

综述

中枢胆碱能系统投射支配鸣禽鸣唱控制系统并调控鸣唱行为

王青沁¹, 王松华¹, 姚丽华², 孟玮^{1,*}

江西科技师范大学¹有机功能分子研究所; ²生命科学学院, 南昌 330013

摘要: 鸣禽因其独特的习得性鸣唱行为, 成为了研究运动学习的理想模型。现已证实, 鸣禽的鸣唱行为受前脑内的鸣唱控制系统直接调控。有证据显示, 鸣唱控制系统内有胆碱能递质及其受体分布, 其中发声运动核团接受来自基底前脑中枢胆碱能系统的胆碱能神经支配, 其可通过胆碱能递质影响发声运动核团的神经活动, 进而影响鸣唱行为。在哺乳动物中的研究证实, 中枢胆碱能系统参与了对运动行为和运动学习神经过程的调控。了解中枢胆碱能系统对鸣禽鸣唱行为的调控作用, 有助于更好地理解鸣禽鸣唱运动控制和鸣唱学习记忆的神经机制, 并可从比较生理学的角度, 为研究其它动物感觉运动和学习记忆的神经过程, 乃至人类语言产生的神经过程提供重要参考。本文对迄今国内外在胆碱能递质对鸣禽发声运动核团作用受体的选择性及其对神经元活动影响的研究进展进行了综述, 为揭示中枢胆碱能系统调控鸣禽鸣唱行为的神经机理提供有价值的线索。

关键词: 中枢胆碱能系统; 鸣禽; 鸣唱控制系统; 鸣唱行为; 感觉运动; 学习记忆

中图分类号: Q424

Central cholinergic system innervates song control system of songbirds and regulates song behavior

WANG Qing-Qin¹, WANG Song-Hua¹, YAO Li-Hua², MENG Wei^{1,*}

¹*Institute of Organic Functional Molecules; ²School of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China*

Abstract: Songbird has become an ideal model for studying motor learning due to its unique learned song behavior. It has been proved that song behavior is directly regulated by song control system in the forebrain of songbirds. There are lines of evidence to show that cholinergic transmitters and their receptors are distributed in song control system, and vocal control nuclei in song control system are innervated by cholinergic nerves from the central cholinergic system in basal forebrain, which can affect activities of vocal control nuclei through cholinergic transmitters, and then affect song behavior. Studies in mammals have confirmed that the central cholinergic system is involved in the regulation of motor behavior and neural process of motor learning. Elucidation of regulation of songbirds' song behavior by central cholinergic system would shed light on the neural mechanism of song motor control and song learning and memory in songbirds, and provide theoretical insights for researches on other animals' sensorimotor processes and human language learning. This review summarized recent progresses, including the research work of our laboratory, in the studies on the selectivity of cholinergic transmitters to their receptors and their effects on neuronal activities in vocal control nuclei of songbirds and provided valuable clues for revealing the regulation mechanism of central cholinergic system on songbirds' song behavior.

Key words: central cholinergic system; songbird; song control system; song behavior; sensorimotor processes; learning and memory

Received 2018-03-05 Accepted 2018-06-04

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31660292), the Key Project of Science and Technology Program of Department of Education of Jiangxi Province, China (No. GJJ160766) and the Youth Top-notch Talent Support Program of Jiangxi Science and Technology Normal University, China (No. 2016QNBjrc005).

*Corresponding author. Tel: +86-791-88539272; E-mail: meng7883@163.com

在脊椎动物中，鸣禽因具有独特的习得性鸣唱行为，引起了动物行为学、神经生物学等研究领域科学家的关注。现代科学研究将鸣禽鸣唱学习与人类语言学习进行对比，并主要着眼于其神经控制过程^[1]。大量研究证实，鸣禽的鸣唱行为及其习得过程由前脑和脑干中被称之为“鸣唱控制系统”的一组离散而又相互联系的神经结构所控制。目前，该系统内各个神经核团的解剖结构和相互联系已被揭示，对鸣唱行为也可通过声学记录并运用专业软件进行量化分析。因此，鸣禽成为了研究运动学习的理想模型^[2]。常用于鸣唱行为神经控制研究的鸣禽种类有斑胸草雀、金丝雀、白冠雀等。这些鸟种神经结构相似，鸣唱行为各具特点，作为重要的模式动物适用于神经科学研究。

在神经系统中，乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 是胆碱能神经的化学递质，也是第一种被发现的神经过递质，其在胆碱能神经元中可由胆碱和乙酰辅酶 A 在胆碱乙酰基转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 的催化下自行合成。释放于轴突末梢的 ACh 通过与其毒蕈碱型即 M 型 (muscarinic receptor, mAChR) 和烟碱型即 N 型 (nicotinic receptor, nAChR) 两种受体特异结合而发挥作用^[3]。在中枢神经系统中，ACh 作用比较复杂，或兴奋或抑制。研究证实，

ACh 参与了学习记忆、感觉运动、选择性注意、睡眠觉醒等神经过程的调控^[4,5]。

在哺乳动物中，中枢胆碱能系统参与了运动皮层可塑性的调节和运动技能学习的过程^[6]。在鸣禽中，药理学并结合行为学研究的结果显示，nAChR 激动剂尼古丁经皮下给药可引起成年雄性斑胸草雀的鸣唱行为及自主活动出现敏化反应^[7]。由此提示，中枢胆碱能系统可能在鸣禽的鸣唱运动与学习过程中起重要作用。

1 鸣禽脑中的鸣唱控制系统与胆碱能神经分布

1.1 鸣唱控制系统的构成

研究证实，鸣唱控制系统由控制发声运动的发声运动通路 (vocal motor pathway, VMP) 和主导鸣唱学习与维持过程的前端脑通路 (anterior forebrain pathway, AFP) 构成。如图 1 所示，VMP 由高级发声中枢 (high vocal center, HVC) 发出纤维投射至弓状皮质核 (robust nucleus of the arcopallium, RA)，再由 RA 经脑干运动核团支配鸣管和呼吸肌来调控鸣唱行为。AFP 由丘脑背外侧核内侧部 (medial portion of the dorsolateral nucleus of the anterior thalamus, DLM)、巢皮质前部巨细胞核外侧部 (lateral magnocellular nucleus of anterior nidopallium, LMAN) 和 X

