

综述

雄激素对鸣禽斑胸草雀鸣唱行为和鸣唱控制系统的调控

李东风^{1,*}, 王松华², 孟玮²

¹华南师范大学生命科学学院, 广州 510631; ²江西科技师范大学有机化学重点实验室, 南昌 330013

摘要: 雄激素对鸣禽鸣唱具有重要影响。国内外近年研究表明, 体内雄激素水平不仅影响鸣禽外部形态, 而且影响其鸣唱行为。雄激素(包括衍生物)对鸣唱行为和鸣唱系统的影响是多方面的。本文以本研究组近年在斑胸草雀上的工作为主, 总结了雄激素对鸣禽鸣唱行为、鸣唱系统投射神经元兴奋性及突触传递的影响及其与脑内其它递质受体的相互作用。

关键词: 雄激素; 鸣唱控制系统; 鸣唱; 兴奋性; 斑胸草雀

中图分类号: Q495

Regulation of androgen on singing behavior and song control system of songbirds

LI Dong-Feng^{1,*}, WANG Song-Hua², MENG Wei²

¹School of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; ²Jiangxi Key Laboratory of Organic Chemistry, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China

Abstract: Androgen plays an important role in singing of songbirds. Recent studies have shown that androgen levels *in vivo* not only affect the external morphology of songbirds, but also affect their singing behavior. Androgens (including derivatives) affect singing behavior and singing system in many ways. Based mainly on the results from our research group in the zebra finch, this review summarizes the effects of androgen on singing behavior, excitability and synaptic transmission of projection neurons of singing system, and the interaction of androgen with other neurotransmitter receptors in the brain of songbirds.

Key words: androgen; song control system; singing; excitability; zebra finch

鸟类的鸣唱是一种习得行为。通常雄鸟羽色艳丽且善鸣, 而雌鸟羽色暗淡且很少鸣唱。这些外形与行为的差异与体内性激素密切相关。性激素是一种强大的调节剂, 因为它们通过血液循环系统, 可能作为体内任何组织的转录因子。性激素作用的这些潜在靶点表达适当的受体和/或代谢酶^[1]。通常雄鸟体内的雄激素水平远高于雌鸟, 这是决定其性二态的重要原因之一。雄激素对鸣禽鸣唱的影响一直是鸟类学家关注的问题。已有大量研究表明, 雄激素对鸣禽鸣唱的影响从幼鸟时期就已开始并持续至成年。无论幼鸟还是成鸟, 改变体内雄激素水平

直接影响鸣唱行为^[2]。

鸟类的鸣唱由脑内特定的鸣唱控制系统(song control system)所支配。鸣禽的鸣唱系统由两条通路组成。一条为高级发声中枢(higher vocal center, HVC)-弓状皮质核(robust nucleus of the arcopallium, RA)-舌下神经气管鸣管亚核(tracheosyringeal part of hypoglossal nucleus, nXIIts), 另一条为HVC-X区(X area)-丘脑背外侧核内侧部(the dorsolateral part of the medial thalamus, DLM)-巢皮质前部巨细胞核外侧部(the lateral magnocellular nucleus of the anterior neostriatum, LMAN)-RA。前者被称为发声运动通路

Received 2019-08-01 Accepted 2019-12-25

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 31472002, 31860605, 31660292).

*Corresponding author. Tel: +86-20-85211372; Fax: +86-20-85211372; E-mail: dfliswx@126.com

(vocal motor pathway, VMP), 此条通路与人类的运动皮层 - 脑干通路相似^[3]。后者被称为前端脑通路 (anterior forebrain pathway, AFP), 与人类的皮层 - 基底神经节 - 丘脑 - 皮层环路相似^[4]。它们的共同起始端为 HVC, RA 是两条通路的汇聚点。VMP 决定鸣唱的产生, AFP 与幼年鸣禽的鸣唱学习以及成年鸣禽的鸣唱维持相关^[5-7]。目前已发现前脑所有与鸣唱相关的核团均含有雄激素受体, 而 HVC 和 X 区则含有雌激素受体^[8,9]。

