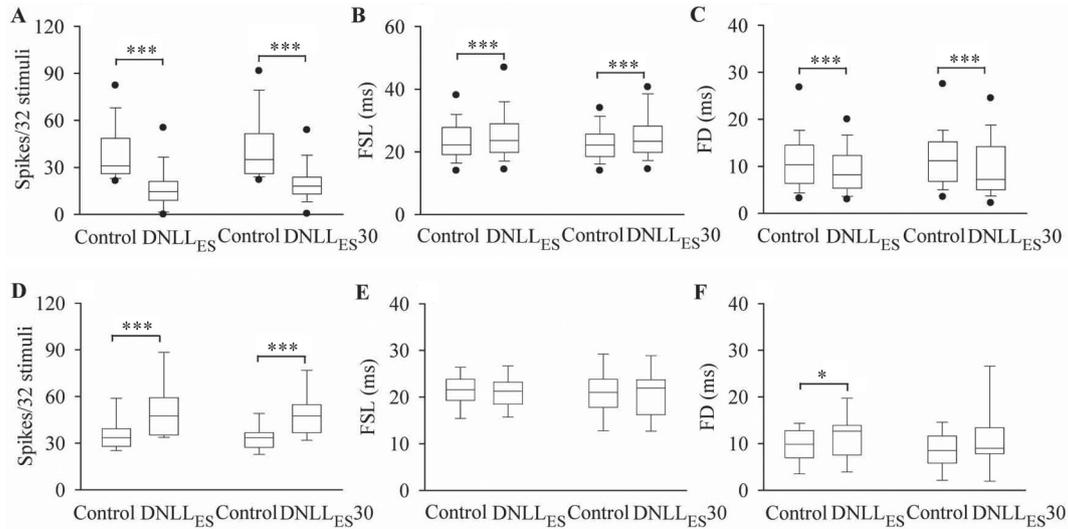


图 3. DNLL_{ES}时及DNLL_{ES} 30 min停止后IC神经元声反应特性变化

Fig. 3. Variation in the acoustic response characteristics of inhibited and facilitated neurons during DNLL_{ES} and after 30-minute DNLL_{ES}. A–C: The variation in the spike count (SC, A), first spike latency (FSL, B) and firing duration (FD, C) of inhibited neurons during DNLL_{ES} and after 30-minute DNLL_{ES}; D–F: The variation in the SC (D), FSL (E) and FD (F) of facilitated neurons during DNLL_{ES} and after 30-minute DNLL_{ES}. Horizontal line in box is median. Up side and down side of box are quartiles. Whisker on box extends to the maximum value, and whisker under box extends to the minimum value. Solid dot is outlier. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

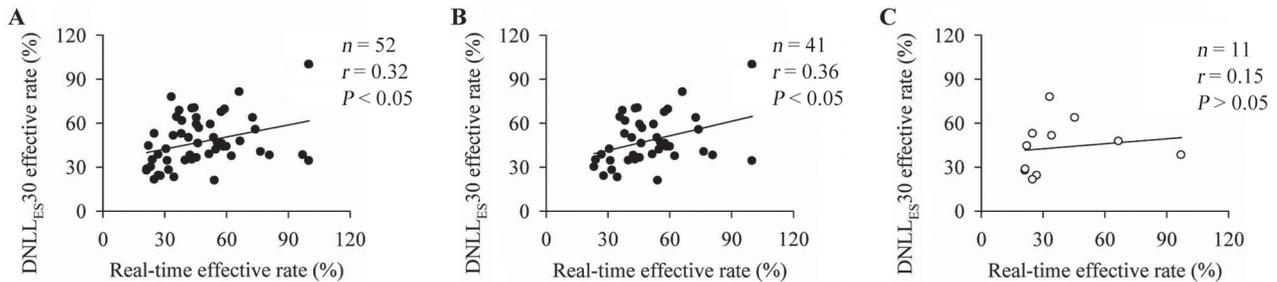


图 4. IC神经元的可塑性影响率与实时调控影响率之间的关系

Fig. 4. The linear relationship between DNLL_{ES} 30 effective rate and real-time effective rate. A: All affected neurons; B: The inhibited neurons; C: The facilitated neurons. Solid line represents linear regression line; n : the number of neurons; r : correlation coefficient; P : significance level.

