

# 刺激大鼠杏仁外侧核对皮层 A I 区 ON-OFF 神经元 反应及调谐曲线的影响

何德富, 陈福俊, 刘家英, 周绍慈

(华东师范大学生命科学学院, 上海市脑功能基因组学重点实验室, 上海 200062)

**摘要:** 在 30 只氨基甲酸酯麻醉的 SD 大鼠上记录神经元单位放电, 观察短纯音诱发的皮层 A I 区神经元 ON-OFF 反应的特性及电刺激杏仁外侧核(lateral amygdaloid nucleus, LA)对 ON-OFF 反应以及调谐曲线的影响。实验证实, A I 区神经元 ON-OFF 反应的模式与纯音刺激的强度、频率及作用时程有关; 刺激 LA 可以抑制 ON-OFF 反应的放电频数, 使反应的阈值升高, 或使反应放电构型发生变化; 此外, 刺激 LA 能使 ON-OFF 神经元的调谐曲线变窄,  $Q_{10}$  数值增大。研究结果不仅表明 ON-OFF 神经元能对纯音刺激的时程、强度和频率等多种信息进行编码, 而且还证明杏仁外侧核可以在皮层水平参与听觉信息的调制, 削弱或衰减某些听觉信息, 导致整个调谐曲线上移变窄, 从而提高 A I 区 ON-OFF 神经元的频率选择性能, 有利于检测外界嘈杂环境中特定的听觉信息。

**关键词:** 杏仁外侧核; 皮层 A I 区; ON-OFF 反应; 调谐曲线

**中图分类号:** Q426 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6737(2003)01-0023-07

杏仁复合体是前脑边缘系统的关键结构, 近年来的研究表明杏仁体与感觉、情绪和记忆关系密切, 因而受到神经科学界的极大关注<sup>[1-3]</sup>。一方面, 了 LeDoux 等<sup>[4,5]</sup>发现, 杏仁复合体接受丘脑和皮层的多种感觉信息的输入并介导恐惧等情绪活动。另一方面, 周绍慈等<sup>[6-8]</sup>研究证明杏仁复合体参与了向中听觉和视觉信息的调制。已有的边缘系统与听觉关系的研究表明, 杏仁复合体的活动可以抑制短声诱发的内膝体及听皮层神经元的声反应, 表现为使声诱发电位波幅降低和使神经元的放电频数减少<sup>[6]</sup>, 但从声学角度考虑, 短声包括约在 30~150 Hz 之间的宽广和复杂的声频, 因而杏仁复合体调制听觉信息上传的影响的生理学意义还需进一步研究。本文通过观察杏仁外侧核对短纯音引起的皮层 A I 区 ON-OFF 听觉神经元的抑制效应及其调谐曲线影响, 研究 LA 在皮层水平调控听觉信息的方式, 从而探讨这种影响的听觉生理学意义。

## 1 材料和方法

将体重 220~240 g 的雄性 SD 大鼠 30 只 (购自中国科学院上海实验动物中心), 按体重腹腔注

射 25%氨基甲酸酯(5 ml/kg)麻醉, 完成气管插管、开颅等手术, 静息 3~4 h 后开始电生理记录。颅骨开口处用 4%的琼脂封闭, 动物被固定在立体定位仪上, 参照 Zilles<sup>[9]</sup>图谱确定皮层 A I 区的位置, 利用微电极操纵仪将记录电极插入 A I 区皮层, 电极插入方向与 A I 区皮层垂直, 深度不超过 1.5 mm。实验中, 给动物腹腔注射 0.5%的三碘季胺酚溶液(0.1~0.3 ml/h), 使动物处于麻痹状态, 并给予人工呼吸。

声刺激由 XD7 型信号发生器输出、经 dB 衰减器后, 由日本产 SONY(MOR-E741)耳机输入对侧耳道, 同时用棉球堵塞记录侧外耳道。纯音时程 100~200 ms, 升降时为 5 ms, 频率在 20 Hz~100 kHz 范围可调。实验前用 JS-1 型精密声级计对发声系统做校正。