鸣禽体内的雄激素主要源自睾丸分泌的睾酮。雄激素是由胆固醇合成而来, 通过一系列生物化学反应形成睾酮, 睾酮经血液循环到达脑, 在 HVC 经 5 α -还原酶的作用可被转化为 5 α -双氢睾酮 (5 α -dihydrotestosterone, 5 α -DHT), 后者是睾酮在脑内的主要形式。然后在芳香化酶的作用下形成雌二醇 (E2)^[10]。性激素可以通过两种途径影响神经元的活动: 一种是性激素透过细胞膜, 与细胞核的特异性激素受体结合后进入细胞核, 影响基因的表达, 这种作用相对缓慢; 另一种是类似神经递质快速改变细胞膜对神经递质及其释放的兴奋性和敏感性, 雌激素有时会以这种方式起作用^[11]。

斑胸草雀易于繁殖, 雄鸟善于鸣唱, 雌鸟很少鸣唱。这样就可以直接分析性激素和鸣唱学习的关系。因此, 斑胸草雀鸣唱系统可以作为研究激素对鸣唱相关的感觉和运动过程的影响及行为性别二态性机制的理想动物模型^[12]。

在斑胸草雀鸣唱核团中, 雄鸟的鸣唱核团 (HVC, RA 和 nXIIts) 体积普遍大于雌鸟, 而雌鸟的 X 区缺失^[13]。相对于雌鸟, 雄鸟具有更多的 HVC、RA 神经元^[14]。雄鸟具有更加致密的 HVC-RA 神经连接。更重要的是, 雌鸟在发育过程中丢失了大量 LMAN 投射到 RA 的神经元^[15]。雄鸟 RA 神经元具有更多的树突棘^[16], 这为 RA 核团整合两条通路提供了神经结构基础。雄鸟 HVC、RA 和 X 区相对于雌鸟表达更多的雄激素受体^[17-19]。本研究组的研究表明, 雄鸟 RA 投射神经元相对于雌鸟具有更高的自发和诱发动作电位发放频率^[20]。这些可能是雄性斑胸草雀善于鸣唱而雌性斑胸草雀不善鸣唱的原因。

雄鸟去势是一种简便的降低血浆睾酮的方式。去势后鸣唱发生改变。而去势后再埋植睾酮可以观察到鸣唱的恢复。雌鸟埋植睾酮可以增加其体内雄激素水平, 鸣唱行为也有所改变。因此, 本研究组近年来围绕斑胸草雀去势和埋植睾酮, 探讨了雄激

素对核团体积、神经元数目和鸣唱的影响, 鸣唱系统相关核团的电生理机制, 以及雄激素与脑内其它递质受体的相互作用。

1 雄激素对斑胸草雀鸣唱行为的影响

自然界的日照周期变化导致体内雄激素水平的季节性波动。在季节性繁殖的鸣禽中, 如金丝雀, 鸣唱行为主要受睾酮及其代谢产物的控制。秋季的短日照打破了光折变, 而春季的短日照则通过光周期和激素机制激活了鸣唱^[21]。研究表明, 长日照同时埋植睾酮, 衡量鸣唱稳定性的几个参数都发生改变, 即鸣唱的相似度升高, 音节熵值降低, 基频、调频的变异系数变小^[22], 提示雄激素有助于稳定季节性繁殖鸣禽的鸣唱结构。另有实验表明, HVC、RA 和 X 区在繁殖期体积增加^[23,24], 且 HVC 中的神经元胞体体积和数目均增加, 而 RA 只有神经元胞体体积增加^[25,26]。本研究组前期研究结果表明, 成年雌性斑胸草雀埋植外源性睾酮后, HVC、RA 核团体积趋于雄性化^[27], 进而对鸣唱带来影响。

在斑胸草雀幼年期, 体内埋植睾酮可以使鸣唱快速稳定^[28], 表明雄激素对幼年斑胸草雀鸣唱稳定发挥关键作用。在成年期, 斑胸草雀 HVC 核团体积不变, 但是随着年龄增长, 核团内神经元的密度逐渐增加, 神经元密度的增加主要是由于 HVC 中投射到 RA 的神经元增加, 这种增加与习得性鸣唱稳定产生有关^[29]。