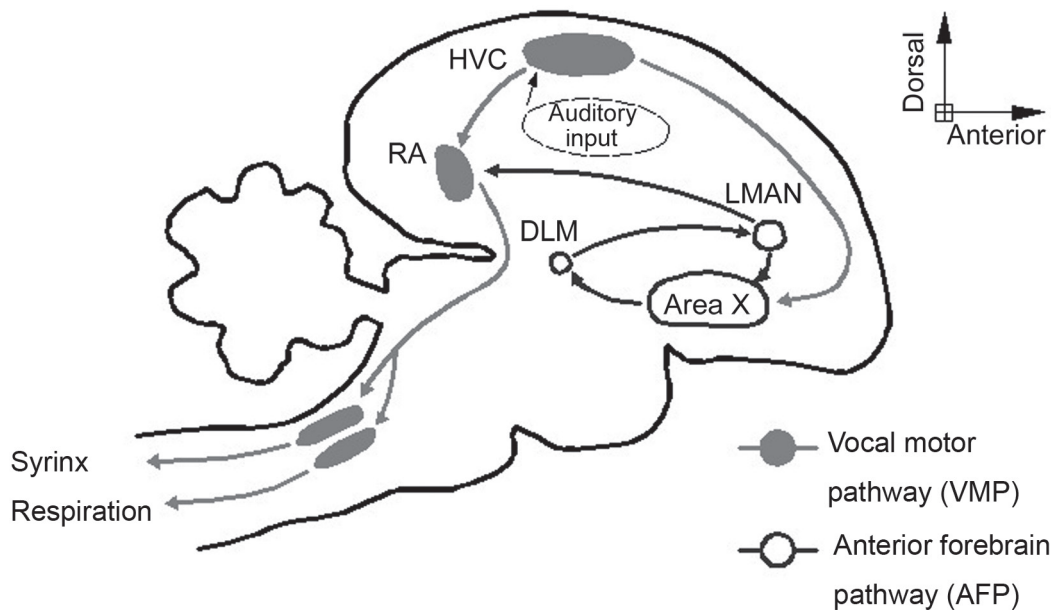


图 1. 鸣唱控制系统简化示意图

Fig. 1. Simplified schematic of the song control system. The song control system consists of vocal motor pathway (VMP) which regulates song behavior of songbirds and anterior forebrain pathway (AFP) which is involved in the learning and maintenance process of birdsongs. HVC: high vocal center; RA: robust nucleus of the arcopallium; DLM: medial portion of the dorsolateral nucleus of the anterior thalamus; LMAN: lateral magnocellular nucleus of anterior nidopallium.

区(鸟类基底神经节的一部分)构成环路。VMP和AFP之间可通过HVC-X区及LMAN-RA纤维投射紧密相连。此外,HVC还接受来自前脑听区的纤维传入,承担感觉运动整合的功能^[8,9]。

1.2 胆碱能神经在鸣唱控制系统中的分布

哺乳动物大脑皮层接受的主要胆碱能输入来自于基底前脑基底核(nucleus basalis, NB)的无名质(substantia innominata)^[10,11]。对ChAT在鸽脑中分布的详尽研究表明,鸟类皮层下胆碱能系统的构筑方式与哺乳动物十分近似^[12]。

1.2.1 组织化学法证实鸣唱相关脑区内有乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)分布

作为乙酰胆碱的水解酶,AChE组织化学法曾被广泛应用于胆碱能神经的分布鉴定。上世纪80年代初,Ryan和Arnold采用AChE组织化学法研究的结果显示,两性斑胸草雀前脑鸣唱控制核团X区、HVC、RA和LMAN,以及与HVC听觉传入相关的界面核(nucleus interface of the nidopallium, Nif)、中脑丘间核(nucleus intercollicularis, ICo)和丘脑葡萄形核(uvaeform nucleus, Uva)中均含有AChE标记的神经纤维。除X区外,上述核团内还含有AChE标记胞体^[13]。此后,Sadananda利用AChE组织化学法对斑胸草雀检测的结果再次证实,鸣唱控制系统内有AChE分布,AChE分布于X区、HVC、RA及LMAN内的胞体和神经纤维,尤以X区和HVC居多^[14]。

1.2.2 ChAT免疫细胞化学法证实鸣唱控制系统接受胆碱能神经投射

随着免疫组化技术的发展,以ACh特异合成酶ChAT作为胆碱能神经元标志物的免疫细胞化学法被应用于胆碱能神经元的分布鉴定,检测的特异性获得了提高。Zuschratter等运用ChAT免疫细胞化学法并结合AChE组织化学法的研究结果表明,在成年两性斑胸草雀鸣唱控制系统中,X区中ChAT免疫阳性标记胞体数量最多^[15]。神经束路追踪研究结果显示,X区内胆碱能神经元并未投射至其靶核团DLM,提示X区内的胆碱能神经元可能为中间神经元^[16,17]。组织化学法结果显示,HVC、LMAN、Nif和RA内有AChE阳性标记胞体和纤维存在,其中LMAN和RA周边区域纤维标记密度更高。而HVC、LMAN、Nif和RA中未见ChAT阳性标记胞体,仅见少量ChAT阳性标记纤维^[15]。此外,有研究表明,HVC经鹅膏蕈氨酸(ibotenic acid, IBO)化

学损毁后,外源性注入神经生长因子(nerve growth factor, NGF)可有效保护HVC内ChAT阳性标记细胞的活性^[18]。

逆行荧光示踪剂和ChAT免疫组化双标实验结果显示,支配RA和HVC的胆碱能纤维起源于基底前脑的腹侧旧纹状体(ventral paleostriatum, VP)。VP与哺乳动物基底前脑胆碱能系统麦纳尔基底核(nucleus basalis of Meynert)同源。VP中投射至HVC和投射至RA的胆碱能神经元分别分布在VP内的不同区域,其中投射至HVC的胆碱能神经元主要分布在VP后部,而投射至RA的胆碱能神经元则分布在更靠VP前部的区域,仅有少量神经元既投射至HVC又投射至RA^[19]。