神经元有 34 个, 受易化 IC 神经元有 9 个。如图 5 所示, DNLL_{ES} 30 min 停止后, 74% (25/34) 的受抑制 IC 神经元发生的可塑性变化在 1 h 内消失, 其发放数随着时间延长有逐渐恢复的趋势 (one-way ANOVA, $P < 0.001$), 可塑性形成后 10、20、30、40、50 min 和可塑性形成时的发放数相比, 均有显著性差异 (paired t -test, 均 $P < 0.01$)。这些 IC 神经元可塑性变化的平均维持时间是 (32.9 ± 13.5) min, 可归为短期可塑性神经元。26% (9/34) 的受抑制 IC 神经元发生的可塑性变化在电刺激停止后 1 h 仍然存在, 其发放数未见随着时间延长而变化的趋势 (one-way ANOVA, $P > 0.05$), 可归为长期可塑性 (long-term plasticity) 神经元。

78% (7/9) 受易化 IC 神经元发生的可塑性变化在 1 h 内消失, 其发放数随着时间延长有逐渐恢复的趋势 (one-way ANOVA, $P < 0.001$), 可塑性形成后 30、40、50、60 min 和可塑性形成时的发放数相比, 均有显著性差异 (paired t -test, 均 $P < 0.05$)。这些 IC 神经元可塑性变化的平均维持时间是 (46.4 ± 18.5) min。22% (2/9) 受易化 IC 神经元发生的可塑性变化在电刺激停止后 1 h 仍然存在 (图 5)。

3 讨论

3.1 DNLL上行输入可以对IC神经元产生可塑性的影响

以往研究结果显示, 电刺激相关核团可使 IC

神经元的基本声反应特性 (如 SC, MT, CF 及 FSL 等) 发生改变 (实时调控), 电刺激停止后 IC 神经元的基本声反应特性的变化依然存在, 就表明 IC 神经元发生了可塑性的改变^[1, 8, 9]。本研究结果显示, DNLL_{ES} 30 min 停止后, 95% (41/43) 受抑制影响的 IC 神经元仍然受到抑制, 86% (12/14) 受易化的 IC 神经元仍然受到易化。这说明来自 DNLL 的上行输入可以对 IC 神经元产生可塑性的影响。

值得探究的是, DNLL 的上行输入对 IC 神经元产生的可塑性影响是直接效应还是间接效应? 本研究所用方法为在体单单位记录, 不排除来自 DNLL 的上行输入作用于高位中枢 (如听皮层), 再通过高位中枢对 IC 产生可塑性影响。由于听觉中枢神经元之间存在着复杂的联系方式, 每一个神经元都接受来自多个神经元的兴奋性和抑制性输入^[11, 12, 14], 从电刺激 DNLL 神经元到高位中枢再到记录 IC 神

经元之间经过多个突触的信号整合, 该间接效应很可能在突触整合过程中被掩盖和抵消。因此, 我们认为本研究中 IC 神经元可塑性的形成可能主要是由 DNLL 至 IC 的直接投射介导。Antunes 等在冷冻致听觉皮层失活的条件下, 观测到内膝体的听神经元可以通过可塑性的改变增强对新颖声信号的敏感性^[16], 也说明单独依靠上行输入可以造成听神经元声反应特性的可塑性改变。进一步的研究可以采用膜片钳的方法, 仅保留对侧 DNLL 至 IC 的纤维联系, 在脑片水平观察单独激活 DNLL 上行输入对 IC 神经元产生的可塑性影响。

3.2 上行输入、对侧 IC 调控和离皮层调控对 IC 神经元可塑性的比较

以往研究显示, 离皮层调控和对侧 IC 调控可以对 IC 神经元产生可塑性影响^[1-9]。无论是在离皮层调控、对侧 IC 投射, 还是 DNLL 上行输入对 IC