本研究组研究结果显示, 去势组 (去势 30 天) 与对照组相比, 血浆睾酮水平显著降低, 而去势 + 埋植睾酮组与对照组相比, 血浆睾酮水平明显提高。声谱实验表明, 去势组与对照组相比, 鸣唱主题曲相似性降低并且音节熵值升高, 而去势 + 埋植睾酮组与对照组相比, 结果正好相反。这表明雄激素可以提高成年雄性斑胸草雀的鸣唱稳定性^[2,30]。

去势引起鸣唱结构和稳定性变化。去势后成年雄鸟鸣唱空间结构显著改变, 平均频率和峰频率下降, 主题曲相似度降低, 鸣唱稳定性下降, 而损毁 LMAN 后, 平均频率、峰频率、主题曲相似度均恢复至去势前水平, 说明损毁 LMAN 可以逆转鸣唱的变化, 表明 LMAN 对雄激素调节鸣唱变化至关重要^[31]。

2 雄激素对鸣唱系统投射神经元兴奋性和突触传递的影响

本研究组近年来利用去势和离体及在体电生理

技术, 分别对不同性别的成年斑胸草雀的鸣唱系统核团 HVC、RA、LMAN、X 区的神经元兴奋性及突触传递进行了检测和观察, 目的是了解这些核团形态和生理功能的改变对鸣曲的影响机制。

根据 HVC 内神经元细胞形态和电生理特性的不同, 可将其分为 3 类神经元 (2 类投射神经元和 1 类中间神经元): HVC 投射到 RA 的神经元, 简称 HVC_{RA} 神经元; HVC 投射到 X 区的神经元, 简称 HVC_X 神经元; 内在的抑制性 HVC 中间神经元, 简称 HVC_{INT} 神经元^[32-34]。

鸣唱控制系统的高级发声中枢 HVC 是 VMP 和 AFP 的始端, 是发声行为的起始控制脑区, 亦可接受听觉信号的输入及反馈, 是鸣禽鸣唱调控最为重要的脑区。以往研究表明, 雄激素及其代谢产物对鸣禽鸣唱控制有重要作用。去势显著改变鸣禽体内激素含量, 进而影响鸣禽鸣曲稳定性, 但其具体机制尚未阐明。本研究组运用全细胞膜片钳记录法, 在离体细胞水平研究了去势引起的雄激素水平降低对 HVC 不同类型神经元电生理特性的影响。结果显示, 去势组与对照组相比, 投射神经元 HVC_{RA}、HVC_X 膜输入电阻减小, 膜时间常数降低, 动作电位后超极化幅值升高及达到峰值时间延长, 表明雄激素可以提高两类投射神经元的兴奋性^[35]。

RA 为 HVC 支配核团, 对 HVC 兴奋性的影响会对 HVC-RA 突触传递产生何种作用值得关注。采用全细胞电压钳记录法记录了雄鸟和雌鸟 RA 投射神经元的自发兴奋性突触后电流 (spontaneous excitatory postsynaptic currents, sEPSCs) 和微型兴奋性突触后电流 (miniature excitatory postsynaptic currents, mEPSCs), 结果显示, 雄鸟 sEPSCs/mEPSCs 的平均频率和振幅高于雌鸟, 雄鸟 sEPSCs/mEPSCs 的半宽度和衰减时间均大于雌鸟^[36]。这些结果表明, RA 投射神经元存在兴奋性突触传递的性二态性, 并且雄鸟接受更多的兴奋性突触联系。这些发现有助于进一步阐明成年斑胸草雀鸣唱过程性别差异的神经机制。

RA 核团不仅接受来自 HVC 和 LMAN 的兴奋性突触传入, 内部也存在抑制性局部回路。利用全细胞电压钳记录了雄鸟和雌鸟的自发抑制性突触后电流 (spontaneous inhibitory postsynaptic currents, sIPSCs) 和微小抑制性突触后电流 (miniature inhibitory postsynaptic currents, mIPSCs), 结果显示雄鸟的平均频率和振幅均高于雌鸟, 表明抑制性突触传递在