以上结果表明,多个鸣唱相关核团可能具有胆碱能神经元,并发出含有胆碱能递质的投射纤维,同时还可接受胆碱能传入纤维的调控。早期定量放射自显影结果表明,鸣唱相关核团中均有或高或低水平的mAChR标记^[20-22],nAChR也存在于多个鸣唱相关核团^[23]。此外,功能基因组学和生物信息学的研究表明,HVC内同时存在mAChR和nAChR^[24]。而药理学的研究表明,RA内存在nAChR^[25]。因此,上述解剖学和组织学的研究结果提示,胆碱能神经支配可能在对鸣曲的感觉处理和运动控制中起重要作用。

1.2.3 鸣唱相关核团内胆碱能神经分布的性别差异

鸣禽的鸣唱通常是一种雄性求偶行为,具有显著的性别差异^[8]。免疫组化结果显示,雄鸟基底前脑VP区域内投射至HVC和RA的ChAT免疫阳性标记胞体面积和密度显著高于雌鸟^[26]。此外,雄鸟X区周围ChAT免疫阳性标记纤维的密集程度也明显高于雌鸟^[15]。另有研究表明,雄激素睾酮对鸣禽鸣管的重量及鸣管运动神经元中ChAT和AChE的活性均有调节作用。实验结果显示,对成年雄性斑胸草雀进行阉割去势,将导致鸣管重量及鸣管和鸣管神经中的ChAT、AChE活性降低,而经睾酮处理可使鸣管重量和AChE活性提升^[27]。这种ChAT和AChE表达及活性的性别差异很可能与鸣唱行为的性别差异有关。

2 胆碱能递质对鸣唱控制系统及鸣唱行为的影响

作为调控鸣唱行为的神经结构基础,鸣唱控制系统主要承担了鸣唱运动指令神经编码的产生,教

习曲的感知、记忆与存储, 听觉反馈与教习曲记忆模板的比对, 及对鸣唱运动信号输出的前馈性调控等神经功能^[28]。像人类说话一样, 鸣禽的鸣唱需要发声和呼吸器官肌肉组织的协调联动来完成。鸣唱控制系统中的 VMP 执行了这一协调控制的神经过程。该通路中两个鸣唱运动控制核团 HVC 和 RA 的神经生理活动均与鸣唱运动的神经编码有关^[29]。虽然 HVC 对鸣唱运动的编码控制等级高于 RA, 但 HVC 产生的运动编码无法直接控制鸣肌。作为 HVC 的传出核团, 及直接控制脑干运动通路的前运动核团, RA 对来自 HVC 的控制信号进行加工, 最终产生可使鸣肌和呼吸肌协调联动的神经编码, 输出至脑干运动核团, 以驱动控制鸣唱行为^[30, 31]。

早期运用高效液相色谱技术 (high performance liquid chromatography, HPLC) 对斑胸草雀孵化后 5 个不同发育时段 (30、40、50、60 和 90 d) 的 HVC 和 RA 内神经递质含量进行了测量, 结果表明, HVC 和 RA 中 ACh 含量在鸣唱学习的敏感期中显著增加, 并在接近成年期的过程中逐渐降低。ACh 含量在 HVC 中的变化过程早于 RA^[32]。

2.1 HVC 听觉门控特性的胆碱能调控及其对 RA 听觉反应性的间接影响

许多种类的鸣禽都必须依靠听觉反馈习得和维持鸣曲。在习鸣的听觉记忆阶段, 幼鸟通过听觉反馈记住雄性亲鸟教习曲的发声模式。在感觉运动整合期, 通过听觉反馈和不断练唱, 使自身鸣曲与教习曲达到或接近匹配^[33, 34]。因此, 鸣唱控制系统可以被认为是一个在听觉反馈作用下, 控制鸣曲学习和发声运动的中枢神经系统^[35]。研究表明, 鸣唱控制系统内神经元对自身鸣曲 (bird's own song, BOS) 具有显著的听觉选择性反应, 并且这种特性会随着睡眠、觉醒、麻醉等行为状态的变化而变化^[36]。

鸣唱控制系统在对 BOS 的神经反应中表现出听觉门控特性。HVC 是鸣曲产生、感知和学习的关键结构, 其处于鸣唱运动通路的最高级, 且为听觉信息输入鸣唱控制系统的门控核团^[37]。因此, HVC 在听觉反馈参与鸣唱学习过程中起着至关重要的作用。Schmidt 和 Konishi 研究显示, 在成年斑胸草雀睡眠和麻醉状态下, 大多数 HVC 神经元对 BOS 具有听觉选择性反应, 而在清醒状态下, 则失去了这种听觉反应性, 表明 HVC 具有听觉门控作用, 其可基于动物的行为状态, 调控进入鸣唱控制系统的听觉信息。这种基于清醒状态的听觉门控作

用在鸣禽之外的其他动物中鲜有报道^[37]。因此, HVC 的听觉门控特性在听觉反馈参与的鸣曲学习和维持过程中可能起关键作用。除 HVC 之外, Nif 也表现出听觉门控特性。HVC 和 Nif 均接受来自 Uva 的传入。有证据表明, Uva 接受来自上网状核背侧部 (nucleus reticularis superior, pars dorsalis, RSd) 和内侧缰核 (medial habenula, MHb) 的传入。免疫组化结果显示, MHb 至 Uva 的传入投射富含胆碱能神经纤维^[38]。据此推测, 胆碱能递质在听觉反应的调控中可能起作用。如前所述, HVC 和 RA 均接受来自基底前脑 VP 内的胆碱能神经支配。通过神经束路追踪研究发现, 一条独立的神经通路由听觉通路中重要的中继核团卵圆核 (nucleus ovoidalis, Ov) 投射至基底前脑的 VP 胆碱能系统, 再由 VP 投射至 HVC 和 RA。该结果提示, VP 中投射至 HVC 和 RA 的胆碱能神经元同时还接受来自 Ov 听觉信息的调节^[39, 40](图 2)。