使用外径为 0.3 mm 的不锈钢双芯同心圆电极作为杏仁外侧核的刺激电极, 两芯间距 0.15 mm。

收稿日期: 2002-01-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(39570245、39970243)

作者简介: 何德富, 1969 年生, 博士研究生, 电话: (021) 62233767, E-mail: defuhe@citiz.net

由 IS-2 型智能刺激器触发 SEN-3201 刺激器, 经 SS-102J 型隔离器恒流输出强度为 0.1~0.2 mA、脉宽为 0.2 ms 的单个矩形方波脉冲。

采用常规电生理方法记录 A I 区神经元放电。玻璃微电极尖端直径 1~2  $\mu\text{m}$ , 内灌以 0.5 mol/L 醋酸钠配制的固绿饱和溶液, 电极阻抗为 5~10 M $\Omega$ 。记录信号经 axon 公司产 patch1D 型放大器放大后, 输入 SR-46 型双线示波器, 并由此输入监听装置及 SMUP-PC 生物信号处理系统, 对信号进行直方图叠加(bin 宽为 2 ms 或 1 ms, 叠加次数为 30 次)。

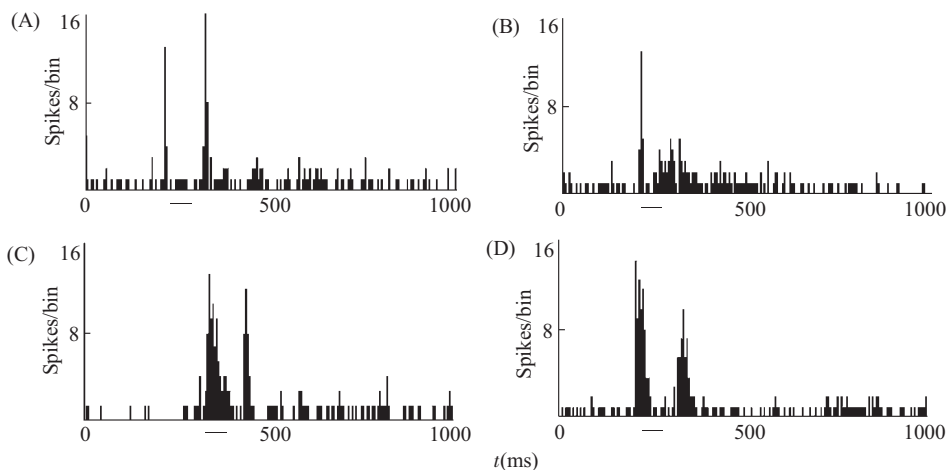
实验结束后, 经杏仁外侧核刺激电极通以强度为 1~1.5 mA 的阳极直流电, 历时 30 s 烧灼。记录电极通以强度为 10  $\mu\text{A}$  的直流电, 电泳固绿溶液 20~30 min, 常规灌流、固定、冰冻切片, 以便鉴定刺激电极及记录电极尖端所在位置。

## 2 结 果

### 2.1 大鼠皮层 A I 区听觉神经元 ON-OFF 反应的

### 形式

实验中共记录 130 个对短纯音有反应的皮层 A I 区听觉神经元, 其中表现为 ON-OFF 反应的神经元共 48 个。根据 ON 及 OFF 两个不同成分的放电特性, ON-OFF 反应的形式可分为: (1) 单脉冲的 ON-OFF 反应, 在 23 例神经元上观察到这种反应形式, 这类神经元的 ON 反应和 OFF 反应的放电频数较少, 一般是以单个或两个脉冲出现(图 1A); (2) 单脉冲的 ON 反应成分和爆发式的 OFF 反应成分, 在 9 例神经元上观察到这种反应形式, 这类神经元对 ON 反应为单个或两个少数脉冲放电, 而对 OFF 反应为一簇密集的动作电位发放(图 1B); (3) 爆发式的 ON 反应成分和单脉冲的 OFF 反应成分, 在 4 例神经元上观察到这种反应型式, 这类神经元对 ON 反应表现为一簇密集的脉冲放电, 对 OFF 反应则表现为单个或少数几个脉冲放电(图 1C); (4) 爆发式的 ON-OFF 反应, 在 12 例神经元上观察到这种反应形式, 这类神经元对声音刺激的 ON 反应和 OFF 反应均为簇脉冲发放, 表现出放电密集的形式(图 1D)。