性别上也存在差异^[37]。

离体膜片钳的结果并不能完全说明去势引起的兴奋性和突触传递机制, 而在体实验可以进一步补充完善。本研究组应用在体电生理方法观察了去势前后成年雄性斑胸草雀 HVC-RA 突触的可塑性变化, 结果表明低频刺激可引起 HVC-RA 突触群体峰电位幅度的短时程抑制 (short-term depression, STD), 高频刺激可引起群体峰电位幅度的长时程抑制 (long-term depression, LTD)。而去势后 30 天, 鸣曲稳定时再给予同样的条件刺激, 无论低频或高频刺激, HVC-RA 突触的 STD 和 LTD 现象同时消失^[38], 进而为去势影响 HVC-RA 突触传递提供了新的证据。

接下来, 将成年雄性斑胸草雀分为对照组、去势组与去势 + 埋植睾酮组, 分别记录高频刺激 (400 Hz, 2 s) 后 HVC-RA 通路 LTD 的变化以及双脉冲易化效应。结果显示, 高频刺激 HVC, 在对照组可以记录到 LTD 现象; 去势组中仅有 STD 现象; 去势 + 埋植睾酮组则恢复 LTD 现象。双脉冲易化在去势组不明显, 而对照组和去势 + 埋植睾酮组易化率明显高于去势组。以上结果提示, 雄激素可能通过影响成年雄性斑胸草雀 HVC-RA 通路的 LTD 水平来维持鸣曲稳定性, 并对该通路的 STD 有一定的调节作用^[39]。

HVC 的另一投射核团是 X 区。X 区内棘神经元 (spiny neurons, SN) 接受 HVC 和 LMAN 谷氨酸能投射, 并发出 GABA 能抑制性信息至无棘快发放神经元 (aspiny, fast-firing neurons, AF), SN 与 AF 这两类神经元形成了 X 区内部的突触联系, 最终由 AF 神经元发出信息传递至丘脑 DLM。本研究组采用膜片钳电生理技术记录分析 X 区神经元电生理特性, 结果表明成年雄性斑胸草雀去势提高了 SN 神经元兴奋性, 降低了 AF 神经元兴奋性^[40]。

AFP 通路的最后一级核团是 LMAN, 也是最终影响 RA 核团的另一通路。本研究组利用膜片钳技术观察去势前后 LMAN 的电生理活动, 进一步探究 AFP 通路和鸣曲的关系。去势后, LMAN 神经元的膜时间常数变短, 膜电阻减小, 动作电位潜伏期缩短, 动作电位后超极化幅值降低, 同时动作电位发放频率增加。以上结果提示, 去势后 LMAN 神经元兴奋性增强, 使 AFP 通路更加活跃, 去势引起的鸣曲不稳定可能是 AFP 通路活动增强所致^[41]。

以上研究大部分工作集中在雄鸟, 那么雌鸟埋

植睾酮后对 RA 会产生什么影响值得探索。本研究组又利用膜片钳技术探究了雌鸟埋植睾酮后 RA 核团投射神经元的电生理特性。结果显示, 埋植组与正常雌鸟组相比, 动作电位半宽显著减小, 后超极化达峰值时间极显著缩短, 膜输入阻抗显著减小, 膜电容极显著增大, 说明埋植睾酮后 RA 核团投射神经元的兴奋性提高, 趋于雄性化^[42]。基于此我们推测, 雄激素在一定程度上提高了 RA 核团投射神经元兴奋性, 进而使其鸣唱趋于雄性化。