在斑胸草雀中证实, 除 HVC 外, RA 的听觉选择性神经活动也与行为状态关系密切^[37, 41–43]。在乌拉坦麻醉和正常睡眠过程中, RA 神经元表现出与 BOS 相关的听觉选择性反应和规律性自发放特点^[44]。在清醒状态下, RA 神经元对听觉刺激无反应^[41], 但在鸣唱期间呈现与鸣曲音节特征高度相关的高频发放模式^[45, 46]。在体电生理记录结果表明, RA 神经元这种与行为状态相关的听觉选择性反应是源自 HVC^[43]。在麻醉的斑胸草雀 HVC 中局部注射去甲肾上腺素, 可消除 RA 神经元的听觉选择性反应, 但对 HVC 内神经元的听觉选择性反应无影响^[41]。该结果再次支持了 HVC 是听觉选择性反应的门控位点之一, 同时提示 HVC 的这种听觉门控作用可能与输入 HVC 和 RA 的包括儿茶酚胺类、胆碱类等递质在内的神经物质的相互作用有关^[47, 48]。

基底前脑接受听区和鸣唱系统丘脑区域的输入^[40], 并且其中的胆碱能神经元投射至 HVC 和 RA^[19]。因此, 基底前脑中投射至 HVC 和 RA 的胆碱能纤维很可能参与了对 HVC 和 RA 行为状态依赖性听觉反应的调控。在体电生理记录的结果表明, 在斑胸草雀麻醉状态下, 往 HVC 中注入非选择性胆碱能受体激动剂卡巴可 (carbachol) 或 mAChR 激动剂毒蕈碱 (muscarine), 显著影响了 HVC 及其输出靶核团 RA 的发放率, 并抑制了两个核团对 BOS 的听觉选择性反应, 使麻醉状态下两个核团的发放和听觉反应变化趋向于觉醒状态, 且 HVC 和 RA

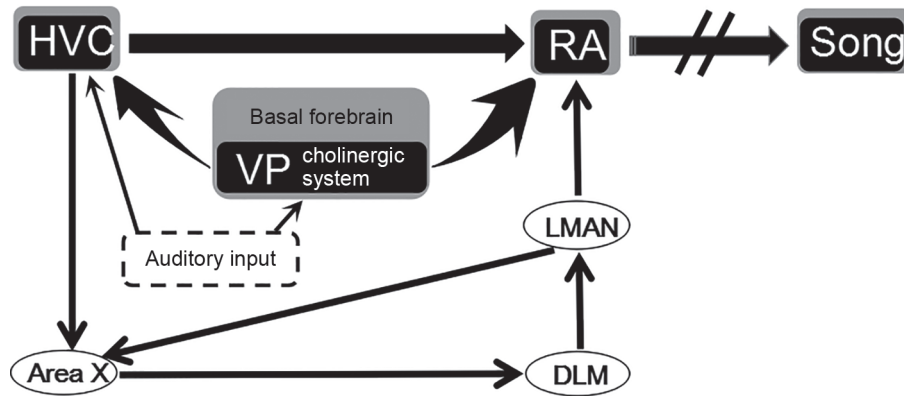


图 2. 中枢胆碱能系统对鸣禽前脑鸣唱控制核团的投射支配

Fig. 2. The central cholinergic system innervates the song control nuclei in the forebrain of songbirds. Cholinergic fibers which innervate the HVC and RA originate from the ventral paleostriatum (VP) in the basal forebrain of songbirds, and VP is regulated by auditory input.

听觉选择性反应的消退在时间上也是匹配的。若向 HVC 内注射 nAChR 激动剂尼古丁可对 HVC 产生与卡巴可或毒蕈碱相似的效果，但对 RA 的影响微弱。刺激基底前脑可引起 HVC 和 RA 一过性发放停止，后恢复并伴随听觉反应减弱。若在刺激基底前脑前，向 HVC 内注射 mAChR 拮抗剂阿托品 (atropine) 或 nAChR 拮抗剂二氢- β -刺桐啶碱 (dihydro- β -erythroidine, DH β E)，则可阻断刺激引起的效应。实验表明，投射至 HVC 和 RA 的基底前脑胆碱能纤维对 HVC 和 RA 的听觉反应具有调控作用，这种调控作用可能模拟了睡眠和觉醒状态下鸣唱运动通路活动的转换^[49]。基底前脑在觉醒状态下的活动水平阻止了听觉信息传入 HVC 和 RA，进而使觉醒状态下发声运动通路的活动发生适应性的变化^[49]。

2.2 胆碱能递质对 HVC 神经网络的影响

HVC 是基底前脑胆碱能神经元对鸣唱运动通路调控的重要靶点之一。HVC 内包含两类投射神经元，其中一类为投射至 RA 的 HVC_{RA} 投射神经元，另一类为投射至 X 区的 HVC_X 投射神经元，这两类投射神经元皆与 HVC 内的抑制性中间神经网络相联系^[50]。

Shea 等运用脑片膜片钳全细胞记录技术研究了胆碱能递质对成年雄性斑胸草雀 HVC 中各类神经元的调控作用。实验在电流钳记录模式下观察。根据电生理特性，HVC_{RA} 投射神经元可分为两类，在电流注入时，其中一类表现出相位型发放，而另一类表现为强直型发放。在阻断快突触传递的条件下，mAChR 激动剂毒蕈碱可兴奋相位发放型 HVC_{RA} 投射神经元和大多数 HVC_X 投射神经元，但其对强直

发放型 HVC_{RA} 投射神经元的作用效果则不稳定且不一致，同时毒蕈碱对 HVC 中间神经元起抑制作用，以上作用可被 mAChR 拮抗剂阿托品所逆转^[50]，表明以上作用由突触后 mAChR 所介导。而在哺乳动物皮层内的中间神经元则一般可被胆碱能递质所兴奋^[51]，但也有部分皮层神经元被毒蕈碱抑制^[52]。离体条件下，毒蕈碱对 HVC 中间神经网络的抑制作用或许解释了在体 HVC 内注入毒蕈碱可阻断 RA 神经元听觉选择性反应的原因。