**Fig.1** ON-OFF response patterns of auditory neurons in A I of the rat. (A) ON-OFF response with single discharge for ON- and OFF- responses (Tone burst: 56 dB, 5.7 kHz); (B) ON-OFF response with single discharge for ON-response and a train of burst for OFF-response (Tone burst: 61 dB, 14 kHz); (C) ON-OFF response with a train of burst for ON-response and single discharge for OFF-response (Tone burst: 52 dB, 9 kHz); (D) ON-OFF response in a form of a train of burst for ON-response and OFF-response (Tone burst: 66dB, 23kHz). —: Time of sound stimulation. (Post-stimulus-time-histograms: 30 stimulation repetition, 1 bin=2 ms)

### 2.2 纯音刺激参数对大鼠皮层 A I 区听觉神经元 ON-OFF 反应的影响

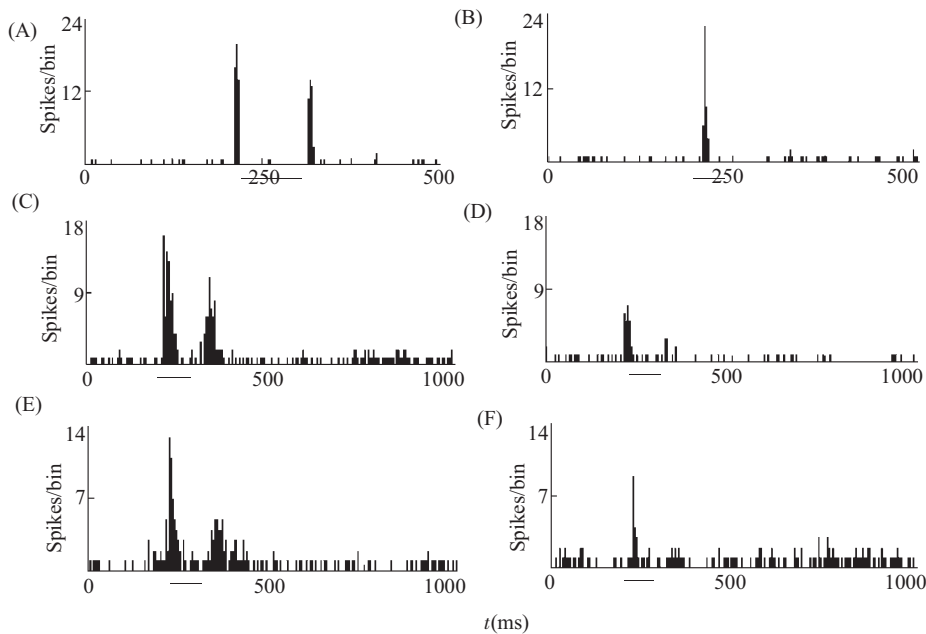
实验中, 我们在 A I 区 27 个由短纯音诱发的 ON-OFF 反应神经元上考察了不同声刺激参数对反

应的影响, 发现这些神经元的放电构型和放电频数随着声刺激时程、强度和频率的变化而改变。图 2A 为使用时程为 100 ms 纯音刺激时在第 30 号动物上记录的一个 A I 区神经元 ON-OFF 反应。在纯