3 雄激素与脑内其它递质受体的相互作用

雄激素可以促进鸣禽 HVC 核团内细胞体积变大和新生神经元的生成, 具体机制是睾酮首先引起 HVC 核团内血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 升高, 导致血管内皮细胞加速分裂, VEGF 与其受体 VEGFR2 的结合能诱导 HVC 毛细血管进行有丝分裂, 另一方面内皮细胞在睾酮的诱导下能分泌脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF), 而 BDNF 能起到支持营养并整合从端脑室带区迁移而来的新生神经元, 最终促进血管生成和新生神经元的生成和募集^[43, 44]。在季节性繁殖鸣禽中, 繁殖季节 VEGF 和 BDNF 表达上调^[45]。向 HVC 灌注 BDNF, BDNF 诱导的 HVC 内增加的新生神经元数目和埋植睾酮增加的数目相似^[46], 进一步表明了雄激素通过增加 VEGF 和 BDNF 引起 HVC 神经元数目增加。另有研究表明, 睾酮及其代谢物作用于 HVC 足以引起传入核团 RA 和 X 区的体积增长, 在此过程中, HVC 可能释放神经营养因子到 RA 和 X 区。为了验证这种假设, Wissman 等将 BDNF 灌注到 RA, 结果显示 BDNF 可以引起 RA 胞体体积和神经元密度的增加, 表明 RA 的体积增大是由于 HVC 释放 BDNF 通过跨突触作用引起的^[47]。将繁殖期成年白冠雀去势, 至非繁殖期发现 HVC、RA 和 X 区体积逐渐退化^[48]。将睾酮灌注 HVC 附近阻止了 HVC 体积退化, 同时也阻止了 RA 和 X 区的体积退化。因此, 睾酮可以局部作用于脑区起保护作用 and 通过跨突触作用来阻止传出核团的退化^[25]。在雄性白冠雀中, 鸣唱控制系统中 HVC 神经元的缺失是由细胞凋亡蛋白酶依赖的程序性细胞死亡所介导的。在非繁殖期, HVC 神经元对激活的 Caspase-3 呈免疫阳性, 而且向 HVC 附近灌注细胞凋亡蛋白酶抑制剂阻止了 HVC 核团退化^[49–51]。另有研究表明, 促进程序性细胞死亡的基因在繁殖条件时受到抑制, 抑制程序性细胞

死亡的基因在繁殖期上调^[45], 表明雄激素升高减少了程序性细胞死亡的数目而使 HVC 核团体积变大。

本研究组对成年雄性斑胸草雀去势和埋植睾酮, 用免疫组织化学方法检测雄激素对鸣唱系统 NMDA 受体 NR2B 蛋白表达的影响。结果显示, 去势后血浆雄激素水平显著降低, HVC、RA、LMAN 核团中 NR2B 表达显著增加。相反, 去势后埋植睾酮使体内雄激素水平比正常值显著增加, LMAN 核团 NR2B 表达显著降低, 在 HVC 和 RA 中也呈现下降趋势, 提示雄激素可以调节成年鸣禽鸣唱系统部分核团 NR2B 表达, 从而引起成年鸣禽鸣唱和神经可塑性变化^[52]。

去势后各核团多巴胺 D1 受体 (dopamine D1 receptor, D1R) 表达及密度都有不同程度的变化。在鸣禽中, D1R 的激活可降低 X 区棘神经元中 NMDA 受体介导的兴奋性突触后电流 (excitatory postsynaptic currents, EPSCs)^[53]。X 区棘神经元上诱导的 LTP 也依赖于 D1R 的激活^[54]。本研究组前期实验结果显示, D1R 激活可以抑制 RA 投射神经元的 mEPSCs 频率。同时, 去势也降低了 RA 投射神经元的 mEPSCs 频率, 并使 D1R 在 RA、LMAN 中的表达量提升。因此我们推测, 去势引起的 mEPSCs 频率降低, 可能由 D1R 介导。组织学研究证实, HVC-RA 和 LMAN-RA 两条通路都含有 D1R^[55]。D1R 与雄激素的相互作用及其对突触传递效能的影响, 有待进一步研究。

4 小结

近年来, 本研究组通过去势、埋植睾酮等方法对斑胸草雀鸣曲变化, 主要发声核团的投射神经元电生理指标以及相关递质受体的性别差异进行了观察和检测, 为雄激素对斑胸草雀鸣唱行为和发声系统的影响机制提供了新的证据。尽管已经取得一些进展, 揭开了“冰山”一角, 然而雄激素对鸣禽的影响机制研究仍有很多工作要做, 如性激素的膜受体, 与其它递质受体的相互作用机制, 相关基因的作用等尚待更多的实验加以验证和阐明。