由此可见，胆碱能递质对 HVC 神经网络的调控模式非常复杂。胆碱能递质很可能通过 HVC 内抑制性中间神经网络协调前脑听区 -HVC、HVC-RA 和 HVC-X 区之间的突触联系，使听觉反馈、鸣唱运动、鸣曲学习和习得后维持的神经过程相互衔接、统一。

2.3 胆碱能递质对 RA 的影响

有研究表明，在鸣曲学习的敏感期中，RA 内 ChAT 活性与 ACh 含量变化紧密相关，但 RA 内 ChAT 免疫阳性标记纤维数量未发生改变^[53]。该结果提示，敏感期中 RA 内 ACh 含量的一过性增加可能与 ChAT 活性增加有关。另外，生化研究结果显示，在斑胸草雀鸣唱学习敏感期中，非选择性胆碱能受体激动剂卡巴可刺激 RA 神经元突触神经小体 (synaptoneurosome) 内磷脂酰肌醇周转率 (phosphoinositide turnover) 显著增加。该结果表明 ACh 可能参与了鸣唱学习过程中 RA 神经元活动的调节^[54]。

2.3.1 尼古丁对 RA 突触可塑性的调控作用

Salgado-Commissariat 等通过脑片细胞内电生理记录获得的实验结果显示，nAChR 激动剂尼古丁可

使成年雄性斑胸草雀 RA 内神经元诱发和自发动作电位发放频率增加, 且动作电位后超极化 (afterhyperpolarization, AHP) 幅度降低^[25]。该结果提示, 在成年雄性斑胸草雀 RA 中有 nAChR 表达, 尼古丁可通过激活 nAChR 以提升 RA 神经元的兴奋性。实验结果还显示, 在尼古丁的作用下, 强直刺激 LMAN 可诱导 RA 神经元产生长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 现象。该现象可被 nAChR $\alpha 4$ 亚基拮抗剂 DH β E 所阻断。而在 nAChR $\alpha 7$ 亚基拮抗剂 methylcaconitine (MLA) 的作用下, 强直刺激则可诱导 RA 神经元产生长时程抑制 (long-term depression, LTD) 现象^[25]。LTP 和 LTD 均为长时程突触可塑性的表现形式, 在学习记忆过程中可能具有重要作用^[55–57]。以上结果提示, nAChR 对 RA 神经元的突触可塑性具有重要调控作用, 通过激活 nAChR 的不同亚型, 可诱导产生双向突触可塑性。这种双向突触可塑性的诱导可能在鸣唱学习与鸣曲维持过程中起重要作用。

2.3.2 胆碱能递质对 RA 投射神经元兴奋性和膜特性的影响

RA 由投射神经元和中间神经元两类神经元构成。RA 投射神经元与哺乳动物运动皮层第 5 层的锥体束神经元相类似, 其活动决定了鸣禽的鸣唱运动行为^[58]。我们近期采用脑片膜片钳全细胞记录技术对胆碱能递质参与成年雄性斑胸草雀 RA 投射神经元兴奋性和膜特性的影响及机制进行了研究。电流钳模式下的记录结果显示, 非选择性胆碱能受体激动剂卡巴可可引起 RA 投射神经元自发和诱发动作电位发放频率降低, 并伴随膜电位的超极化, 诱发动作电位潜伏期、后超极化峰值和后超极化达峰时间的增加, 以及膜输入阻抗、膜时间常数和膜电容的减小。该研究结果表明, 卡巴可通过引起静息膜电位的超极化, 并增大后超极化电位和膜电导, 以降低 RA 投射神经元的兴奋性, 减少 RA 投射神经元的活动^[59]。

我们进一步的研究结果显示, mAChR 拮抗剂阿托品可阻断卡巴可对 RA 投射神经元的作用, 而 mAChR 激动剂毒蕈碱对 RA 投射神经元的作用效果与卡巴可相似。此外, 两种 nAChR 激动剂尼古丁和 DMPP 对 RA 投射神经元的活动均无影响, 且 nAChR 拮抗剂 mecamlamine 也未能阻断卡巴可对 RA 投射神经元的作用。上述研究结果表明, 卡巴可主要通过 mAChR 对 RA 投射神经元的内在膜特

性进行调节, 而 nAChR 不参与卡巴可对 RA 投射神经元内在膜特性的调节作用^[60]。前述 Salgado-Commissariat 等通过脑片细胞内电生理记录技术研究报道, 尼古丁可使成年雄性斑胸草雀 RA 内神经元的诱发和自发动作电位发放频率增加, 且动作电位 AHP 减小^[25]。而我们通过脑片膜片钳全细胞电生理记录的结果表明, 尼古丁和 DMPP 对成年雄性斑胸草雀 RA 投射神经元的动作电位发放均无明显调节作用。Salgado-Commissariat 等采用的技术方法和我们有所不同, 且他们的实验数据并未明确是属于 RA 内的何种神经元, 而我们的实验数据从多方面一致表明, nAChR 未参与胆碱能递质对成年雄性斑胸草雀 RA 投射神经元内在膜特性的调控^[60]。

此外, 我们通过电压钳模式记录的结果显示, 卡巴可显著降低了成年雄性斑胸草雀 RA 投射神经元微小兴奋性突触后电流 (miniature excitatory postsynaptic currents, mEPSCs) 的频率和幅值 (实验数据尚未发表)。mEPSCs 是检测突触传递的重要电生理指标。mEPSCs 频率改变与突触前递质释放量的变化有关, 其幅度的改变则与突触后机制有关^[61]。RA 主要接受来自于 HVC 和 LMAN 的谷氨酸能纤维传入^[62]。该结果表明, 卡巴可同时通过突触前和突触后机制抑制 RA 投射神经元的兴奋性突触传递。

内在膜特性决定了神经元对输入信息的整合能力及其活动状态^[63]。由于 RA 投射神经元的活动最终将产生精确的神经信号驱动脑干发声和呼吸运动神经元, RA 投射神经元活动的变化决定了鸣曲特征的变化^[64]。因此, 基于我们的研究结果可以推测, 在生理条件下, 胆碱能递质可通过改变 RA 投射神经元的内在膜特性, 影响 RA 投射神经元的活动, 进而调控鸣唱行为。鸣禽基底前脑胆碱能系统参与了对鸣唱运动控制和鸣唱学习记忆神经过程的调控作用。