声频率(14.5 kHz)和声音强度不变的情况下,当声音时程缩短为 30 ms 时, OFF 反应消失(图 2B),表现为 ON 反应神经元特性。另外,声音刺激的强度也是影响 ON-OFF 反应神经元放电的重要参数,图 2C 是在第 19 号动物上,使用 5 kHz 纯声诱发的 A I 区一个神经元 ON-OFF 反应,随着声音刺激强度变小,放电频数减少。当声音强度减至 58 dB 时, OFF 反应基本消失(图 2D),表现为 ON 反应特性。在实验中我们还发现在 ON-OFF 反应的神经元接受特征频率(character frequency, CF)的声音刺激时,如果声音强度超过阈值时, ON-OFF 反应的放电频数会随着声音强度的加强而增加,当声强

达到某一强度时就不再增加。实验结果表明,大部分(70%)大鼠 A I 区 ON-OFF 反应神经元的 CF 强度阈值在 45~75 dB 范围内,仅有 7 个神经元的阈值在 75 dB 以上。

实验还证实,纯音的频率是影响 ON-OFF 反应的一个重要因素。在 25 个神经元上观察到,当纯音的时程和强度固定,神经元对 CF 刺激的放电频数最多,对高于或低于 CF 刺激的放电频数递减。此外,声音频率的改变也可改变 ON-OFF 反应的形式,图 2E 为纯音刺激的时程(100 ms)和强度(77 dB)固定时,10 kHz 声音刺激诱发的 ON-OFF 反应。当声音刺激的频率为 22 kHz 时,



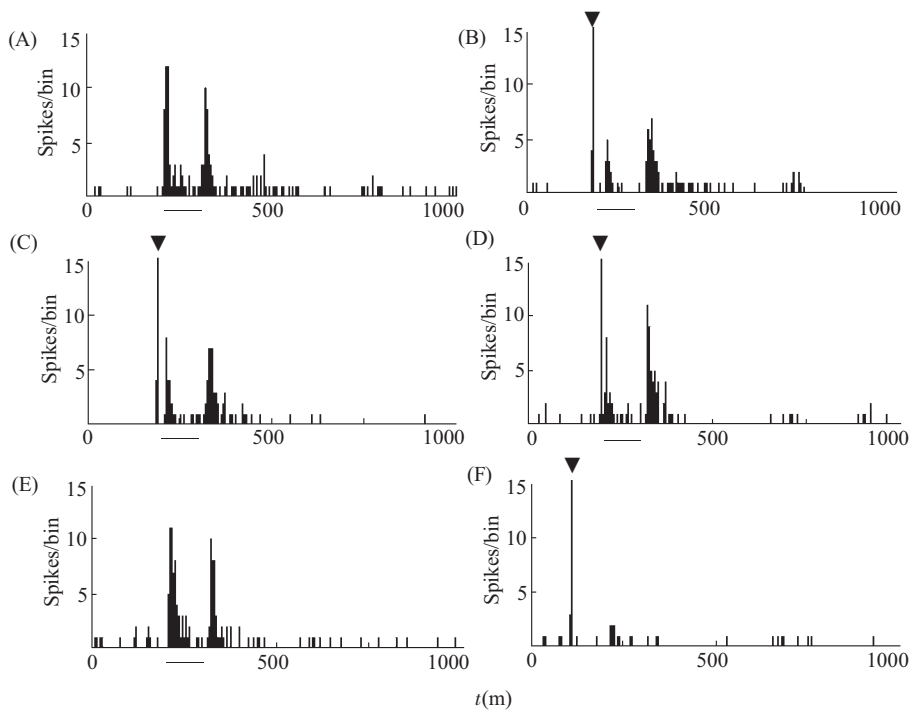
**Fig.2** Response patterns of ON-OFF auditory neurons to different parameters of the tone burst. (A) ON-OFF response of a neuron in A I to the tone burst (14.5 kHz, 67 dB); (B) Disappearance of the OFF-response with the duration of sound stimulation decreased from 100 ms to 30 ms; (C) ON-OFF response of another neuron in A I to the tone burst (5 kHz, 81 dB); (D) Disappearance of the OFF-response with the intensity of sound stimulation decreased from 81 dB to 58 dB; (E) ON-OFF response of another neuron in A I to the tone burst (10 kHz, 77 dB); (F) Change of the response form after the frequency of the tone burst changed from 10 kHz to 28 kHz. (Post-stimulus-time-histograms: 30 stimulation repetition; A, B: 1 bin=1 ms; C~F: 1 bin=2 ms)