参考文献

- 1 Ball GF, Madison FN, Balthazart J, Alward BA. How does testosterone act to regulate a multifaceted adaptive response? Lessons from studies of the avian song system. *J Neuroendocrinol* 2019; e12793. doi: 10.1111/jne.12793.
- 2 Wang SH, Liao CS, Li FL, Liu SY, Meng W, Li DF. Castration modulates singing patterns and electrophysiological

- properties of RA projection neurons in adult male zebra finches. *PeerJ* 2014; 2: e352.
- 3 Nottebohm F. The neural basis of birdsong. *PLoS Biol* 2005; 3: e164.
 - 4 Petkov CI, Jarvis ED. Birds, primates, and spoken language origins: behavioral phenotypes and neurobiological substrates. *Front Evol Neurosci* 2012; 4: 1–24.
 - 5 Rouse ML Jr, Ball GF. Lesions targeted to the anterior forebrain disrupt vocal variability associated with testosterone-induced sensorimotor song development in adult female canaries, *Serinus canaria*. *Dev Neurobiol* 2016; 76: 3–18.
 - 6 Scott LL, Nordeen EJ, Nordeen KW. LMAN lesions prevent song degradation after deafening without reducing HVC neuron addition. *Dev Neurobiol* 2007; 67: 1407–1418.
 - 7 Kao MH, Doupe AJ, Brainard MS. Contributions of an avian basal ganglia-forebrain circuit to real-time modulation of song. *Nature* 2005; 433: 638–643.
 - 8 Meitzen J, Moore IT, Lentet K, Brenowitz EA, Perkel DJ. Steroid hormones act transsynaptically within the forebrain to regulate neuronal phenotype and song stereotypy. *J Neurosci* 2007; 27(44): 12045–12057.
 - 9 Metzdorf R, Gahr M, Fusani L. Distribution of aromatase, estrogen receptor, and androgen receptor mRNA in the forebrain of songbirds and nonsongbirds. *J Comp Neurol* 1999; 407: 115–129.
 - 10 Tam H, Schlinger BA. Activities of 3beta-HSD and aromatase in slices of developing and adult zebra finch brain. *Gen Comp Endocrinol* 2007; 150: 26–33.
 - 11 Balthazart J, Ball GF. Is brain estradiol a hormone or a neurotransmitter? *Trends Neurosci* 2006; 2(5): 241–249.
 - 12 Friedrich SR, Lovell PV, Kaser TM, Mello CV. Exploring the molecular basis of neuronal excitability in a vocal learner. *BMC Genomics* 2019; 20(1): 629. doi: 10.1186/s12864-019-5871-2.
 - 13 Wade J, Arnold AP. Sexual differentiation of the zebra finch song system. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1016: 540–559.
 - 14 Nottebohm F, Arnold AP. Sexual dimorphism in vocal control areas of the songbird brain. *Science* 1976; 194: 211–213.
 - 15 Konishi M, Akutagawa E. Neuronal growth, atrophy and death in a sexually dimorphic song nucleus in the zebra finch brain. *Nature* 1985; 315: 145–147.
 - 16 Gurney ME. Hormonal control of cell form and number in the zebra finch song system. *J Neurosci* 1981; 1: 658–673.
 - 17 Arnold AP. Quantitative analysis of sex differences in hormone accumulation in the zebra finch brain: methodological and theoretical issues. *J Comp Neurol* 1980; 189: 421–436.