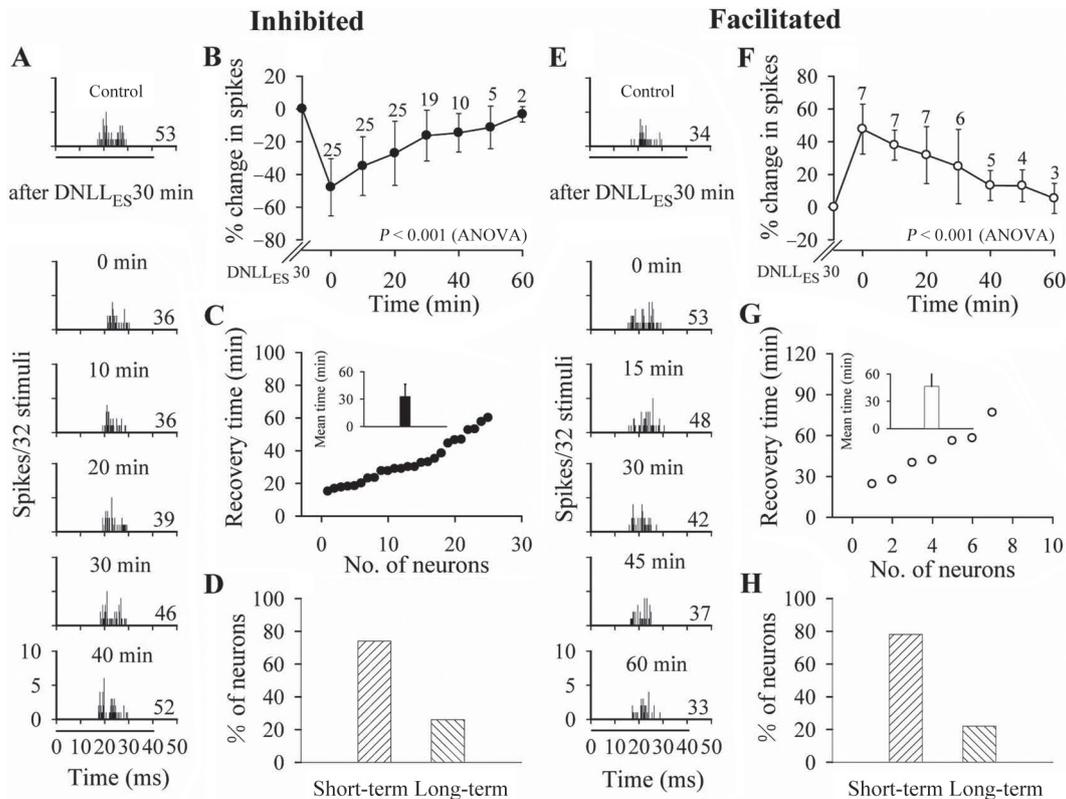


图 5. 受抑制和受易化 IC 神经元可塑性的维持时间

Fig. 5. The maintaining time of plasticity of inhibited and facilitated IC neurons. The time course of the variation in the post-stimulus-time histograms of an inhibited IC neuron (A) and a facilitated neuron (E); B, F: The variation in the percentage of spike count (SC) of short-term plastic inhibited (B) and facilitated IC neurons (F); C, G: The maintaining time of short-term plastic inhibited (C) and facilitated IC neurons (G); D, H: The percentages of short-term and long-term plastic neurons in inhibited (D) and facilitated IC ones (H). The recording depths (μm), MTs (dB SPL), and CFs (kHz) of two types of neurons are 488, 57.9, 19.6 (A), and 698, 72.6, 14.7 (E) respectively.