OFF反应消失(图 2F), 仅出现 ON 反应。

### 2.3 刺激杏仁外侧核对皮层 A I 区听觉神经元 ON-OFF 反应的抑制效应

在 38 个对短纯音刺激呈 ON-OFF 反应的神经元中,当电刺激 LA 时,其中 20 个神经元的反应受到抑制,表现在使 ON 反应成分或(和)OFF 反应成分的放电频数减少,或 ON-OFF 反应阈值的增

加。图 3 为在第 19 号动物上记录到的序列记录。图 3A 显示短纯音刺激引起 A I 区神经元 ON-OFF 反应,记录 B~D 显示在声音刺激前以不同时间间隔施加杏仁外侧核刺激,神经元的 ON 反应受到不同程度抑制,撤除 LA 刺激后反应恢复(图 3E)。单独给予 LA 刺激不能引起任何反应(图 3F)。对 20 例刺激 LA 导致抑制性效应的 ON-OFF 神经元的实



**Fig.3** The inhibitory influence of LA stimulation on ON-response of an ON-OFF response neuron in A I . (A) ON-OFF response of a neuron in A I to the tone burst (11 kHz, 64 dB); (B)~(D) The ON-response of the acoustic response was inhibited when LA stimulation was applied 9 ms, 4 ms and 2 ms respectively before the sound stimulation; (E) ON-OFF response recovered after canceling LA stimulation; (F) The acoustic response cannot be evoked with LA stimulation alone. — duration of sound stimulation, ▼ LA stimulation. (Post-stimulus-time-histograms: 30 stimulation repetition, 1 bin=2 ms)

验结果进行统计表明, 刺激 LA 抑制 A I 区 ON-OFF 反应的潜伏期为 2~36 ms。

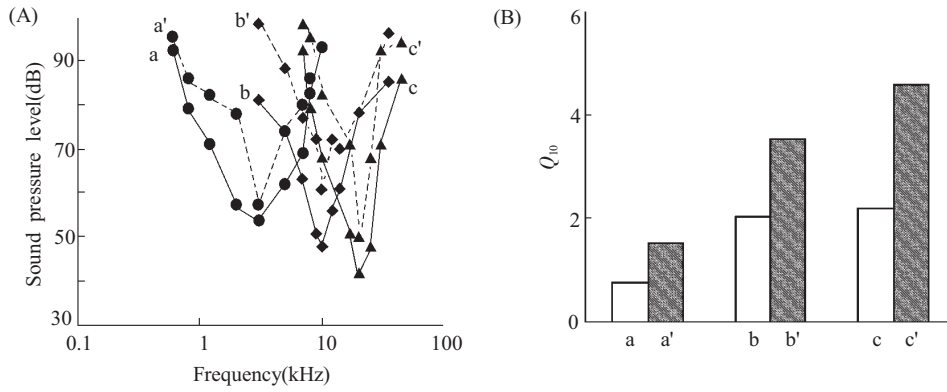
#### 2.4 刺激杏仁外侧核对皮层 A I 区 ON-OFF 反应神经元频率特性的影响