 - 18 Gahr M, Metzdorf R. The sexually dimorphic expression of androgen receptors in the song nucleus hyperstriatalis ventrale pars caudale of the zebra finch develops independently of gonadal steroids. *J Neurosci* 1999; 19: 2628–2636.
 - 19 Kim YH, Perlman WR, Arnold AP. Expression of androgen receptor mRNA in zebra finch song system: developmental regulation by estrogen. *J Comp Neurol* 2004; 469: 535–547.
 - 20 Fan BQ (范博强), Hou GQ, Pan X, Li DF. Sexual dimorphism of the electrophysiological properties of projection neurons in the robust nucleus of the arcopallium in adult zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *J South China Normal Univ Nat Sci Ed (华南师范大学学报自然科学版)* 2012; 1: 109–112 (in Chinese with English abstract).
 - 21 Shevchouk OT, Ghorbanpoor S, Smith E, Liere P, Schumacher M, Ball GF, Cornil CA, Balthazart J. Behavioral evidence for sex steroids hypersensitivity in castrated male canaries. *Horm Behav* 2018; 103: 80–96.
 - 22 Liu XL, Hou GQ, Liao SQ, Li DF. Sexual dimorphism of the electrophysiological properties of the projection neurons in the robust nucleus of the arcopallium in adult zebra finches. *Neurosci Bull* 2010; 26: 147–152.
 - 23 Meitzen J, Thompson CK. Seasonal-like growth and regression of the avian song control system: neural and behavioral plasticity in adult male Gambel's white-crowned sparrows. *Gen Comp Endocrinol* 2008; 157: 259–265.
 - 24 Balthazart J, Charlier TD, Barker JM, Yamamura T, Ball GF. Sex steroid-induced neuroplasticity and behavioral activation in birds. *Eur J Neurosci* 2010; 32: 2116–2132.
 - 25 Thompson CK, Brenowitz EA. Neuroprotective effects of testosterone in a naturally occurring model of neurodegeneration in the adult avian song control system. *J Comp Neurol* 2010; 518: 4760–4770.
 - 26 Brenowitz EA, Baptista LF, Lent K, Wingfield JC. Seasonal plasticity of the song control system in wild Nuttall's white-crowned sparrows. *J Neurobiol* 1998; 34: 69–82.
 - 27 Li DF (李东风), Xu XB, Liang CW. The effect of androgen on the volume of song control nuclei in adult female zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *J Liaoning Normal Univ Nat Sci Ed (辽宁师范大学学报自然科学版)* 2018; 41(2): 228–232 (in Chinese with English abstract).
 - 28 Sizemore M, Perkel DJ. Premotor synaptic plasticity limited to the critical period for song learning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 17492–17497.
 - 29 Walton C, Pariser E, Nottebohm F. The zebra finch paradox: song is little changed, but number of neurons doubles. *J Neurosci* 2012; 32: 761–774.
 - 30 Li DF (李东风), Liang CW, Xu XB. Effect on castration on song in adult male zebra finches. *J Liaoning Normal Univ Nat Sci Ed (辽宁师范大学学报自然科学版)* 2017; 40(4): 508–512 (in Chinese with English abstract).
 - 31 Zhang JC (张近春), Wang SH, Li DF. Castrating-induced song change in adult male zebra finch (*Taeniopygia guttata*)