神经元可塑性的研究中, 电刺激停止后对 IC 神经元造成的可塑性影响均表现为抑制和易化。与对侧 IC 的水平调控相比^[9], 在本研究中上行输入造成的可塑性影响表现为受抑制 IC 神经元比例较高 (64% vs 51%), 抑制程度相近 ($55\% \pm 20\%$ vs $57\% \pm 21\%$); 受易化 IC 神经元比例相近 (17% vs 17%), 易化程度较低 ($44\% \pm 22\%$ vs $90\% \pm 50\%$)。可见上行输入对 IC 神经元的可塑性影响以抑制效应更为显著, 而易化效应相对较弱, 这可能由于 DNLL 是一个以抑制性神经元为主的核团, DNLL 中绝大部分神经元是 GABA 能免疫阳性神经元^[17-20]。

本研究结果显示, DNLL_{ES} 30 min 停止后, 受抑制 IC 神经元的 SC 减少, FSL 延长, 受易化 IC 神经元 SC 增加, FSL 变化不显著 (图 3), 这与离皮层调控对 IC 神经元的可塑性影响一致^[1]。这说明上行输入和下行调控产生的可塑性可能遵循同样的细胞机制。本研究中, 激活昆明小鼠对侧 DNLL 至 IC 的上行输入, 对 IC 神经元基本声反应特性造成的可塑性影响平均可维持 (35.9 ± 15.5) min, 而激活大棕蝠听皮层至 IC 的下行调控, 对 IC 神经元造成的可塑性影响平均可维持 (20.0 ± 9.0) min^[1]。可塑性维持时间的差异一方面可能是由于物种不同造成的, 另一方面可能是因为起源于听皮层的离皮层系统主要投射至 IC 背侧核和外侧核, 再经 IC 内部投射对 IC 中央核产生影响, 这种调制作用是间接的^[21], 且有研究表明听皮层至 IC 的投射明显少于听皮层至丘脑的投射^[22], 而 DNLL 是 IC 的邻近核团, DNLL 至 IC 的上行输入是直接投射^[10]。

3.3 上行输入形成 IC 神经元可塑性的可能机制及生物学意义

本研究结果显示了 IC 神经元的可塑性在功能方面的表现, 而功能的可塑性变化必然伴随着神经元结构的变化, 包括突触结构的变化和储备通路的激活 (形成新的突触连接)。以往研究表明, 突触的可塑性可表现为突触功效的增强^[23], 而突触功效的增强可通过促进突触前膜释放神经递质以及提高突触后膜的反应性来实现^[24]。根据本研究中 IC 神经元声反应特性的变化及突触可塑性原理, 我们提出模式 1 (图 6A) 来解释突触功效增强所造成的 DNLL 对 IC 神经元的可塑性影响。如图 6A 所示, 对照条件下, 声刺激激活 DNLL 至 IC 神经元的抑制性输入 (I) 和其它低位核团至 IC 神经元的兴奋性输入 (II), IC 神经元整合后的兴奋性输入为 (II - I);

DNLL_{ES} 时, 电刺激使得 DNLL 神经元至 IC 神经元的抑制性输入增强 ($I' > I$), 而 IC 接受到的兴奋性输入不变, IC 神经元整合后的兴奋性输入为 (II - I'), 兴奋性输入减少, 发放减少; DNLL_{ES} 30 min 时, 突触结构产生变化, 突触功效增强; 电刺激停止后, 由于突触功效增强会导致抑制性递质 GABA 释放量的增加或提高 GABA 与受体的亲和力, 使得 DNLL 至 IC 的抑制性输入增强 ($I'' > I'$), 而 IC 接受到的兴奋性输入不变, IC 神经元整合后的兴奋性输入为 (II - I''), 和对照条件相比兴奋性输入减少, 发放减少。模式 1 中, IC 神经元反应的变化源于 DNLL 抑制性输入的变化, DNLL 的抑制性输入作用于 IC 神经元反应的早期^[25, 26]。因此, IC 神经元的可塑性不仅表现为 SC 减少, 也表现为 FSL 延长和 FD 缩短 (图 3A~C)。模式 2 (图 6B) 解释听觉神经元之间的储备通路的激活 (形成新的突触连接) 所造成的 DNLL 对 IC 神经元的可塑性影响。如图 6B 所示, III 为声刺激激活某 IC 核团内的神经元, 并对记录神经元产生兴奋性输入。DNLL_{ES} 30 min 时, 储备通路的激活会导致该 IC 核团内的神经元被抑制, 记录 IC 神经元接受到的兴奋性输入减少 ($III' < III$)。电刺激停止后, 与对照条件相比, 记录 IC 神经元兴奋性输入减少 ($II + III' - I < II + III - I$), SC 减少。模式 2 中, IC 神经元反应的变化源于 IC 核团内的兴奋性输入的变化, 该输入经过的突触较多, 到达时间较晚, 对 FSL 和 FD 的影响较小。