在研究过程中, 我们使用短纯音测定了皮层 A I 区听神经元的频率响应特性。在被观察的 130 个神经元中, 对具有不同 CF 的听神经元在皮层 A I 区的位置逐一进行了标记, 一般而言, CF 为高频(高于 25 kHz)的神经元位于 A I 区的嘴侧, CF 为低频(低于 25 kHz)的听神经元位于 A I 区尾侧, 这与 Sally 等<sup>[10]</sup>的实验结果一致。实验过程中重点观察了在杏仁外侧核刺激作用下具有特定纯音频率响应的 ON-OFF 反应神经元调谐曲线(tuning curve)的改变。图 4A 显示 CF 分别为 3 kHz、10 kHz 和 20 kHz 的皮层 A I 区三个 ON-OFF 反应神经元的调谐曲线(a, b, c)。纯音出现 10 ms 前分别给予杏仁外侧核刺激后, 调谐曲线均发生相应的改变(a', b', c'), 由于听觉阈值的升高, 曲线上移变窄, 而 CF 基本保持不变。通常在调谐曲线上, 由 CF 阈向上 10 dB 处作一横线, CF 值除以

横线与曲线升降两臂交点的频差定义为  $Q_{10}$ 。  $Q_{10}$  可以定量反映神经元频率响应范围,  $Q_{10}$  越大表明频率选择性越好<sup>[10]</sup>, 我们的实验结果恰恰证明杏仁外侧核的刺激可以使皮层 A I 区 ON-OFF 反应神经元的  $Q_{10}$  明显增大(图 4B)。

### 3 讨 论

皮层神经元声反应可分为快适应和慢适应两类。快适应指 ON 反应、OFF 反应及 ON-OFF 反应, 慢适应指持续性放电。在以往对初级听皮层的电生理研究中, 对 ON-OFF 反应类型并未给予足够的重视和关注, 也没有单独对这类反应特性的研究报道, 特别是纯音所引起的 ON-OFF 反应。因此我们重点观察了大鼠皮层这种声反应形式以及电刺激 LA 对反应的影响。我们的实验结果表明有 37% 的皮层 A I 区听神经元呈现 ON-OFF 反应特性, 这个比例高于 Evans 等<sup>[11]</sup>在猫 A I 区上的研究报道, 这可能是不同种动物间存在的差异, 也可能与我们实验中采用纯音刺激及声音刺激的时程较短



**Fig.4** The influence of LA stimulation on tuning curves and  $Q_{10}$  for ON-OFF response neurons in A I of the rat. (A) Tuning curves for three ON-OFF response neurons whose CFs are respectively 3, 10, 20 kHz(a, b, c) and the tuning curves for these neurons with LA stimulation (a', b', c'); (B)  $Q_{10}$  for the three neurons increased when LA stimulation was given. (— normal tuning curve; --- tuning curve when LA stimulation was given)

(100 ms)有关。至于我们实验中观察到的 ON-OFF 反应的潜伏期在 6~14 ms, 则与以往报道相近。从本文的实验结果来看, 大鼠皮层 A I 区神经元 ON-OFF 反应的两个成分的放电具有多种特性(图 1), 反映出 A I 区不同 ON-OFF 神经元对纯音信息编码的多种形式。显然, 单脉冲的 ON 或 OFF 反应成分是对声音起始及终止时间的精确编码, 而爆发式 ON 或 OFF 反应成分则不仅包含着声音的起止信息, 可能还参与编码声音刺激的强度及频率等具有生理学意义的其它信息。

从声学角度考虑, 纯音刺激的参数主要指声音的时程、强度和频率。令人感兴趣的是, 我们在实验中发现, 皮层 A I 区 ON-OFF 反应神经元的 ON 或 OFF 反应成分, 能对纯音刺激的不同时程、强度或频率的改变作出不同的反应(图 2)。这类反应, 一方面表现在 ON-OFF 反应放电频数的改变, 另一方面则表现在反应形式的改变, 如 OFF 反应成分的消失(图 2B、D、F), 爆发式 ON 反应成分变为单次 ON 反应成分(图 2F)等。这些结果似乎暗示了皮层 A I 区神经元 ON-OFF 反应神经元对听觉信息编码的复杂性, 也进一步说明了皮层 A I 区神经元参与了内耳上传的不同声音刺激的时程、强度和频率等多种信息的编码和整合, 并以不同模式和频数的放电, 影响相关的听觉中枢神经元的活动。需要指出的是, 以往传统的观点认为 ON-OFF 反应主要对声音的起止时间进行编码, 而很少有人论及这一反应与声音的强度和频率信息有关, 本文所提供的实验事实可能会使这种看法发生改变。