- is reversed by LMAN lesion. *J South China Normal Univ Nat Sci Ed (华南师范大学学报自然科学版)* 2016; 48(5): 58–62 (in Chinese with English abstract).
- 32 Dutar P, Vu HM, Perkel DJ. Multiple cell types distinguished by physiological, pharmacological, and anatomic properties in nucleus HVC of the adult zebra finch. *J Neurophysiol* 1998; 80: 1828–1838.
- 33 Kubota M, Taniguchi I. Electrophysiological characteristics of classes of neuron in the HVC of the zebra finch. *J Neurophysiol* 1998; 80: 914–923.
- 34 Daou A, Ross MT, Johnson F, Hyson RL, Bertram R. Electrophysiological characterization and computational models of HVC neurons in the zebra finch. *J Neurophysiol* 2013; 110: 1227–1245.
- 35 Zhou WL (周文丽), Xu XB, Li DF. Castration modulated electrophysiological properties of HVC neurons in adult male zebra finches. *J South China Normal Univ Nat Sci Ed (华南师范大学学报自然科学版)* 2019; 51(1): 69–75 (in Chinese with English abstract).
- 36 Wang SH, Meng W, Liu SY, Liao CS, Huang QY, Li DF. Sex differences of excitatory synaptic transmission in RA projection neurons of adult zebra finches. *Neurosci Lett* 2014; 582: 75–80.
- 37 Wang SH, Sun YL, Wang QQ, Qiu YQ, Yao LH, Gong YC, Meng W, Li DF. Sexual dimorphism of inhibitory synaptic transmission in RA projection neurons of songbirds. *Neurosci Lett* 2019; 709: 134377.
- 38 Chen XX (陈小鑫), Wang SH, Li DF. The effect of castration on the synaptic plasticity of HVC-RA in adult male zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J South China Normal Univ Nat Sci Ed (华南师范大学学报自然科学版)* 2016; 48(2): 61–66 (in Chinese with English abstract).
- 39 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).
- 40 Li DF (李东风), Wang TQ. Effect of castration on electrophysiological properties of area X neurons in male zebra finches. *J Liaoning Normal Univ Nat Sci Ed (辽宁师范大学学报自然科学版)* 2018; 41(3): 366–372 (in Chinese with English abstract).
- 41 Wu L (吴丽), Li DF. Effect of castration on electrophysiological properties of LMAN neurons in adult male zebra finches. *J South China Normal Univ Nat Sci Ed (华南师范大学学报自然科学版)* 2019; 51(3): 57–61 (in Chinese with English abstract).
- 42 Li DF (李东风), Cui T. Effect of testosterone on electrophysiological properties of RA projection neurons in adult female zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *J Liaoning Normal Univ Nat Sci Ed (辽宁师范大学学报自然科学版)* 2019; 42(3): 373–377 (in Chinese with English abstract).
- 43 Chen Z, Ye R, Goldman SA. Testosterone modulation of angiogenesis and neurogenesis in the adult songbird brain. *Neuroscience* 2013; 239: 139–148.
- 44 Goldman SA, Chen Z. Perivascular instruction of cell genesis and fate in the adult brain. *Nat Neurosci* 2011; 14: 1382–1389.
- 45 Thompson CK, Meitzen J, Replogle K, Drnevich J, Lent KL, Wissman AM, Farin FM, Bammler TK, Clayton DF, Perkel DJ, Brenowitz EA. Seasonal changes in patterns of gene expression in avian song control brain regions. *PLoS One* 2012; 7: e35119.
- 46 Brenowitz EA. Testosterone and brain-derived neurotrophic factor interactions in the avian song control system. *Neuroscience* 2013; 239: 115–123.
- 47 Wissman AM, Brenowitz EA. The role of neurotrophins in the seasonal-like growth of the avian song control system. *J Neurosci* 2009; 29: 6461–6471.
- 48 Thompson CK, Bentley GE, Brenowitz EA. Rapid seasonal-like regression of the adult avian song control system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15520–15525.
- 49 Thompson CK. Cell death and the song control system: a model for how sex steroid hormones regulate naturally-occurring neurodegeneration. *Dev Growth Differ* 2011; 53: 213–224.
- 50 Thompson CK, Brenowitz EA. Caspase inhibitor infusion protects an avian song control circuit from seasonal-like neurodegeneration. *J Neurosci* 2008; 28: 7130–7136.
- 51 Thompson CK, Brenowitz EA. Neurogenesis in an adult avian song nucleus is reduced by decreasing caspase-mediated apoptosis. *J Neurosci* 2009; 29: 4586–4591.
- 52 Li DF (李东风), Ke J. The effect of androgens on the expression of NR2B in song control system in adult male zebra finches. *J Liaoning Normal Univ Nat Sci Ed (辽宁师范大学学报自然科学版)* 2016; 39(1): 88–92 (in Chinese with English abstract).
- 53 Ding L, Perkel DJ, Farries MA. Presynaptic depression of glutamatergic synaptic transmission by D1-like dopamine receptor activation in the avian basal ganglia. *J Neurosci* 2003; 23: 6086–6095.
- 54 Ding L, Perkel DJ. Long-term potentiation in an avian basal ganglia nucleus essential for vocal learning. *J Neurosci* 2004; 24: 488–494.
- 55 Wang S, Liao C, Meng W, Huang Q, Li D. Activation of D1-like dopamine receptors increases the NMDA-induced gain modulation through a PKA-dependent pathway in the premotor nucleus of adult zebra finches. *Neurosci Lett* 2015; 589: 37–41.