以上我们对上行输入形成 IC 神经元可塑性的机制进行了探讨。该可塑性的形成有何生物学意义? 与离皮层调控造成的 IC 神经元的可塑性不同, 上行输入造成的可塑性尚未经过高位中枢的加工, 和动物的捕食、求偶等行为不具备必然联系^[4, 27, 28]。以往研究显示, 激活 DNLL 至 IC 的上行输入, 可以锐化 IC 神经元的频率感受野, 这有利于消除环境中背景噪声的干扰, 从而更有效地获取有意义的声信息^[13]。在本研究中, 持续电刺激对侧 DNLL 30 min, 电刺激停止后, 在 CF、MT + 10 dB SPL 的声刺激条件下监测 IC 神经元的反应, 成年小鼠 IC 神经元的可塑性反应和电刺激时的变化趋势一致 (图 3), 影响程度之间呈正相关 (图 4), 且可维持一段时间 (图 5)。这有利于维持 DNLL 上行输入在 IC 神经元声信号检测中的作用, 能够较长时间地提高 IC 神经元反应的信噪比以及增强 IC 神经元对有意义声信号的检测能力。

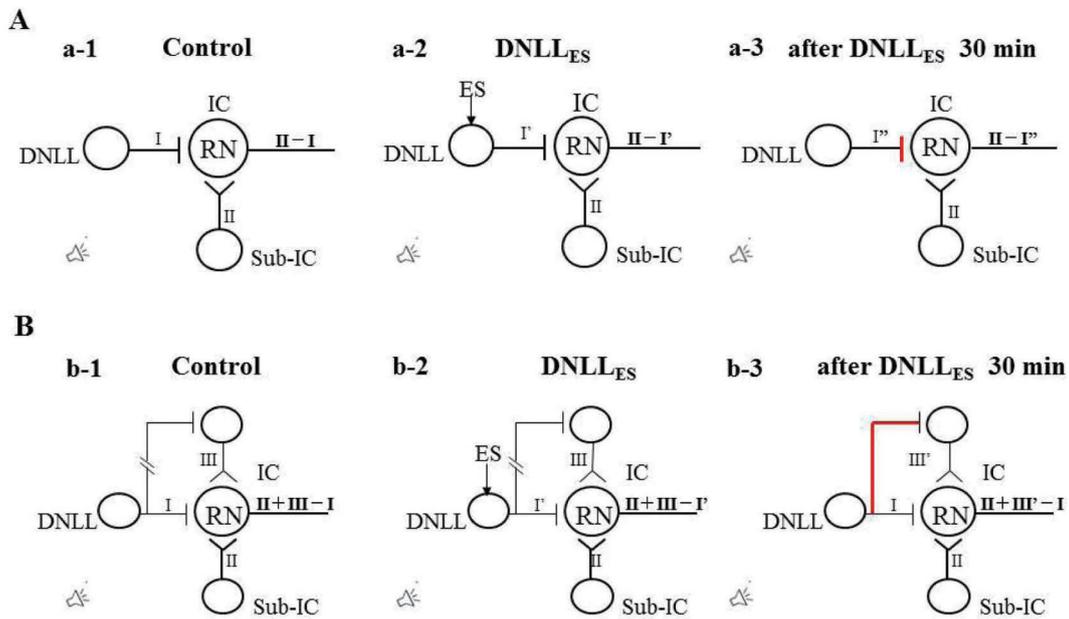


图 6. IC神经元可塑性形成机制的模式图

Fig. 6. The schematic of the plasticity of IC neurons. *A*: The neural circuits under control (a-1), $DNLL_{ES}$ (a-2) and after 30-minute $DNLL_{ES}$ (a-3) explaining the plasticity induced by synaptic structural changes. $I' > I$, $I'' > I$. *B*: The neural circuits under control (b-1), $DNLL_{ES}$ (b-2) and after 30-minute $DNLL_{ES}$ (b-3) explaining the plasticity induced by activation of reserve pathway. $I' > I$, $III' < III$. Sub-IC represents auditory brain stem nuclei; RN: recorded IC neuron; $-|$ represents inhibitory synapse; $-<$ represents excitatory synapse. Red lines in a-3 and b-3 mean the constructions have been changed.

以往的研究还显示 DNLL 向对侧 IC 的投射有音频组构特征^[29, 30], 且与对侧 IC 神经元的对侧兴奋-同侧抑制特性有关^[31, 32]。本研究结果显示, DNLL 神经元对 64% 的对侧 IC 神经元产生抑制性影响, 且实时调控的抑制作用越强, 可塑性的抑制作用也越强(图 4B)。这能够使 IC 神经元更强、更久地被同侧声信号抑制, 从而加强 IC 神经元的兴奋-抑制 (excitation-inhibition, EI) 特性, 有利于小鼠进行双耳信息整合和声源定位。

综上所述, 对侧 DNLL 上行输入引起 IC 神经元发生可塑性的变化, 且这种可塑性变化可维持较长时间, 推测这种上行输入引起的可塑性能够提高 IC 神经元对声信号的检测能力, 有利于动物更好地适应外界环境。