3 小结与展望

探明中枢胆碱能系统对鸣禽鸣唱行为的调控作用, 有助于我们更好地理解鸣禽鸣唱运动控制和鸣唱学习记忆的神经机制, 并可从比较生理学的角度, 为研究其它动物感觉运动和学习记忆的神经过程, 乃至人类语言产生的神经过程提供重要参考。国内外包括我们实验室在胆碱能递质对鸣禽发声运动核团作用受体的选择性及其对神经元活动影响的研究中取得的进展, 可为揭示中枢胆碱能系统调控鸣禽鸣唱行为的神经机理提供有价值的线索 (图 3)。

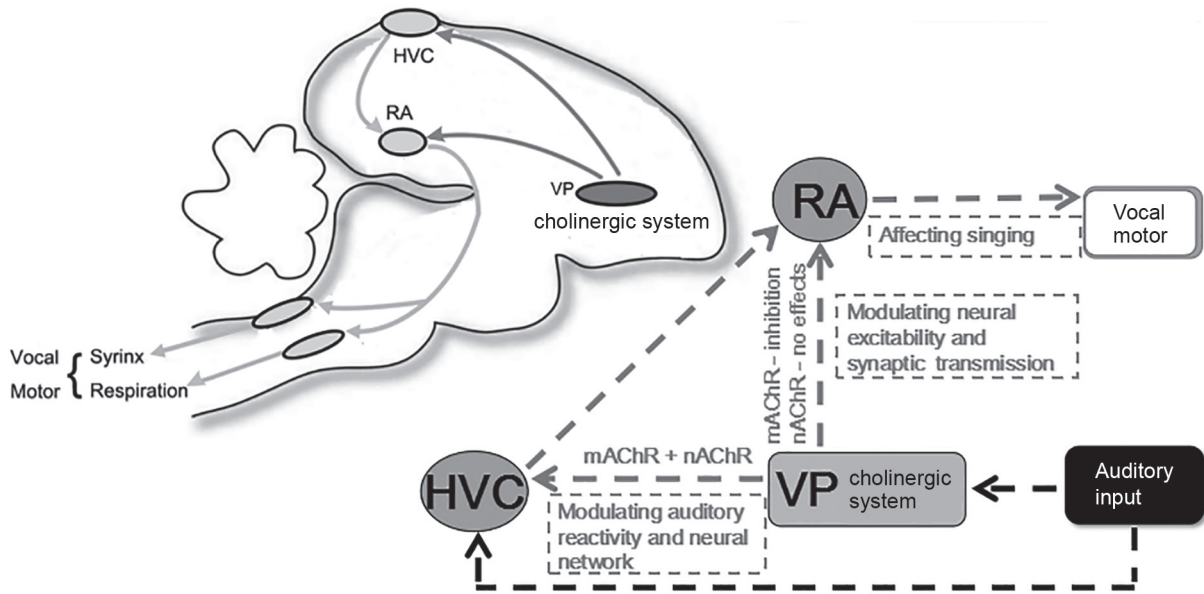


图 3. 中枢胆碱能系统调控鸣禽鸣唱行为的神经机理

Fig. 3. Possible mechanism of central cholinergic system regulating song behavior of songbirds. Previous studies have revealed that the central cholinergic system in the basal forebrain of songbirds could regulate the activities of RA projection neurons by modulating the auditory response and neural network of HVC and the intrinsic membrane properties and synaptic transmission of RA neurons, and then affect song behavior. In HVC, both mAChR and nAChR can be involved in the inhibitory effect of cholinergic transmitters on bird's own song (BOS)-selective auditory responses, but the excitatory changes of different types of HVC neurons, which are caused by the activation of postsynaptic mAChR, are inconsistent. These results reflect the complexity of cholinergic transmitter regulating HVC neuron network. In RA, cholinergic transmitter regulates the intrinsic membrane properties and activities of RA projection neurons mainly through activation of mAChR but not nAChR.

但是，该科学问题仍有许多方面尚需进一步的研究。例如，胆碱能递质对成年雄性鸣禽 RA 投射神经元的抑制作用是通过突触后 RA 投射神经元自身细胞膜上的 mAChR 直接引起，还是通过突触前 mAChR 兴奋与 RA 投射神经元形成突触联系的抑制性中间神经网络，或通过突触前 mAChR 调节传入 RA 的谷氨酸能突触传递所间接导致？胆碱能递质对 RA 内抑制性中间神经网络如何调控？在整体动物水平，胆碱能递质对 RA 内神经元的调控作用及其与鸣唱行为的关系如何？这些尚未揭示的问题有待于我们继续深入研究。

参考文献

- Lipkind D, Marcus GF, Bemis DK, Sasahara K, Jacoby N, Takahasi M, Suzuki K, Feher O, Ravbar P, Okanoya K, Tchernichovski O. Stepwise acquisition of vocal combinatorial capacity in songbirds and human infants. *Nature* 2013; 498(7452): 104–108.
- Ding L, Perkel DJ. Dopamine modulates excitability of spiny neurons in the avian basal ganglia. *J Neurosci* 2002; 22(12): 5210–5218.
- Alger BE, Nagode DA, Tang AH. Muscarinic cholinergic receptors modulate inhibitory synaptic rhythms in hippocampus and neocortex. *Front Synaptic Neurosci* 2014; 6: 18.
- Garduño J, Galindo-Charles L, Jiménez-Rodríguez J, Galarraga E, Tapia D, Mihailescu S, Hernandez-Lopez S. Presynaptic alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors increase glutamate release and serotonin neuron excitability in the dorsal raphe nucleus. *J Neurosci* 2012; 32(43): 15148–15157.
- Zhang LM, Warren RA. Muscarinic and nicotinic presynaptic modulation of EPSCs in the nucleus accumbens during postnatal development. *J Neurophysiol* 2002; 88(6): 3315–3330.
- Conner JM, Kulczycki M, Tuszynski MH. Unique contributions of distinct cholinergic projections to motor cortical plasticity and learning. *Cereb Cortex* 2010; 20(11): 2739–2748.
- Cappendijk SL, Pirvan DF, Miller GL, Rodriguez MI, Chalise P, Halquist MS, James JR. *In vivo* nicotine exposure in the zebra finch: a promising innovative animal model to use in neurodegenerative disorders related research. *Pharmacol Biochem Behav* 2010; 96(2): 152–159.
- Meng W (孟玮), Yao LH, Wang SH, Li DF. The role of