本文另一部分考察的重点是杏仁外侧核对皮层

A I 区神经元 ON-OFF 反应的影响。在考察的 38 例 ON-OFF 反应神经元中, 当刺激 LA 时, 在 12 个 A I 区神经元上观察到 ON 反应成分放电频数减少, 在 5 个神经元上使 OFF 反应成分放电频数减少, 而在另 3 个神经元上可使 ON 和 OFF 反应成分的放电频数同时减少, 另 2 个神经元上观察到 ON 反应成分的消失。这些事实表明, 杏仁外侧核的兴奋能够改变 A I 区神经元对外周声音刺激参数的编码, 进一步证实杏仁外侧核在皮层水平参与了对听觉信息的调制。

在听觉研究中, 听觉神经元频率响应范围类似于其它感觉的神经元感受野, 因而一直被研究者重视。在初级听皮层上以往对频率特性的研究大部分集中于对 CF 的位置分布和听神经元的调谐曲线特性的研究<sup>[10,12]</sup>。而我们的实验结果表明, 电刺激 LA, 在 CF 基本不变的情况下, 可以使 A I 区 ON-OFF 神经元的阈值普遍升高, 使调谐曲线变窄,  $Q_{10}$  数值显著增大(图 4)。根据以往有关的研究<sup>[10]</sup>, 可以认为调谐曲线这种上移和变窄以及  $Q_{10}$  数值的增大使特征频率选择性能提高, 有利于检测外界特定的听觉信息, 因而对动物感知这些可能信息产生有利的影响, 这也许是杏仁外侧核的活动在皮层水平影响听觉信息编码的生理学意义所在。这一有趣的发现使我们联想到在众多嘈杂声源环境中, 当各种不同的频率和强度的声波都在同一时间作用于我们的双耳, 引起内耳感觉神经末梢的兴奋, 并成为复杂而繁多的听觉信息上传至中枢高级部位, 可是并不会影响我们能够集中精力注意其中某一特定的声音信号, 因而我们能够感觉到远低于

周围噪声强度的语言或其它听觉信号。也就是说,我们之所以能够在嘈杂的环境中感受到那些有兴趣的听觉信息,并使这种特定的听觉信息进入我们的意识领域,杏仁核可能参与了这一重要过程。

另一值得注意的问题是,本文所观察到的 LA 对皮层 A I 区神经元 ON-OFF 反应的抑制性影响大多具有较长的潜伏期(5~25 ms),仅在 2 例上观察到 2 ms 的短潜伏期,这就暗示介导这种影响是由多突触的环路实现,少数可能经由单突触实现。而以往的神经解剖学的研究工作也印证了这一点,Price 曾报道杏仁外侧核及基底核背部神经元的纤维可以投射到丘脑背内侧核,再由后者投射到大脑皮层<sup>[3]</sup>,而在其它高等动物上的实验也证实杏仁外侧核有向脑岛和颞叶的投射<sup>[14-16]</sup>,我们所观察的影响也有可能经由这些途径,但对这一可能性我们正在做进一步的实验研究。