参考文献

- 1 Zhou X, Jen PH. Brief and short-term corticofugal modulation of subcortical auditory responses in the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *J Neurophysiol* 2000; 84(6): 3083–3087.
- 2 Gao E, 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.
- 3 Zhang Y, Suga N. Modulation of responses and frequency tuning of thalamic and collicular neurons by cortical activation in mustached bats. *J Neurophysiol* 2000; 84(84): 325–333.
- 4 Yan W, Suga N. Corticofugal modulation of the midbrain frequency map in the bat auditory system. *Nat Neurosci* 1998; 1(1): 54–58.
- 5 Yan J, Ehret G. Corticofugal modulation of midbrain sound processing in the house mouse. *Eur J Neurosci* 2002; 16(1): 119–128.
- 6 Zhou X, Jen PH. Corticofugal inhibition compresses all types of rate-intensity functions of inferior collicular neurons in the big brown bat. *Brain Res* 2000; 881(1): 62–68.
- 7 Zhou X, Jen PH. Corticofugal modulation of directional sensitivity in the midbrain of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Hear Res* 2005; 203(1–2): 201–215.
- 8 Mei HX, Cheng L, Tang J, Fu ZY, Wang X, Jen PH, Chen QC. Bilateral collicular interaction: modulation of auditory signal processing in amplitude domain. *PLoS One* 2012; 7(7): e41311.
- 9 Cheng L, Mei HX, Tang J, Fu ZY, Jen PHS, Chen QC. Bilateral collicular interaction: modulation of auditory signal processing in frequency domain. *Neuroscience* 2013; 235(7):