- BDNF in the regulation of birds' song behavior. *Acta Biophys Sin (生物物理学报)* 2014; 30(2): 101–109 (in Chinese with English abstract).
- 9 Brenowitz EA. Testosterone and brain-derived neurotrophic factor interactions in the avian song control system. *Neuroscience* 2013; 239: 115–123.
 - 10 Irmak SO, de Lecea L. Basal forebrain cholinergic modulation of sleep transitions. *Sleep* 2014 ; 37(12): 1941–1951.
 - 11 Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience* 1983; 10(4): 1185–1201.
 - 12 Medina L, Reiner A. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the pigeon brain. *J Comp Neurol* 1994; 342(4): 497–537.
 - 13 Ryan SM, Arnold AP. Evidence for cholinergic participation in the control of bird song: acetylcholinesterase distribution and muscarinic receptor autoradiography in the zebra finch brain. *J Comp Neurol* 1981; 202(2): 211–219.
 - 14 Sadananda M. Acetylcholinesterase in central vocal control nuclei of the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J Biosci* 2004; 29(2): 189–200.
 - 15 Zuschratter W, Scheich H. Distribution of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase in the vocal motor system of zebra finches. *Brain Res* 1990; 513(2): 193–201.
 - 16 Carrillo GD, Doupe AJ. Is the songbird Area X striatal, pallidal, or both? An anatomical study. *J Comp Neurol* 2004; 473(3): 415–437.
 - 17 Reiner A, Laverghetta AV, Meade CA, Cuthbertson SL, Bottjer SW. An immunohistochemical and pathway tracing study of the striatopallidal organization of area X in the male zebra finch. *J Comp Neurol* 2004; 469(2): 239–261.
 - 18 Fiore M, Patel SN, Alleva E, Aloe L, Clayton NS. Nerve growth factor effects on the song control system of zebra finches. *Neurosci Lett* 1997; 223(3): 161–164.
 - 19 Li R, Sakaguchi H. Cholinergic innervation of the song control nuclei by the ventral paleostriatum in the zebra finch: a double-labeling study with retrograde fluorescent tracers and choline acetyltransferase immunohistochemistry. *Brain Res* 1997; 763(2): 239–246.
 - 20 Ball GF, Nock B, Wingfield JC, McEwen BS, Balthazart J. Muscarinic cholinergic receptors in the songbird and quail brain: a quantitative autoradiographic study. *J Comp Neurol* 1990; 298(4): 431–442.
 - 21 Bernard DJ, Casto JM, Ball GF. Sexual dimorphism in the volume of song control nuclei in European starlings: assessment by a Nissl stain and autoradiography for muscarinic cholinergic receptors. *J Comp Neurol* 1993; 334(4): 559–570.
 - 22 Ball GF, Casto JM, Bernard DJ. Sex differences in the volume of avian song control nuclei: comparative studies and the issue of brain nucleus delineation. *Psychoneuroendocrinology* 1994; 19(5–7): 485–504.
 - 23 Watson JT, Adkins-Regan E, Whiting P, Lindstrom JM, Podleski TR. Autoradiographic localization of nicotinic acetylcholine receptors in the brain of the zebra finch (*Poephila guttata*). *J Comp Neurol* 1988; 274(2): 255–264.
 - 24 Lovell PV, Clayton DF, Replogle KL, Mello CV. Birdsong “transcriptomics”: neurochemical specializations of the oscine song system. *PLoS One* 2008; 3(10): e3440.
 - 25 Salgado-Commissariat D, Rosenfield DB, Helekar SA. Nicotine-mediated plasticity in robust nucleus of the archistriatum of the adult zebra finch. *Brain Res* 2004; 1018(1): 97–105.
 - 26 Sakaguchi H, Li R, Taniguchi I. Sex differences in the ventral paleostriatum of the zebra finch: origin of the cholinergic innervation of the song control nuclei. *Neuroreport* 2000; 11(12): 2727–2731.
 - 27 Luine V, Nottebohm F, Harding C, McEwen BS. Androgen affects cholinergic enzymes in syringeal motor neurons and muscle. *Brain Res* 1980; 192(1): 89–107.
 - 28 Brainard MS, Doupe AJ. What songbirds teach us about learning. *Nature* 2002; 417(6886): 351–358.
 - 29 Chi Z, Margoliash D. Temporal precision and temporal drift in brain and behavior of zebra finch song. *Neuron* 2001; 32(5): 899–910.
 - 30 Fee MS, Kozhevnikov AA, Hahnloser RH. Neural mechanisms of vocal sequence generation in the songbird. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1016: 153–170.
 - 31 Meng W (孟玮), Wang XD, Xiao P, Li DF. The electrophysiological properties of HVC-RA synaptic transmission in the adult zebra finch *in vivo*. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2006; 58(3): 232–236 (in Chinese with English abstract).
 - 32 Sakaguchi H, Saito N. The acetylcholine and catecholamine contents in song control nuclei of zebra finch during song ontogeny. *Brain Res Dev Brain Res* 1989; 47(2): 313–317.
 - 33 Miller-Sims VC, Bottjer SW. Development of auditory-vocal perceptual skills in songbirds. *PLoS One* 2012; 7(12): e52365.
 - 34 Mandelblat-Cerf Y, Las L, Denisenko N, Fee MS. A role for descending auditory cortical projections in songbird vocal learning. *Elife* 2014; 3. doi: 10.7554/eLife.02152.
 - 35 Nick TA. Models of vocal learning in the songbird: Historical frameworks and the stabilizing critic. *Dev Neurobiol* 2015; 75(10): 1091–1113.
 - 36 Cardin JA, Schmidt MF. Song system auditory responses are stable and highly tuned during sedation, rapidly modulated and unselective during wakefulness, and suppressed by