#### 参考文献:

- [1] Mlot C. Probing the biology of emotions[J]. *Science*, 1998, 280:1005~1007.
- [2] LeDoux JE. Emotion circuits in the brain[J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2000,23:155~184.
- [3] Rolls ET. Memory systems in the brain[J]. *Annual Review of Psychology*, 2000,25:599~630.
- [4] LeDoux JE. Emotion, memory and the brain[J]. *Scientific American*, 1997,7:68~76.
- [5] Pitkanen A, Savander V, LeDoux JE. Organization of intra-amygdaloid circuitries: an emerging framework for understanding functions of the amygdala [J]. *Trends Neuroscience*, 1997,20:517~523.
- [6] 周绍慈, 卢湘岳, 殷慧镇, 等. 刺激杏仁复合体对内膝体单位听反应的抑制性影响及其途径的分析[J]. *中国科学(B 辑)*, 1982,9:815~822.
- [7] 孙坚原, 付崇罗, 周绍慈. 刺激家兔杏仁基底核对外膝体“ON”神经元感受野反应特性的影响[J]. *生理学报*, 1996,48: 487~492.
- [8] 封茂滋, 卢湘岳, 周绍慈. 家兔眶回皮层对内膝体神经元电活动下行性抑制性及易化性影响的研究[J]. *中国科学(B 辑)*, 1987,3:288~293.
- [9] Zilles K. The cortex of the rat. A stereotaxic atlas [M]. Berlin:Springer Verlag, 1985.
- [10] Sally SL, Kelly JB. Organization of the auditory cortex in the albino rat: sound frequency[J]. *Journal of Neurophysiology*, 1988,59:1627~1638.
- [11] Evans EF, Whitfield IC. Classification of unit responses in the auditory cortex of the unanaesthetized and unrestrained cat[J]. *Journal of Physiology*, 1964,171:476~493.
- [12] Whitfield IC, Evans EF. Response of auditory cortical neurons to stimuli of changing frequency [J]. *Journal of Neurophysiology*, 1965,28:655~672.
- [13] Krettek JE, Price JL. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat [J]. *Journal of Comparative Neurology*, 1977,171:157~192.
- [14] Nauta WGH. Fibre degeneration following lesions of the amygdaloid complex in the monkey[J]. *Journal of Anatomy*, 1961,95:515~531.
- [15] Prelevic S, Burnham WM, Gloor P. A microelectrode study of amygdaloid afferents: temporal neocortical inputs[J]. *Brain Research*, 1976,105:437~457.
- [16] Price JL. The efferent projections of the amygdaloid complex in the rat, cat and monkey [A]. In: Ben-Ari Y, The amygdaloid complex [M]. Amsterdam: Elsevier, 1981. 121~722.

**INFLUENCE OF STIMULATING LATERAL AMYGDALOID NUCLEUS  
ON THE ACTIVITY AND TUNING CURVE OF ON-OFF RESPONSE NEURON  
IN THE A I AREA OF THE RAT'S CORTEX**

HE De-fu, CHEN Fu-jun, LIU Jia-ying, ZHOU Shao-ci

*(School of Life Science, Shanghai Institute of Brain Functional Genomics, East China Normal University,  
Shanghai 200062, China)*

**Abstract:** Experiments were performed on 30 SD rats anaesthetized with urethane. The unit discharge of auditory neuron in the cortical A I area was recorded with the extracellularly recording method. The character of ON-OFF responses induced by short pure tone and the influence of stimulating lateral amygdaloid nucleus (LA) on these responses and the tuning curves of the recorded neurons were examined. The experimental results approved that the pattern of the ON-OFF response was related to the intensity, frequency and duration of the pure tone and the LA stimulation could decrease the discharge of ON-OFF neurons in A I area, enhance the threshold of the ON-OFF response or change the modality of the response of these neurons. Furthermore LA stimulation could narrow the turning curve of the ON-OFF neurons and increase its  $Q_{10}$  values. All these indicate that the A I ON-OFF neuron encodes multiple information of the sounds, and the LA can modulate auditory information at the cortex level, thus improve the ability of filtrating frequency information of ON-OFF neurons in A I area and detecting particular auditory information from the surrounding noisy environment.

**Key Words:** Lateral amygdaloid nucleus; Cortical area A I ; ON-OFF response; Tuning curve