- 27–39.
- 10 Franklin SR, Brunso-Bechtold JK, Henkel CK. Bilateral cochlear ablation in postnatal rat disrupts development of banded pattern of projections from the dorsal nucleus of the lateral lemniscus to the inferior colliculus. *Neuroscience* 2008; 154(1): 346–354.
 - 11 Kelly JB, Li L, van Adel B. Sound localization after kainic acid lesions of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the albino rat. *Behav Neurosci* 1996; 110(6): 1445–1455.
 - 12 Zhou XM (周晓明), Feng RB, Sun XD. Effects of bicuculline on auditory response properties of inferior collicular neurons in the Kunming mouse. *Chin J Zool (动物学杂志)* 2001; 36(4): 26–30 (in Chinese with English abstract).
 - 13 Pollak GD. The dominant role of inhibition in creating response selectivities for communication calls in the brainstem auditory system. *Hear Res* 2013; 305: 86–101.
 - 14 Si WJ (佘文娟), Cheng YL, Yang DD, Wang X. Response characteristics of neurons to tone in dorsal nucleus of the lateral lemniscus of the mouse. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2016; 68(1): 1–11 (in Chinese with English abstract).
 - 15 Paxinos G, Franklin KB. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd ed. Academic Press, New York, 2001.
 - 16 Antunes FM, Malmierca MS. Effect of auditory cortex deactivation on stimulus-specific adaptation in the medial geniculate body. *J Neurosci* 2011; 31(47): 17306–17316.
 - 17 Adams JC, Mugnaini E. Dorsal nucleus of the lateral lemniscus: a nucleus of GABAergic projection neurons. *Brain Res Bull* 1984; 13(4): 585–590.
 - 18 Shneiderman A, Chase MB, Rockwood JM, Benson CG, Potashner SJ. Evidence for a GABAergic projection from the dorsal nucleus of the lateral lemniscus to the inferior colliculus. *J Neurochem* 1993; 60(1): 72–82.
 - 19 Vater M, Kössl M, Horn AK. GAD- and GABA-immunoreactivity in the ascending auditory pathway of horseshoe and mustached bats. *J Comp Neurol* 1992; 325(325): 183–206.
 - 20 Winer JA, Larue DT, Pollak GD. GABA and glycine in the central auditory system of the mustache bat: structural substrates for inhibitory neuronal organization. *J Comp Neurol* 1995; 355(3): 317–353.
 - 21 Jen PH, Sun X, Chen QC. An electrophysiological study of neural pathways for corticofugally inhibited neurons in the central nucleus of the inferior colliculus of the big brown bat, *Eptesicus fuscus*. *Exp Brain Res* 2001; 137(3): 292–302.
 - 22 Bajo VM, Rouiller EM, Welker E, Clarke S, Villa AE, de Ribaupierre Y, de Ribaupierre F. Morphology and spatial distribution of corticothalamic terminals originating from the cat auditory cortex. *Hear Res* 1995; 83(1–2): 161–174.
 - 23 Bressloff PC, Earnshaw BA. A dynamic corral model of receptor trafficking at a synapse. *Biophys J* 2009; 96(96): 1786–1802.
 - 24 Feng B (冯波), Hu P, Wang R. Postsynaptic dense area and synaptic plasticity. *J Capit Univ Med Sci (首都医科大学学报)* 2010; 31(1): 84–87 (in Chinese with English abstract).
 - 25 Park TJ, Pollak GD. GABA shapes a topographic organization of response latency in the mustache bat's inferior colliculus. *J Neurosci* 1993; 13: 5172–5187.
 - 26 Saitoh I, Suga N. Long delay lines for ranging are created by inhibition in the inferior colliculus of the mustached bat. *J Neurophysiol* 1995; 74: 1–11.
 - 27 Yan J, Suga N. Corticofugal modulation of time-domain processing of biosonar information in bats. *Science* 1996; 273(5278): 1100–1103.
 - 28 Suga N, Ma X, Gao E, Sakai M, Chowdhury SA. Descending system and plasticity for auditory signal processing: neuroethological data for speech scientists. *Speech Commun* 2003; 41(1): 189–200.
 - 29 Bajo VM, Merchán MA, López DE, Rouiller EM. Neuronal morphology and efferent projections of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the rat. *J Comp Neurol* 1993; 334(2): 241–262.
 - 30 Shneiderman A, Oliver DL, Henkel CK. Connections of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus: an inhibitory parallel pathway in the ascending auditory system. *J Comp Neurol* 1988; 276(2): 188–208.
 - 31 Pollak GD, Burger RM, Klug A. Dissecting the circuitry of the auditory system. *Trends Neurosci* 2003; 26: 33–39.
 - 32 Li L, Kelly JB. Inhibitory influence of the dorsal nucleus of the lateral lemniscus on binaural responses in the rat's inferior colliculus. *J Neurosci* 1992; 12: 4530–4539.