- arousal. *J Neurophysiol* 2003; 90(5): 2884–2899.
- 37 Schmidt MF, Konishi M. Gating of auditory responses in the vocal control system of awake songbirds. *Nat Neurosci* 1998; 1(6): 513–518.
- 38 Akutagawa E, Konishi M. Connections of thalamic modulatory centers to the vocal control system of the zebra finch. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(39): 14086–14091.
- 39 Li R, Taniguchi I, Sakaguchi H. Auditory-vocal cholinergic pathway in the songbird brain. *Can J Physiol Pharmacol* 2000; 78(12): 1072–1076.
- 40 Li R, Zuo MX, Sakaguchi H. Auditory-vocal cholinergic pathway in zebra finch brain. *Neuroreport* 1999; 10(1): 165–169.
- 41 Dave AS, Yu AC, Margoliash D. Behavioral state modulation of auditory activity in a vocal motor system. *Science* 1998; 282(5397): 2250–2254.
- 42 Nick TA, Konishi M. Dynamic control of auditory activity during sleep: correlation between song response and EEG. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(24): 14012–14016.
- 43 Rauske PL, Shea SD, Margoliash D. State and neuronal class-dependent reconfiguration in the avian song system. *J Neurophysiol* 2003; 89(3): 1688–1701.
- 44 Dave AS, Margoliash D. Song replay during sleep and computational rules for sensorimotor vocal learning. *Science* 2000; 290(5492): 812–816.
- 45 Yu AC, Margoliash D. Temporal hierarchical control of singing in birds. *Science* 1996; 273(5283): 1871–1875.
- 46 Meng W (孟玮), Gu B, Li DF. Electrophysiological properties of vocal motor pathway in telencephalon of songbirds. *Acta Biophys Sin (生物物理学报)* 2010; 26(6): 447–456 (in Chinese with English abstract).
- 47 Ball GF. Neurochemical specializations associated with vocal learning and production in songbirds and budgerigars. *Brain Behav Evol* 1994; 44(4–5): 234–246.
- 48 Appeltants D, Absil P, Balthazart J, Ball GF. Identification of the origin of catecholaminergic inputs to HVC in canaries by retrograde tract tracing combined with tyrosine hydroxylase immunocytochemistry. *J Chem Neuroanat* 2000; 18(3): 117–133.
- 49 Shea SD, Margoliash D. Basal forebrain cholinergic modulation of auditory activity in the zebra finch song system. *Neuron* 2003; 40(6): 1213–1226.
- 50 Shea SD, Koch H, Balekcaitis D, Ramirez JM, Margoliash D. Neuron-specific cholinergic modulation of a forebrain song control nucleus. *J Neurophysiol* 2010; 103(2): 733–745.
- 51 Fanselow EE, Richardson KA, Connors BW. Selective, state-dependent activation of somatostatin-expressing inhibitory interneurons in mouse neocortex. *J Neurophysiol* 2008; 100(5): 2640–2652.
- 52 Xiao Z, Deng PY, Yang C, Lei S. Modulation of GABAergic transmission by muscarinic receptors in the entorhinal cortex of juvenile rats. *J Neurophysiol* 2009; 102(2): 659–669.
- 53 Sakaguchi H, Saito N. Developmental change of cholinergic activity in the forebrain of the zebra finch during song learning. *Brain Res Dev Brain Res* 1991; 62(2): 223–228.
- 54 Sakaguchi H. Developmental changes in carbachol-stimulated phosphoinositide turnover in synaptoneurosomes of the robust nucleus of the archistriatum in the zebra finch. *Neuroreport* 1995; 6(14): 1901–1904.
- 55 Zhang N (张南), Wang SH, Meng W, Li DF. Effects of androgens on the long-term depression of HVC-RA pathway in adult male zebra finches. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2017; 69(4): 397–404 (in Chinese with English abstract).
- 56 Feldman DE. The spike-timing dependence of plasticity. *Neuron* 2012; 75(4): 556–571.
- 57 Meng W (孟玮), Liao SQ, Xiao P, Li DF. Long-term potentiation of avian neural system. *Adv Psycho Sci (心理科学进展)* 2005; 13(3): 333–340 (in Chinese with English abstract).
- 58 Pfenning AR, Hara E, Whitney O, Rivas MV, Wang R, Rouhac PL, Howard JT, Wirthlin M, Lovell PV, Ganapathy G, Mouncastle J, Moseley MA, Thompson JW, Soderblom EJ, Iriki A, Kato M, Gilbert MT, Zhang G, Bakken T, Bongaarts A, Bernard A, Lein E, Mello CV, Hartemink AJ, Jarvis ED. Convergent transcriptional specializations in the brains of humans and song-learning birds. *Science* 2014; 346(6215): 1256846.
- 59 Meng W, Wang SH, Li DF. Carbachol-induced reduction in the activity of adult male zebra finch RA projection neurons. *Neural Plast* 2016; 2016: 7246827.
- 60 Meng W, Wang SH, Yao LH, Zhang N, Li DF. Muscarinic receptors are responsible for the cholinergic modulation of projection neurons in the song production brain nucleus RA of zebra finches. *Front Cell Neurosci* 2017; 11: 51.
- 61 Yao LH, Huang JN, Li CH, Li HH, Yan WW, Cai ZL, Liu WX, Xiao P. Cordycepin suppresses excitatory synaptic transmission in rat hippocampal slices via a presynaptic mechanism. *CNS Neurosci Ther* 2013; 19(4): 216–221.
- 62 Stark LL, Perkel DJ. Two-stage input-specific synaptic maturation in a nucleus essential for vocal production in the zebra finch. *J Neurosci* 1999; 19(20): 9107–9116.
- 63 Surges R, Freiman TM, Feuerstein TJ. Input resistance is voltage dependent due to activation of Ih channels in rat CA1 pyramidal cells. *J Neurosci Res* 2004; 76(4): 475–480.
- 64 Spiro JE, Dalva MB, Mooney R. Long-range inhibition within the zebra finch song nucleus RA can coordinate the firing of multiple projection neurons. *J Neurophysiol* 1999; 81(6): 3007–3020.